

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE VIDEIRA CONTRA
Uncinula necator A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE
Allamanda blancheti A. DC**

ELBSON CARVALHO VIEIRA DA SILVA

**PETROLINA, PE
2015**

ELBSON CARVALHO VIEIRA DA SILVA

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE VIDEIRA CONTRA
Uncinula necator A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE
Allamanda blancheti A. DC**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

**PETROLINA, PE
2015**

ELBSON CARVALHO VIEIRA DA SILVA

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE VIDEIRA CONTRA
Uncinula necator A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE
Allamanda blancheti A. DC**

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao IF
SERTÃO-PE *Campus* Petrolina Zona Rural, exigido
para a obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada em: 10 de agosto de 2015.

Marcio Rennan Santos Tavares

Professor (Membro da banca examinadora)

José Batista da Gama

Professor (Membro da banca examinadora)

Erbs Cintra de Gomes Souza

Professor (Orientador)

RESUMO

O submédio do Vale do São Francisco tem na cultura da videira uma das grandes responsáveis pelo desenvolvimento regional e consolidação do pólo frutícola em nível internacional. No entanto, a região vem enfrentando sérios problemas de ordem fitossanitária, com destaque para o alto nível de incidência de *Uncinula necator*. Dentre os principais métodos alternativos de controle, o uso de indutores de resistência apresenta-se como alternativa promissora no manejo de doenças, assim também como use de extrato vegetal. Neste sentido, iniciou-se estudos sobre o desenvolvimento de tecnologias alternativas ao controle químico no manejo de oídio da videira a partir da utilização de extratos de *Allamanda blanchetti* a quente com extração em aparelho Soxhlet e a frio. Em laboratório sementes de sorgo 'Brandes' foram testadas para avaliar a capacidade elicitora dos extratos nas concentrações 10, 100, 500 e 1000 ppm em induzir a formação de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. Em campo plantas de videira foram pulverizadas com extrato de *A. blanchetti* nas concentrações 10, 100, 500 e 1000 ppm nos diferentes métodos de extração e acibenzolar-S-metil (200 mg.L⁻¹). Decorridas 96h da primeira pulverização, folhas de videira 'Superior Seedless' foram coletadas, identificadas por tratamento, acondicionadas em caixas isotérmicas e levadas ao Laboratório de Bioquímica Vegetal da UNIVASF para avaliar os níveis de defesa elicitados. Após a desinfestação, cinco discos de folhas de $\approx 3,0$ mm de diâmetros foram retirados com auxílio de um perfurador manual, depositados em placas de Petri contendo papel de germinação e umedecidos com água destilada. Posteriormente, os discos de folhas receberam uma suspensão de esporos de *U. necator* na concentração de 1×10^5 con/mL. Após a inoculação as placas foram mantidas em temperatura ambiente (25°C \pm 5) por 14 dias determinando-se a severidade da doença ao final do período. Os resultados indicam que acúmulo de fitoalexinas 3-deoxiantocianidinas foi maior nas concentrações 1000 ppm a quente, 10, 100, 500 e 1000 ppm a frio e no indutor comercial acibenzolar-S-metil (200 g.L⁻¹). Em discos de folhas, o extrato a frio 1000 ppm e ASM conferiram maior capacidade de defesa de plantas de videira 'S. Seedless' a *U. necator*.

Palavras-chave: Fisiologia vegetal, indução de resistência, oídio, extratos vegetais

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, o centro e o fundamento de tudo em minha vida, por renovar a cada momento a minha força e disposição e pelo discernimento concedido ao longo dessa jornada.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Em especial aos meus pais.... Mãe, seu cuidado e dedicação, foi que deram em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que, não estou sozinho nessa caminhada. Agradeço a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa de minha vida. Agradeço também a minha noiva Ana Paula que está presente em todos esses momentos.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética, aqui presente.

A meu orientador, prof. Dr. Erbs Cinta, que acreditou em mim, partilhando as suas ideias, conhecimento e experiências. Quero expressar o meu reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pela sua amizade.

Aos professores da banca examinadora: Prof. M.Sc. José Batista da Gama, Prof. M.Sc. Marcio Rennan Santos Tavares, que cedeu uma parte de seu tempo para contribuir com meu trabalho;

Aos meus amigos, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Com vocês, as pausas entre um parágrafo e outro de produção melhora tudo o que tenho produzido na vida.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação,

O meu muito obrigado!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1: Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo	20
Tabela 1: Proteção de videiras 'Superior Seedless' em resposta a aplicação de extrato etanólico de <i>Allamanda blanchetti</i>	22

SÚMARIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	06
2. REFERENCIAL TEÓRICO	08
2.1. A CULTURA DA VIDEIRA	08
2.2. OÍDIO DA VIDEIRA [(<i>Uncinula necator</i>) (SCHWIN; BURR)]	09
2.3. EXTRATOS VEGETAIS NO MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	10
2.4. <i>Allamanda blanchetti</i> A. DC.	12
2.5. RESISTÊNCIA INDUZIDA EM PLANTAS A PATÓGENO.....	13
3. OBJETIVOS	16
3.1. OBJETIVO GERAL	16
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. PREPARO E OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE <i>Allamanda blanchetti</i> A. DC.	17
4.2. BIOENSAIOS PARA PRODUÇÃO DE FITOALEXINAS EM MESOCÓTILOS DE SORGO	18
4.3. DISCOS DE FOLHAS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1. BIOENSAIOS PARA PRODUÇÃO DE FITOALEXINAS EM MESOCÓTILOS DE SORGO	20
5.2. EVOLUÇÃO DO OÍDIO EM DISCOS DE FOLHAS E PERCENTUAL DE CONTROLE	21
6. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS.....	25
ANEXOS	31

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, foram produzidas, em 2012, cerca de 1.500.000 t de uvas, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. Aproximadamente 600.000 t, ou seja, 40% foram destinadas ao consumo in natura (BELING, 2013; MELLO, 2013b). O cultivo de uvas apirênicas está concentrado no polo exportador Petrolina-Juazeiro, no Vale do Submédio São Francisco, que é responsável por 95% do total embarcado para exportação pelo país (MENDES, 2012).

A cultura da videira reveste-se de especial importância econômica e social no Submédio do Vale do São Francisco, na medida em que envolve um grande volume anual de negócios voltados para os mercados interno e externo, e se destaca entre as culturas irrigadas da região, como a que apresenta o maior coeficiente de geração de empregos diretos e indiretos.

No Vale do Submédio São Francisco um dos principais problemas fitossanitários que acometem a cultura da videira 'Superior Seedless' é o oídio (*Uncinula necator* SCHWEIN; BURR). O patógeno representa uma séria ameaça aos viticultores em nível mundial, uma vez que os danos causados em todas as fases fenológicas resultam em perda de produtividade, e/ou consequente queda de qualidade do produto, inviabilizando sua comercialização.

O uso de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos fitopatogênicos poderá constituir-se numa opção promissora no controle de doenças em campo (COUTINHO, 1999). Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais e aromáticas, obtidos a partir da flora nativa, têm indicado o potencial de controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, como pela indução de fitoalexinas indicando a presença de compostos com características de elicitores (BASTO; ALBUQUERQUE, 2004).

Algumas espécies de plantas pertencentes ao gênero *Allamanda* relatadas no nordeste do Brasil (SOUZA-SILVA; RAPINI, 2009) apresentam metabólitos secundários com expressiva atividade farmacológica como os iridóides, flavonóides, cumarinas e terpenóides.

Não obstante à realidade das principais regiões produtoras de frutas do mundo, o submédio do vale do São Francisco enfrenta sérios problemas de ordem fitossanitária que acometem diretamente a cultura da videira (*Vitis labrusca* L.). Dentre os vários patógenos de importância econômica para a videira, destaca-se o oídio (*Uncinula necator*). Neste sentido, tendo em vista que extratos vegetais apresentam potencial de induzir respostas de defesa em plantas contra patógenos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A CULTURA DA VIDEIRA

A videira é uma planta perene, lenhosa, caducifólia e sarmentosa, provida de órgãos de sustentação chamados gavinhas. Pertence à família Vitaceae e ao gênero *Vitis*. Entre as espécies de maior interesse econômico pertencentes a este gênero, tem-se as videiras americanas (*Vitis labrusca* L. e outras espécies) e européias (*V. vinifera* L.). Dentro de cada espécie e híbrido existem cultivares, podendo haver ainda, dentro destas, clones com características agrônômicas e/ou comerciais de maior interesse (KISHINO, 2007).

No Brasil a área destinada à produção de uvas atingiu 81.677 hectares em 2009. A região Sul destacou-se ocupando 72,5% das áreas destinadas ao cultivo de videiras no país, seguida da região Sudeste com 14,8% e da região Nordeste com 12,1%. Quanto à produção brasileira de uvas em 2009, foram registrados 1.365.491 toneladas. A região Sul foi responsável por 66,4% da produção, seguida da região Nordeste com 18,6% e da região Sudeste com 14,5%. Quanto aos dados de produtividade em 2009, os maiores valores foram observados para a região Nordeste com 25,58 t.ha⁻¹, seguidos da região Sudeste com 16,39 t.ha⁻¹ e da região Sul com 15,37 t.ha⁻¹ (IBGE, 2011).

Na região Nordeste do Brasil, o Vale do Submédio São Francisco apresenta-se como a principal região produtora de uvas de mesa, consagrando-se, segundo Grangeiro; Leão; Soares (2002) como pólo produtor e exportador de uvas de mesa de alta qualidade, com destaque para o alto padrão tecnológico adotado nos sistemas de cultivo.

Em 2009 a área ocupada pelo cultivo de videiras nos Estados de Pernambuco e Bahia correspondia a 9.727 hectares, 11,95% da área nacional.

Pernambuco possuía 7,37% (6.003 ha) deste total, enquanto a Bahia 4,57% (3.724 ha). Somadas as produções dos dois estados em 2009, obteve-se uma produção de 249.025 t. Pernambuco foi responsável por 63,65% desta produção, com produtividade média de 26,4 t.ha⁻¹ e a Bahia atingiu 36,35% do total produzido, com produtividade média de 24,3 t.ha⁻¹ (IBGE, 2011).

Segundo Silva e Correia (2011), a especificidade da viticultura na região semiárida do Nordeste do Brasil ocorre em virtude da adaptação e do comportamento diferenciado das plantas nas condições climáticas presentes na região. Em consequência destas particularidades regionais, os processos fisiológicos das plantas são acelerados, a propagação é rápida e em cerca de um ano e meio após o plantio, inicia-se a primeira safra. Outra particularidade regional é a redução do ciclo da cultura em virtude das alterações dos processos fisiológicos das plantas. Mediante o manejo da irrigação e a realização de podas programadas, pode-se obter até duas safras e meia por ano, considerando um ciclo médio da cultura de aproximadamente 120 dias.

Não obstante à realidade das principais regiões produtoras de uvas no mundo, a região do Vale do submédio São Francisco enfrenta sérios problemas de ordem fitossanitária, gerando prejuízos significativos à cultura da videira (GOMES; PEREZ; BARBOSA, 2009). Há relatos de prejuízos causados por diferentes agentes fitopatogênicos, principalmente levando-se em conta a sazonalidade em que se registra o pico de incidência (TAVARES; LIMA; MELO 2000; GOMES et al., 2007; GOMES; PEREZ; BARBOSA, 2009; CAMARGO et al., 2011).

Dentre os principais agentes patogênicos, o oídio (*Uncinula necator*) e o míldio [(*Plasmopara viticola*) (BERK; CURTIS) Berl. e De Toni] destacam-se por causar grandes prejuízos à cultura na região do Vale do Submédio São Francisco (TAVARES; LIMA; MELO, 2000).

2.2 OÍDIO DA VIDEIRA [(*Uncinula necator*) (SCHWEIN; BURR)]

Perdas significativas de produtividade são relatadas na maioria das espécies agrícolas, principalmente devido ao ataque de doenças fúngicas (WANI, 2010) responsáveis por mais de 70% de todas as doenças citadas na agricultura (AGRIOS, 2005).

Dentre os principais fitopatógenos da videira (*Vitis* sp.), *U. necator* causa o oídio, a doença de maior importância econômica em nível mundial (GODFREY, ABLE; DRY, 2007). O patógeno é um parasita biotrófico que invade as células epidérmicas do hospedeiro, causando infecção nos tecidos, caracterizada por uma sequência de eventos distintos em um espaço de tempo determinado (LEINHOS et al., 1997). No processo de germinação, emerge do conídio um único tubo germinativo, que após alongado, diferencia-se para formar apressórios e o peg de penetração, iniciando assim, as tentativas de penetração das células epidérmicas do hospedeiro (HEINTZ; BLAICH, 1990). Se a penetração é bem sucedida, ocorrerá a formação do haustório assegurando a nutrição do patógeno.

Uncinula necator infecta toda a parte aérea da videira, incluindo folhas, caules, inflorescências e frutos. Os sintomas variam ao longo do ciclo da cultura em decorrência das diferentes fases fenológicas. No início do ciclo, todos os tecidos em crescimento são altamente susceptíveis à infecção. As primeiras lesões são pequenas, inicialmente descoloridas, seguidas pelo aparecimento de uma fina camada branca sobre as folhas (FALACY et al., 2007).

A capacidade de infecção por oídio em parreirais evolui rapidamente de infecção primária à secundária em decorrência das condições epidemiológicas. Apesar de todas as partes da videira apresentarem susceptibilidade, a infecção de alguns órgãos apresenta variações significativas ao longo do ciclo. As flores e as bagas são altamente susceptíveis à infecção desde a sua formação, frutificação, até as bagas atingirem um teor de sólidos solúveis igual a oito (GADOURY et al., 2003).

O oídio é uma doença policíclica e os principais agentes dispersantes dos conídios são as águas das chuvas e o vento (WILLOCQUET; CLERJEAU, 1998). Folhas jovens e em expansão são mais susceptíveis à infecção do que as folhas maduras, ou totalmente expandidas. No entanto, a ráquis e o pedicelo, o pecíolo e os brotos são susceptíveis ao ataque do oídio durante todo o ciclo da cultura (GADOURY et al., 2003).

2.3 EXTRATOS VEGETAIS NO MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS

O uso de produtos derivados da indústria química no manejo de doenças na agricultura moderna tem sido alvo de constantes questionamentos pela sociedade.

Isso ocorre principalmente em função dos efeitos adversos causados por estes (PAULA JÚNIOR et al., 2006) e expressos através do surgimento de resistência de patógenos a princípios ativos. Para Garrido; Sônego; Valdebenito-Sanhueza (2004), a intensificação do controle químico no manejo de fitopatógenos provoca sérias perturbações no ecossistema e no agroecossistema. Dentre os principais efeitos adversos desta interação, Carson (2010) destaca os riscos de contaminação do homem e do meio ambiente e o surgimento de indivíduos resistentes.

Na agricultura o número elevado de pulverizações com agroquímicos tem como objetivo reduzir e/ou controlar os índices de infecção no campo gerando uma colheita de “qualidade” com elevados índices de produtividade. No entanto, para Garrido; Sônego; Valdebenito-Sanhueza (2004), o uso contínuo de fungicidas para o controle de doenças da videira traduz um completo desequilíbrio do Sistema de Produção Convencional.

Na busca de alternativas menos agressivas para o manejo de doenças de plantas, o uso de extratos vegetais apresenta-se como prática promissora (SILVA et al., 2006). De acordo com Cruz et al. (2005) o uso de extratos de *Azadirachta indica* e extrato cítrico apresentaram atividade biológica antimicrobiana (2,0 e 4,0%) no controle de *Colletotrichum musae* em bananas na pós-colheita. Resende et al. (2007) utilizando extratos elaborados a partir de ramos de lobeira (*Solanum grandiflorum* R. P.) infectados por *Crinipelis pernicioso* observaram a capacidade dos extratos em induzir respostas de defesa em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) contra o mesmo patógeno. Carvalho et al. (2000) utilizando extrato aquoso da casca de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* L.) observaram uma redução significativa na incidência da fusariose (*Fusarium gutiforme*) em abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), com a aplicação do extrato em substituição aos fungicidas durante o período de abertura das flores.

Atualmente, a busca por substâncias bioativas a partir de extratos vegetais com reconhecida atividade antimicrobiana ou antifúngica norteiam as pesquisas atuais. Em 1971, os pesquisadores Whittaker e Fenny destacaram que uma das principais funções das substâncias que compõem os extratos vegetais (metabólitos secundários) é fornecer proteção às plantas contra o ataque de fitopatógenos. Para Schwan-Estrada e Stangarlin (2005) a riqueza das plantas medicinais que possuem

princípios ativos microbicidas está na capacidade de utilização destas fontes no manejo de fitopatógenos, tanto pela atividade antimicrobiana quanto pela promoção de respostas de defesa em plantas a fitopatógenos.

2.4 *Allamanda blanchetti* A. DC.

No Nordeste do Brasil a vegetação de caatinga do semiárido brasileiro constitui um bioma com altos níveis de ameaça de extinção à sua fauna e flora. Segundo Albuquerque e Andrade (2002), este bioma ainda é pouco estudado. Monteiro et al. (2006) afirmaram que esta situação tende a evoluir lentamente com a adoção de práticas modernas de investigação etnobotânica desenvolvidas por pesquisadores na região. Segundo Araújo; Castro; Albuquerque (2007), a carência de estudos detalhados sobre os recursos botânicos e os impactos que o uso intensivo destes recursos pode ter na sua disponibilidade natural são importantes ferramentas para sustentabilidade das pesquisas.

Bezerra et al. (2011) concordam que embora a vegetação do semiárido apresente grande potencial botânico, existe pouco conhecimento a respeito dos constituintes químicos de potencial terapêutico dos seus vegetais.

Dentre as principais famílias de plantas em estudo, a família Apocynaceae destaca-se pelo grande número de gêneros. Foram catalogadas cerca de 250 gêneros e 2000 espécies de árvores tropicais, arbustos e trepadeiras. Uma característica da família Apocynaceae é que todas as espécies produzem seiva leitosa. As folhas são simples e opostas, com flores grandes e coloridas. Na medicina tradicional, as espécies de Apocynaceae são usadas para tratar doenças gastrointestinais, febre, malária, dor e diabetes (WIART, 2006).

Essas plantas apresentam crescimento moderado, adaptam-se a todos os estados brasileiros, desenvolvendo-se plenamente em temperaturas mais elevadas com maior insolação. A propagação dá-se principalmente por estaquia de caule, apresentando altas taxas de regeneração sob sistema de nebulização, mesmo sem o uso de indutores adequados de enraizamento. Porém, o processo para formação de mudas com dimensões adequadas à maior demanda do mercado é lento (LORENZI; SOUZA, 2001).

No Brasil, o gênero *Allamanda* compreende 10 espécies (JOLY, 1975), que são reconhecidas pela produção de princípios ativos, dentre os quais se destacam os iridóides (ANDERSON; CHANG; McLAUGNLIN, 1988). Para Coppen (1983) plantas do gênero *Allamanda* apresentam uma vasta atividade biológica, inclusive contra algas. Estudos com extratos de plantas de *Allamanda* registraram compostos antifúngicos (TIWARI; PANDEY; DUBEY, 2002) e atividade antitumoral sobre células em cultura (KUPCHAN et al., 1974; ANDERSON; CHANG; McLAUGNLIN, 1988; NAVARRO SCHMIDT et al., 2006).

Algumas espécies, incluindo *A. cathartica*, *A. blanchetti* e *A. schotti* foram estudadas quanto à sua composição química e propriedades farmacológicas. *A. cathartica* tem sido utilizada na medicina tradicional para diferentes fins, incluindo, o tratamento de tumores hepáticos (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000). Outras espécies produzem metabólitos secundários que apresentam expressiva atividade farmacológica como os iridóides, flavonóides, cumarinas e terpenóides (NAVARRO SCHMIDT et al., 2006).

2.5 RESISTÊNCIA INDUZIDA EM PLANTAS A PATÓGENOS

A resistência induzida em plantas a patógenos pode ser definida como um aumento da capacidade de defesa das plantas, a fim de mobilizar respostas de defesa antes ou após o ataque de patógenos (BAKKER; PIETERSE; VAN LOON, 2007). Sob o aspecto fisiológico, trata-se da capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade dos patógenos em seus tecidos (GOODMAN; KIRALY; WOOD, 1986).

Barreiras físicas e bioquímicas pré-formadas representam a primeira linha de defesa contra a maioria dos fitopatógenos. Todavia, ao superar essas defesas, os patógenos encontram mais um obstáculo, pois o reconhecimento do microrganismo pelos receptores presentes na parede celular dos vegetais é responsável pela ativação de uma cascata de respostas contra a invasão dos agentes patogênicos (DAVID et al., 2010).

A regulação da ativação dos mecanismos de defesa induzida ocorre de maneira coordenada a partir de uma matriz elaborada de transdução de sinais. Os

hormônios vegetais ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET), atuam como moléculas chave desse processo (LORENZO; SOLANO, 2005; GRANT; LAMB, 2006; BRUCE et al., 2007).

Em resposta ao ataque de patógenos, as plantas podem produzir compostos de defesa altamente específicos, resultando na ativação de diferentes conjuntos de genes relacionados com os mecanismos de defesa (KOORNNEEF; PIETERSE, 2008; BARI; JONES, 2009). Assim, a sinalização é variável em quantidade, tempo e composição das respostas de acordo com o patossistema em estudo.

A chegada do patógeno desempenha um papel fundamental na ativação de rotas de defesa de plantas, consolidando a natureza específica das respostas acionadas (ROJO; SOLANO; SANCHEZ-SERRANO, 2003; DE VOS et al., 2005; MUR et al., 2006). Estas, por sua vez, são resultantes de uma complexa rede de interações bioquímicas que conectam os caminhos individuais e permite a promoção de respostas específicas (GRANT; JONES, 2009; PIETERSE et al., 2009).

Com os avanços científicos, observou-se que a sensibilização dos mecanismos moleculares está associada à biossíntese pré-infeccional e/ou pós-transducional de componentes celulares. A acumulação e a modificação destes componentes, por si só, não ativariam a maioria das respostas de defesa das plantas. No entanto, devido ao estado condicional, as células pré-estimuladas estão preparadas para responder (amplificar os sinais de repostas) potencializando a expressão dos sinais de defesa das plantas (CONRATH et al., 2006).

Segundo Prusky (1996), estudos sobre o processo de infecção em frutos imaturos demonstram que dentre outros fatores, a presença de mecanismos de defesa pré-formados, estimulados por estresses bióticos ou abióticos, resultou na suspensão temporária dos processos de infecção pelo acúmulo de compostos antimicrobianos (fitoalexinas). Estes, por sua vez, apresentam baixo peso molecular e estão presentes nas plantas antes mesmo da chegada do patógeno, podendo ainda, serem sintetizados a partir de componentes pré-existentes.

O papel dos compostos antifúngicos na resistência natural das plantas às doenças tem sido relatado extensivamente em muitas culturas hortícolas (TERRY et al., 2004). Entretanto, a elucidação de rotas cuja atuação sinérgica seja verdadeiramente comprovada ainda necessita de estudos.

Como há diferenças entre os níveis de resistência e susceptibilidade, geralmente as respostas de defesa são amplamente dependentes da associação de fatores como o tempo e a amplitude dessas defesas (POLESANI et al., 2010). A investigação de uma interação compatível reflete na disponibilidade dos mecanismos de defesa promovendo o desenvolvimento de novas estratégias de manejo levando a identificação de fatores correlatos entre o agente patogênico e a progressão da doença. Investigar a base molecular da interação planta-patógeno possibilitará a descoberta de novos aspectos da biologia celular das plantas e os mecanismos de sinalização existentes (LEGAY et al., 2010).

Há casos em que indutores de resistência podem determinar níveis muito elevados de controle da doença superiores a 70% (GOMES et al., 2007; GOMES; PEREZ; BARBOSA, 2009) . No entanto, há muito mais exemplos de resistência induzida fornecendo níveis mais baixos de controle de doenças (MILES; WILLINGHAM; COOKE, 2004).

Para Si-Ammour; Mauch-Mani; Mauch (2003), o uso de acibenzolar-S-metil (ASM) não induziu respostas de defesa nos patossistemas *Phytophthora brassicae* x *Arabidopsis* e *P.infestans* x *Solanum tuberosum* L. Mais recentemente, em uma avaliação dos efeitos de diferentes agentes no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo* e *X. axonopodis* pv. *citri* de laranja doce, ASM e a proteína harpina (Messenger[®]) não promoveram um controle significativo da doença (GRAHAM; LEITE, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de extrato etanólico de *Allamanda blanchetti* A. DC. na promoção de respostas de defesa em plantas de videira (*Vitis...*) contra *Uncinula necator* SCHWEIN; BURR.

3.2 Objetivos específicos

Caracterizar os níveis de produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), em resposta à utilização do extrato etanólico de *A. blanchetti* a partir do método de extração a quente (em aparelho Soxhlet) e a frio (pó seco imerso em etanol absoluto por 72h).

Determinar a melhor concentração do extrato etanólico de *A. blanchetti* a partir do método de extração a quente e a frio, para reduzir a incidência do oídio (*U. necator*) em videiras 'Superior Seedless'.

Contribuir para a formação de novos profissionais na área de manejo agroecológico de doenças.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *A. blanchetti* foram coletadas em plantas nativas da área rural do distrito de Caboclo, situado a 8°47'88"S e 40°93'79"W, município de Afrânio, PE. Em seguida transportadas ao Laboratório de Química Orgânica e Bioquímica Vegetal da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). O material vegetal coletado para preparação dos extratos foi seco em estufa a temperatura constante de 40°C até a obtenção de peso contínuo (≈ 72 h). Posteriormente, as folhas foram trituradas em moinho de faca e o pó armazenado a temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$).

4.1 PREPARO E OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE *Allamanda blanchetti* A. DC.

Para a obtenção dos compostos foram utilizados dois métodos de extração: a quente (em aparelho Soxhlet) (Abq) e a frio (pó seco em contato com o solvente por 72 h) (Ab). No método de extração a quente, uma porção de ≈ 30 g do pó seco de *A. blanchetti* foi submetida a extração com solvente etanol absoluto, em um procedimento cíclico durante 36 h a temperatura ambiente $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$. Para a extração a frio, utilizou-se uma porção de ≈ 150 g de pó seco imerso em etanol absoluto por 72h a temperatura ambiente $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$. Para a utilização dos compostos obtidos, o etanol absoluto foi extraído por meio de evaporador rotativo por 2h a $78\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A utilização dos extratos deu-se de forma separada, a partir do método de extração: a quente e a frio. As concentrações utilizadas foram 10, 100, 500 e 1000 ppm. Como testemunhas foram utilizadas água destilada e esterilizada e o ativador

de defesas em plantas acibenzolar-S-metil (ASM) ($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) (OSSWALD et al., 2004).

4.2 BIOENSAIOS PARA PRODUÇÃO DE FITOALEXINAS EM MESOCÓTILOS DE SORGO

Sementes de sorgo cv. Brandes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 1% por 15 min e lavadas em água destilada. Após esse período foram enroladas em papel de germinação umedecido e incubadas em escuro total a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5$ por quatro dias. Em seguida as plântulas formadas foram inicialmente expostas à luz por quatro horas para paralisar a elongação dos mesocótilos. Para o teste de produção de fitoalexinas, os mesocótilos foram excisados 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em tubos de ensaio (um mesocótilo por tubo), contendo uma alíquota de 1 mL de cada concentração/tratamento. Os tubos de ensaio abertos foram mantidos em câmara úmida a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5$ sob luz fluorescente (WULFF; PASCHOLATI, 1999). Após 60 h, 5 mm basais de cada mesocótilo foram excisados e descartados. A porção superior (excetuando-se as folhas) foi pesada, cortada em pequenos segmentos e colocada em eppendorfs contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado (0,1% HCl; v/v). Os mesocótilos cortados foram mantidos a 4°C em metanol por 96 h para extração dos pigmentos e a absorbância determinada em espectrofotômetro a 480 nm (NICHOLSON et al., 1988).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos (T1 - Abq 10 ppm; T2 - Abq 100 ppm; T3 - Abq 500 ppm; T4 - Abq 1000 ppm; T5 Ab - 10 ppm; T6 - Ab 500 ppm; T7 - Ab 500 ppm; T8 - Ab 1000 ppm; T9 - ASM ($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); T10 - testemunha negativa (água destilada) e 10 repetições (um tubo de ensaio por repetição). Os dados observados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão. As médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2000).

4.3 DISCOS DE FOLHAS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA

Decorridas 96 horas da primeira pulverização, folhas de videira 'Superior Seedless' foram coletadas, identificadas por tratamento, acondicionadas em caixas isotérmicas e levadas ao Laboratório de Bioquímica Vegetal da UNIVASF. Para desinfestação, as folhas foram pulverizadas em solução de hipoclorito de sódio a 5%, e posteriormente lavadas em água destilada. Cinco discos de folhas de $\approx 3,0$ mm de diâmetros foram retirados com auxílio de um perfurador manual, depositados em placas de Petri contendo papel de germinação e umedecidos com água destilada. Posteriormente, os discos de folhas receberam uma suspensão de esporos de *U. necator* na concentração de 1×10^{-5} con/mL. Após a inoculação as placas foram mantidas em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5$) por 14 dias com alternância luminosa de 12h de claro e escuro.

A severidade da doença foi avaliada ao final do período de 14 dias, avaliando-se o tamanho das lesões presentes na superfície foliar de cada disco de folha. Os dados observados foram transformados para porcentagem de doença. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, composto por 11 tratamentos e cinco repetições (cinco placas com cinco discos de folhas).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 BIOENSAIOS PARA PRODUÇÃO DE FITOALEXINAS EM MESOCÓTILOS DE SORGO

A partir das concentrações e dos métodos de extração de *A. blanchetti* ea quente e a frio, os resultados observados apresentam significância do teste F, em nível de 1% de probabilidade para a capacidade de indução de produção de fitoalexinas em sorgo. Independente da concentração e do método de extração (a quente ou a frio), observou-se a produção de fitoalexinas 3-deoxiantocianidinas em mesocótilo de sorgo (Figura 1) diferindo da testemunha negativa.

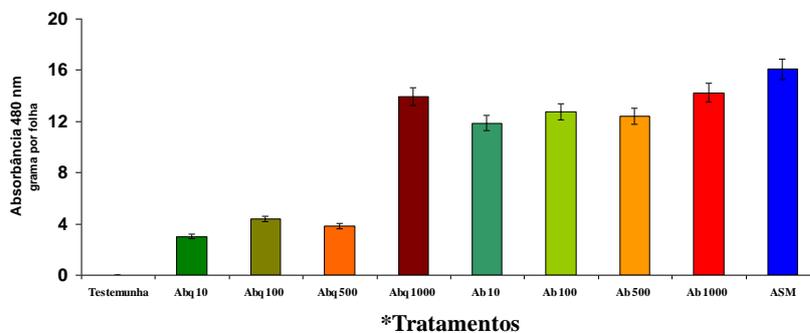


Figura 1. Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo submetidos aos tratamentos com extrato etanólico de *Allamanda blanchetti*, extraído a quente e a frio; acibenzolar-S-metil (ASM - 200 mg . L⁻¹). *Tratamentos: Abq - Extrato de *A. blanchetti* a quente; Ab - *A. blanchetti* a frio; Testemunha - água destilada e esterilizada; Concentrações dos extratos: 10, 100, 500 e 1000 ppm. Teste F, a 1% de probabilidade.

Esse efeito foi caracterizado pelo aumento da atividade de fitoalexinas observado nas concentrações dose dependente tanto para a extração a quente como para a extração a frio. Nas concentrações avaliadas, apenas a concentração

1000 ppm extraída em a quente apresentou resultados semelhantes às concentrações de extrato a frio e ao acibenzolar-S-metil.

Houve diferenças entre as concentrações comparando-se o método de extração. Nas concentrações 10, 100 e 500 ppm extraídas a quente, o acúmulo de 3-deoxiantocianidinas foi ≈ 3 vezes inferior às mesmas concentrações extraídas à frio, e sempre maior do que a testemunha negativa. Houve um pico de acúmulo de fitoalexinas na concentração 1000 ppm a quente com resultados semelhantes às concentrações à frio (10, 100, 500 e 1000 ppm) e ao produto comercial ASM. A capacidade de extração dos metabólitos pelos diferentes métodos é indicativo de que as substâncias elicitoras de indução presentes no extrato estão relacionadas com a maior concentração dessas substâncias. BONALDO et al., (2004) utilizando diferentes concentrações de extrato de eucalipto, demonstraram que a produção de fitoalexinas 3-deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo foi mais expressiva nas concentrações acima de 10%.

Para Maul (1999) os métodos convencionais de extração a baixa pressão como a hidrodestilação ou a extração em aparelho Soxhlet mostram-se eficazes. No entanto, apresentam desvantagens como o grande volume de solvente orgânico utilizado, o tempo de processo e a contaminação do extrato por resíduos do solvente. Outro fator negativo é a possibilidade de degradação térmica dos extratos com perda de substâncias.

Segundo Souza (2004), quando o tempo em que o extrato passa em contato com as temperaturas elevadas é pequeno, aumenta-se a capacidade de utilização de substâncias sensíveis ao calor. Isso demonstra que, possivelmente, para as concentrações 10, 100 e 500 ppm extraídos a quente, ocorreram maiores perdas de substâncias sensíveis ao calor.

5.1 EVOLUÇÃO DO OÍDIO EM DISCOS DE FOLHAS E PERCENTUAL DE CONTROLE

Plantas de videira 'Superior Seedless' pulverizadas com concentrações de extrato etanólico de *A. blanchetti* a quente e a frio, 96h antes da inoculação com *U. necator*, apresentaram níveis significativos de redução da superfície foliar lesionada

(Tabela 1). O pré-tratamento com extrato de Abq 1000ppm, induziu a uma redução de ≈ 30 vezes a infecção por *U. necator* comparada à testemunha negativa (pulverizada com água destilada).

Tabela 1. Proteção de videiras ‘Superior Seedless’ em resposta a aplicação de extrato etanólico de *Allamanda blanchetti* A. DC. vs *Uncinula necator* Schwein e Burr. Petrolina, PE. 2010.

Tratamentos ¹	Área lesionada (%)*
Abq 10 ppm	44,01 b
Abq 100 ppm	4,28 c
Abq 500 ppm	49,58 b
Abq 1000 ppm	2,37 c
Ab 10 ppm	45,68 b
Ab 100 ppm	40,44 b
Ab 500 ppm	10,51 c
Ab 1000 ppm	10,68 c
Acibenzolar-S-metil	33,12 b
Testemunha negativa (água destilada)	69,27 a

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%). ¹Abq - Extrato etanólico de *Allamanda blanchetti* a quente (extraído em aparelho Soxhlet por 36h); Ab - Extrato etanólico de *A. blanchetti* a frio (pó seco em contato com o solvente por 72h); produto comercial acibenzolar-S-metil (ASM - 200 mg.L⁻¹). Concentrações utilizadas: 10, 100, 500 e 1000ppm.

Os resultados observados em discos de folhas indicam a existência de um pré-condicionamento como componente da resistência sistêmica induzida em resposta à utilização de extrato de *A. blanchetti* e ao posterior desafio com o patógeno. Este fenômeno está associado ao aumento da capacidade para uma rápida e efetiva ativação das respostas de defesa celular, as quais são induzidas somente após o contato com o patógeno desafiante (CONRATH; PIETERSE; MAUCH-MANI, 2002), resultando em diferentes níveis de controle da infecção foliar.

Em discos de folhas pré-condicionados, os resultados observados indicam que o fenômeno não é explicado unicamente pela expressão dos mecanismos de defesa observados, e sim pelo aumento da sensibilidade da planta em perceber a chegada de um patógeno em potencial.

6 CONCLUSÃO

Extrato de *Allamanda blanchetti* nas concentrações 10, 100, 500 e 1000ppm extraído em aparelho sohxlet e a frio, etanol absoluto, induz a produção de fitoalexinas 3-deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo.

Em discos de folhas, extratos de *A. blanchetti* 100 e 1000ppm a quente, e 500 e 1000ppm a frio promoveram os maiores percentuais de controle de oídio da videira, constituindo-se nestes, indicativos da presença de substâncias bioativas com capacidade de induzir respostas de defesa em videiras contra o ataque de patógenos.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5ed, California: Elsevier Academic Press, 2005. 948p.
- ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (nordeste do Brasil). **Interciencia**. v. 27, p. 336-346, 2002.
- ANDERSON, J.E.; CHANG, C.J.; MCLAUGHLIN. Bioactive components of *Allamanda cathartica*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 2, p. 307-308, 1988.
- ARAÚJO, E.L.; CASTRO, C.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Dynamics of brazilian caatinga: a review concerning the plants, environment and people. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, p. 15-28, 2007.
- BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J.; VAN LOON, L.C. Induced systemic resistance by *Pseudomonas fluorescent* spp. **Phytopathology**, v. 97, p. 239-243, 2007.
- BARI, R.; JONES, J. Role of plant hormones in plant defence responses. **Plant Molecular Biology**, v. 69, p. 473-488, 2009.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito de óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, V. 29, n.5, p.555-557, 2004.
- BELING, R. R. (Ed.). Anuário Brasileiro da Fruticultura 2013. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2013. 136 p. Disponível em: <<http://www.gaz.com.br/editora/anuarios/show/3853.html>>. Acesso em: 27 out. 2013.
- BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; PEREIRA, A.V.; SOUSA, E.O.; RODRIGUES, O.G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 33, p. 99-106, 2011.
- BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.
- BRAGA, M.R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Eds.). **Interação plantapatógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 305-346.
- BRUCE, A.; CHICO J.M.; RUBIO-SOMOZA, I.; SOLANO, R. Modulation of plant defenses by ethylene. **Journal Plant Growth Regul**, v. 26, p. 160-177, 2007.
- CAMARGO, R.B.; PEIXOTO, A.R.; TERÃO, D.; ONO, E.O.; CAVALCANTI, L.S. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro - BA e Petrolina - PE. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 15-19, 2011.
- CARSON, R.L. **Primavera silenciosa**. São Paulo: Gaia. 2010. 327p.
- CARVALHO, R.A.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F.; CHAIRY, S.A.; BARREIRO NETO, M.; SANTOS, E.S. **Controle da fusariose do abacaxizeiro com plantas antibióticas**.

João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2000. 37 p.

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

CONRATH, U.; BECKERS, G.J.M.; FLORS, V.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; JAKAB, G.; MAUCH, F. Priming: getting ready for battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, p. 1062-1071, 2006.

CONRATH, U.; PIETERSE, C.M.J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 210-216, 2002.

COPPEN, J.J.W. Iridoids with algicidal properties from *Allamanda cathartica*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 179-182, 1983.

COUTINHO, W.M.; ARAUJO E.; MAGALHÃES F.H.L. Efeitos de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Ciência e Agrotécnica, **Diluição Alternaria sp. B. oryzae Curvularia sp. G. oryzae R. solani S. sclerotiorum** 1999; 23: 560-68.

CRUZ, M.E.S.; SCHWANESTRADA, K.R.F.; CLEMENTE, E.; CRUZ, M.J.S.; STANGARLIN, J.R. Extratos vegetais na conservação de frutos de banana e no controle de antracnose em pós-colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45, 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, v. 23, p. 511, 2005.

DAVID, V.; YINONG, Y.; CASIANA, V.C.; MONICA, H.O. Abscisic Acid-Induced Resistance against the Brown Spot Pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in Rice Involves MAP Kinase-Mediated Repression of Ethylene Signaling. **Plant Physiology**, v. 152, p. 2036–2052, 2010.

DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.R.; VAN POECKE, R.M.P.; VAN PELT, J.A.; POZO, M.J.; MUELLER, M.J.; BUCHALA, A.J.; METRAUX, J.P.; VAN LOON, L.C.; DICKE, M. Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. **Molecular Plant Microbe Interact**, v. 18, p. 923-937, 2005.

FALACY, J.S.; GROVE, G.G.; MAHAFFEE, W.F.; GALLOWAY, H.; GLAWE, D.A.; LARSEN, R.C.; VANDERMARK, G.J. Detection of *Erysiphe necator* in air samples using the polymerase chain reaction and species-specific primers. **Phytopathology**, v. 97, p. 1290-1297, 2007.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SATNGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIN, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v.148, n. 7/8, p. 483-488, 2000.

GADOURY, D.M.; SEEM, R.C.; FICKE, A.; WILCOX, W.F. Ontogenic resistance to powdery mildew in grape berries. **Phytopathology**, v. 93, p. 547-555, 2003.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Controle racional de doenças da videira e da macieira. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. (Eds.). **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. CCA:UFSC, p. 17-30. 2004.

GODFREY, D.; ABLE, A.J.; DRY, I.B. Induction of a grapevine germin-like protein (VvGLP3)

genes is closely linked to the site of *Erysiphe necator* infection: A possible role in defense? **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 9, p. 1112-1125, 2007.

GOMES, E.C.S.; PEREZ, J.O.; BARBOSA, J.; NASCIMENTO, E.F.; AGUIAR, I.F. Efeito de indutores de resistência na proteção de uva Itália e uva de vinho *Cabernet Sauvignon* contra o oídio e o míldio no Vale do São Francisco. In: II CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2007, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, v. 2, 2007.

GOMES, E.C.S.; PEREZ, J.O.; BARBOSA, J. Resistência Induzida como Componente do Manejo de Doenças da Videira. **Engenharia Ambiental**, v. 6, p. 114-120, 2009.

GOODMAN, R.N.; KIRALY, Z.; WOOD, K.R. **The biochemistry and Physiology of Plant Disease**. Columbia: University of Missouri Press, 1986. 433p.

GRAHAM, J.H.; LEITE, R.P. Lack of control of citrus canker by induced systemic resistance compounds. **Plant Disease**, v. 88, p. 745-750, 2004.

GRANGEIRO, L.C.; LEÃO, P.C.S.; SOARES, J.M. Caracterização fenológica e produtiva da variedade de uva Superior Seedless cultivada no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n. 2, p.552-554, 2002.

GRANT, M.; JONES, J. Hormone (dis) harmony moulds plant health and disease. **Science**, v. 324, p. 750-752, 2009.

GRANT, M.; LAMB, C. Systemic immunity. **Curr Opin Plant Biol**, v. 9, p. 414-420, 2006.

HEINTZ, C.; BLAICH, R. Ultrastructural and histochemical studies on interactions between *Vitis vinifera* L. and *Uncinula necator* (Schw.) Burr. **New Phyt**, v. 115, p. 107-117, 1990.

IBGE. **Obter ranking**: Tabela 1613 - Área plantada, área colhida, quantidade produzida e valor da produção da lavoura permanente. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl1.asp?c=1613&n=0&u=0&z=t&o=1&i=P>>. Acesso em: 17 mar. 2013.

JOLY, A.B. **Botânica, Introdução a Taxonomia Vegetal**. São Paulo: Editora Nacional, 1975.

KISHINO, A.Y. Características da Planta: Classificação Botânica. In: KISHINO, A.S.; CARVALHO, S.L.C.; ROBERTO, S.R. (Ed.). **Viticultura Tropical: O sistema de produção do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2007. p.87-140.

KOORNNEEF, A.; PIETERSE, C.M. Cross talk in defense signaling. **Plant Physiology**, v. 146, p. 839-844, 2008.

KUPCHAN, S.M.; DESSERTINE, B.T.; BLAYLOCK, B.T.; BRYAN, R.T. Isolation and structural elucidation of allamandin, an antileukemic iridoid lactone from *Allamanda cathartica*. **Journal Org Chem**, v. 39, p. 2477-2482, 1974.

LEGAY, G.; MAROUF, E.; BERGER, D.; NEUHAUS, J-M.; MAUCH-MANI, B.; SLAUGHTER, A. Identification of genes expressed during the compatible interaction of grapevine with *Plasmopara viticola* through suppression subtractive hybridization (SSH). **European Journal Plant Pathology**, Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/x36n11051u070249/fulltext.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2015.

LEINHOS, G.M.E.; GOLD, R.E.; DUGGELIN, M.; GUGGENHEIM, R. Development and morphology of *Uncinula necator* following treatment with the fungicides kresoxim-methyl and

penconazole. **Mycology Research**, v. 101, p. 1033-1046, 1997.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: Arbustas, herbáceas e trepadeiras. 3 ed., Nova Odessa: Platanum, 2001. 1088p.

LORENZO, O.; SOLANO, R. Molecular players regulating the jasmonate signalling network. **Curr Opin Plant Biology**, v. 8, p. 532-540, 2005.

MAUL, A. A. Fluidos supercríticos: situação atual e futuro da extração supercrítica. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 11, p. 42-46, 1999.

MELLO, L. M. R. de. Vitivinicultura brasileira: panorama 2012. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013b. 5 p. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico 137). Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/>>. Acesso em: 27 jun. 2015.

MENDES, L. R. Crise na Europa afeta uvas no Vale do São Francisco. Disponível em: <<http://www.fazenda.gov.br/resenhaeletronica/MostraMateria.asp?cod=785337>>. Acesso em: 26 set. 2013

MILES, A.K.; WILLINGHAM, S.L.; COOKE, A.W. Field evaluation of strobilurins and a plant activator for the control of citrus black spot. **Australian Plant Pathology**, v. 33, p. 371-378, 2004.

MONTEIRO, J.M., ALBUQUERQUE, U.P., LINS-NETO, E.M.F., ARAÚJO, E.L., AMORIM, E.L., Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 173-186, 2006.

MORS, W.B., RIZZINI C.T., PEREIRA, N.A. **Medicinal plants of Brasil**. Reference Publications, Inc Agonac, Michigan, USA, 2000.

MUR, L.A.J.; KENTON, P.; ATZORN, R.; MIERSCH, O.; WASTERACK, C. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. **Plant Physiology**, v. 140, p. 249-262, 2006.

NAVARRO SCHMIDT, D. F. N.; YUNES, R. A.; SCHAAB, E. H.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; FRANCHI-JUNIOR, G. C.; NOWILL, A. E.; CARDOSO, A. A.; YUNES, J. A. Evaluation of the anti-proliferative effect the extracts of *Allamanda blanchetti* and *A. schottii* on the growth of leukemic and endothelial cells. **J Pharm Pharm Sci**, v. 9, n. 2, p. 200-208, 2006.

NICHOLSON, R.L.; JAMIL, F.F.; SNYDER, B.A.; LUE, W.L.; HIPSKIND, J. Phytoalexin synthesis in the juvenile *sorghum* leaf. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 33, p. 271-278, 1988.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 2005. p.139-153.

OSSWALD, W.F.; STANGARLIN, J.R.; NICHOLSON, R.L.; BRUMMER, M.; WULFF, N.A.; DI PIERO, R.M.; PICCININ, E.; DI CIERO, L.; HOTO, F.V.; PASCHOLATI, S.F. The effect of Acibenzolar-S-metil on phytoalexins and PR-protein induction on sorghum mesocotyls and on *Colletotrichum sublineolum*. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 4, p. 415-420, 2004.

PAULA JÚNIOR, T.J.; MORANDI, M.A.B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. Controle alternativo de doenças de plantas – histórico. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (Eds).

Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: EPAMIG-CTZM/UFV, p. 135-162, 2006.

PIETERSE, C.M.J.; LEON-REYES, A.; VAN DER ENT, S.; VAN WEES, S. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. **Nat Chem Biol**, v. 5, p 308-316, 2009.

POLESANI, M.; BORTESI, L.; FERRARINI, A.; ZAMBONI, A.; FASOLI, M.; ZADRA, C. General and species-specific transcriptional responses to downy mildew infection in a susceptible (*Vitis vinifera*) and a resistant (*V. riparia*) grapevine species. **BMC Genomics**, v. 11, p. 117, 2010.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual review of Phytopathology**, v. 34, p. 413-434, 1996.

RESENDE, M.L.V.; COSTA, J.C.B.; CAVALCANTI, F.R.; ROBEIRO Jr., P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos cegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em Cacaueiro contra Vassoura de bruxa. **Fitopatologia brasileira**, v. 32, n. 3, p. 213-221, 2007.

ROJO, E.; SOLANO, R.; SANCHEZ-SERRANO, J.J. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. **Journal Plant Growth Regul**, v. 22, p. 82-98, 2003.

SAMPAIO-SANTOS, M.I.; KAPLANB, M.A.C. Biosynthesis Significance of Iridoids in Chemosystematics. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 2, p. 144-153, 2001.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-138.

SI-AMMOUR, A.; MAUCH-MANI, B.; MAUCH, F. Quantification of induced resistance against *Phytophthora* species expressing GFP as a vital marker: Beta-aminobutyric acid but not BTH protects potato and *Arabidopsis* from infection. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, p. 237-248, 2003.

SILVA, M.B.; ROSA, M.B.; BRASILEIRO, B.G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C.A. Desenvolvimento de produtos à base de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA Jr., T.J.; PALLINI, A. (Eds). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG-CTZM/UFV, p. 221-246, 2006.

SILVA, P.C.G.; CORREIA, R.C. **Cultivo da videira**: caracterização social e econômica da videira. Embrapa Semiárido. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira/socioeconomia.htm>>. Acesso em: 21 mai. 2012.

SINDAG. **Mercado Brasileiro de Fitossanitários**. Apresentado no Workshop Avaliação da Exposição de Misturadores, Abastecedores e Aplicadores A Agrotóxicos. Brasília, 28/04/2009.

SOUZA, T.P. **Tese de Doutorado**. Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (*Urophorbiaceae*), Porto Alegre: UFRGS, 2004.

SOUZA-SILVA, R.F.; RAPINI, A. *Allamanda caticola* (Apocynaceae), na overlooked new species from limestone outcrops in the State of Minas Gerais and Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Pharmocognosy**. V.19 (2a): 349-352, abr/jun. 2009.

- STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotechnol. Ciênc. Desenv.**, v. 2, n. 1, p. 16-21, 1999.
- TAVARES, S.C.C.H.; LIMA, F.M.; MELO, N.F. Principais doenças da videira e alternativas de controle. In: LEOÃO, P.C.; SOARES, J.M (Eds). **A viticultura no semiárido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2000. p. 293-346.
- TERRY, L.A.; JOYCE, D.C.; ADIKARAM, N.K.B.; KHAMBAY, B.P.S. Prefomed antifungal compound in strawberry fruit and flower tissue. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 201-212, 2004.
- TIWARI, T.N.; PANDEY, V.B.; DUBEY, N.K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytother Res**, v. 16, p. 393-394, 2002.
- WALTERS, D.R.; FOUNTAINE, J.M. Practical application on induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **The Journal of Agricultural Science**, v. 147, p. 523-535, 2009.
- WANI, S.H. Inducing fungus-resistance into plant through biotechnology. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 2, n. 2, p.14-21, 2010.
- WHITTAKER, R.H.; FENNY, P.P. Allelochemicals: chemical interactions between species. **Science**, v. 171, p. 757-770, 1971.
- WIART, C. **Medicinal Plants of Asia and the Pacific**. CRC Press: Taylor & Francis, 2006.
- WILLOCQUET, L.; CLERJEAU, M. An analysis on the effects of environmental factors on conidial dispersal of *Uncinula necator* (grape powdery mildew) in vineyards. **Plant Pathology**, v. 47, p. 227-233, 1998.
- WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Caracterização parcial de elicitores de fitoalexinas em sorgo isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia brasileira**, v. 24, n.3, p. 428-435, 1999.

ANEXOS

Experimento com discos de folhas



Foto (esquerda): Corte dos discos.



Foto (direita): Placas com discos de folhas.

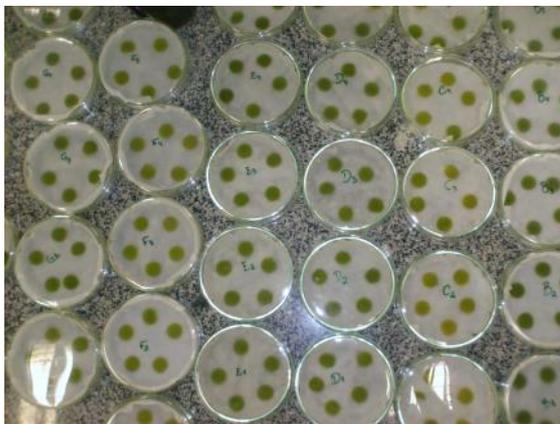


Foto (esquerda): Placas com discos de folhas.

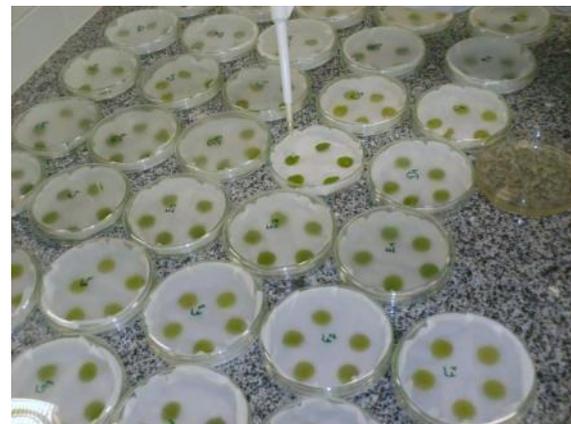


Foto (direita): Inoculação com suspensão de esporos de oídio (*Uncinula necator*).

Evolução do oídio (*Uncinula necator*) em discos de folhas 96 h após aplicação de elicitores.

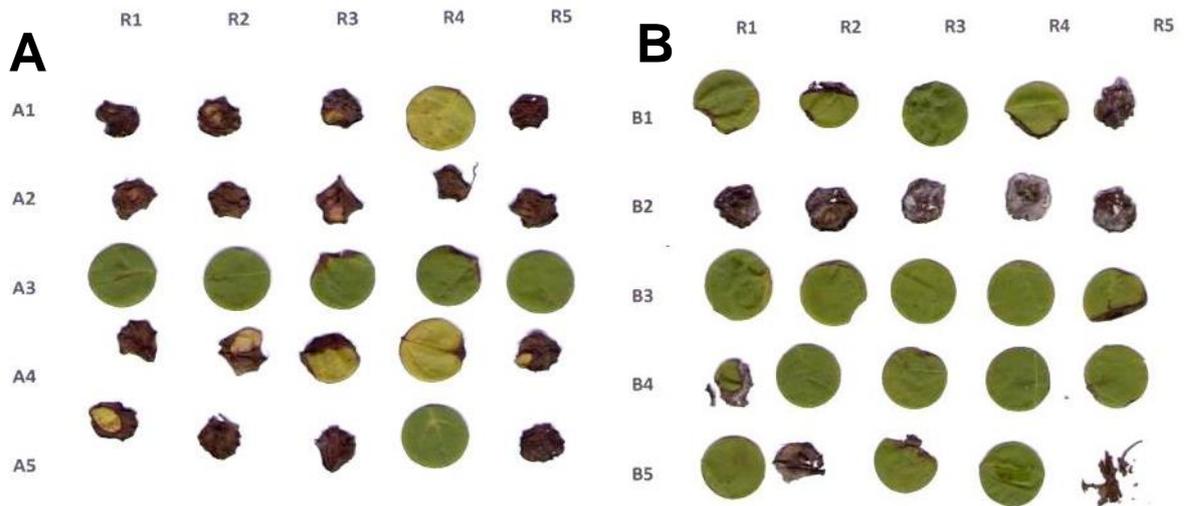


Figura A - Testemunha negativa (água destilada).

Figura B - Extrato etanólico de *Allamanda blanchetti* a quente (Abq) (extraído em aparelho Soxhlet por 36h) 10 ppm.

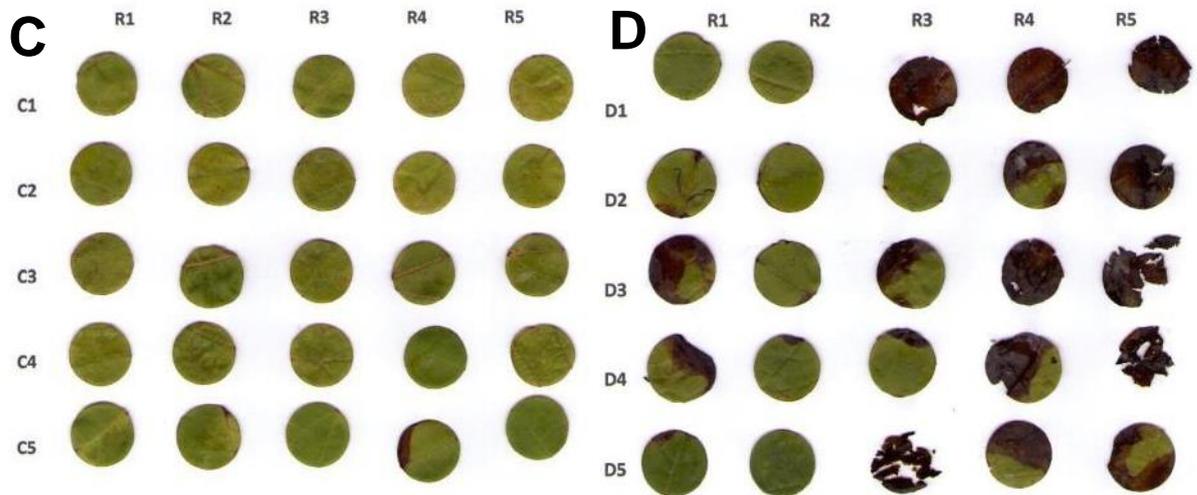


Figura C - Abq 100 ppm.

Figura D - Abq 500 ppm.

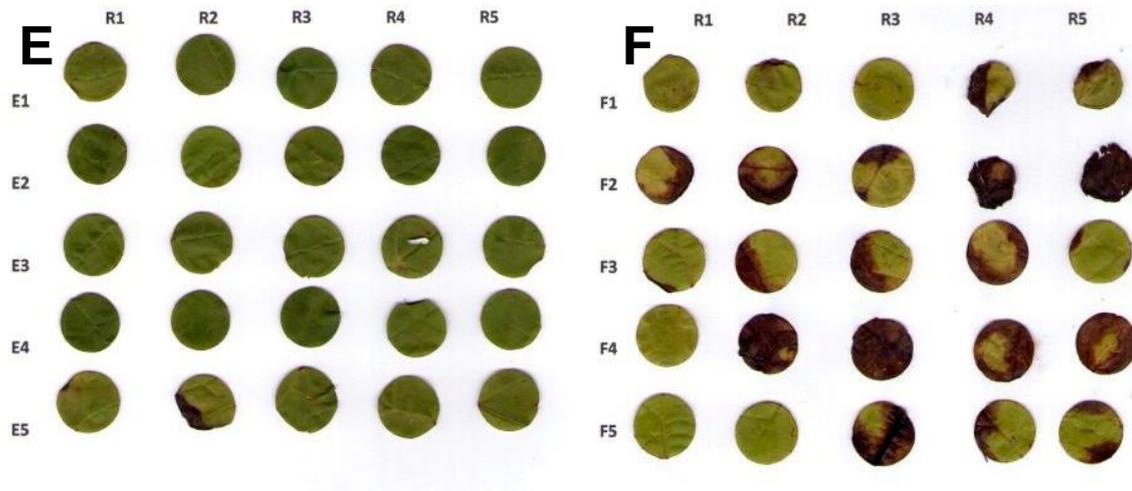


Figura E - Abq 1000 ppm.

Figura F - Extrato etanólico de *Allamanda blanchetti* a frio (Ab) 10 ppm.

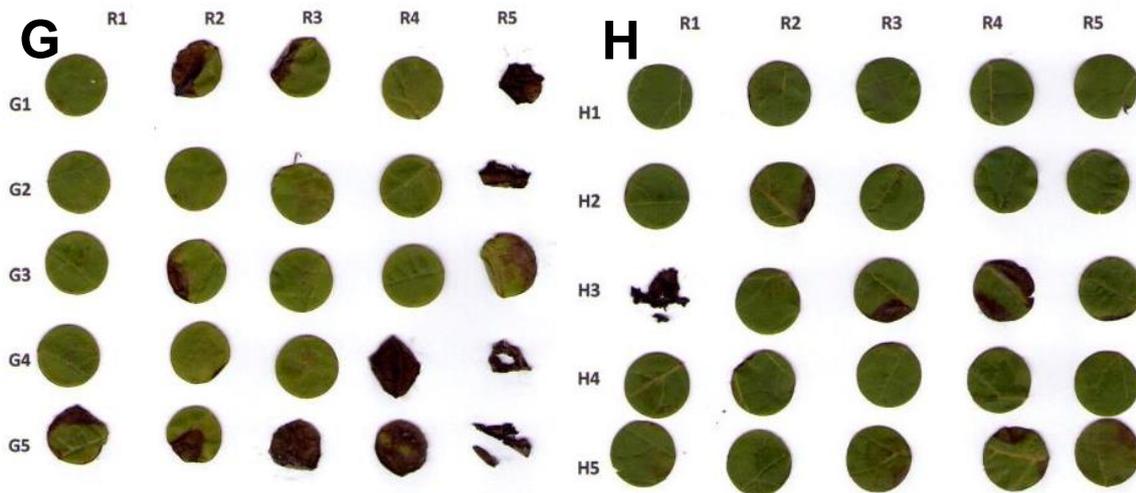


Foto G - Ab 100 ppm.

Foto H - Ab 500 ppm.

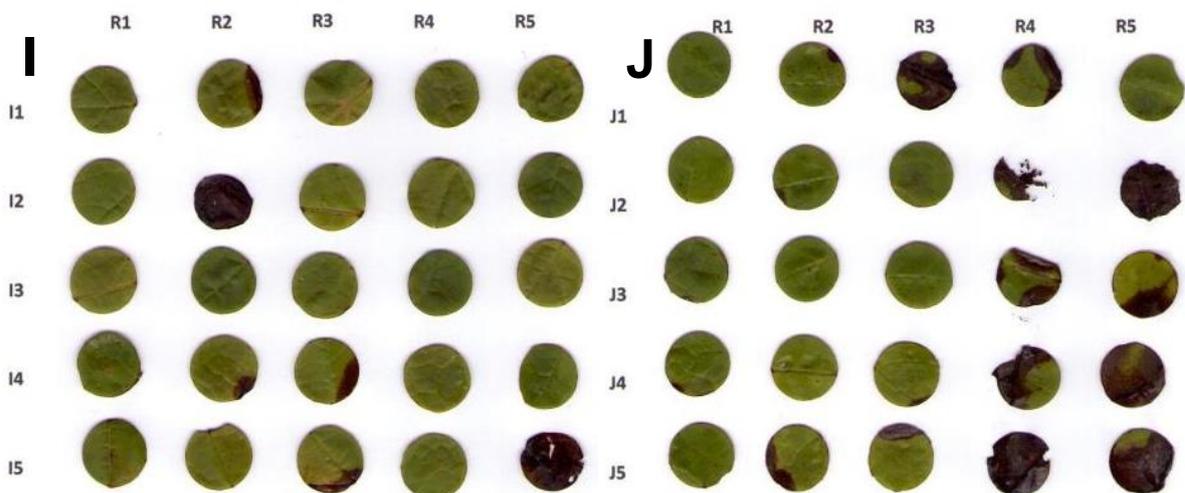


Figura I - Ab 1000 ppm.

Figura J - Acibenzolar-S-metil (200 g.L⁻¹)

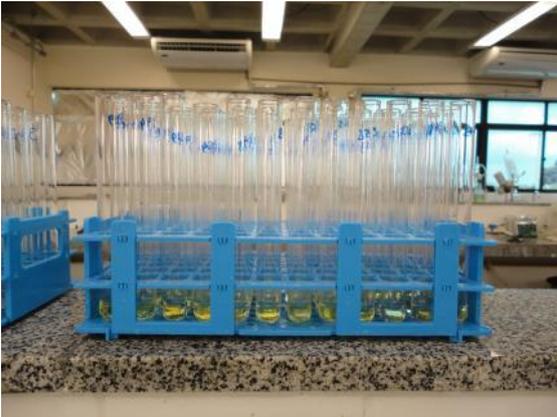


Foto (esquerda): Teste de fitoalexinas em mesocótilo de sorgo.
Foto (direita): Produção de fitoalexina em mesocótilo de sorgo.

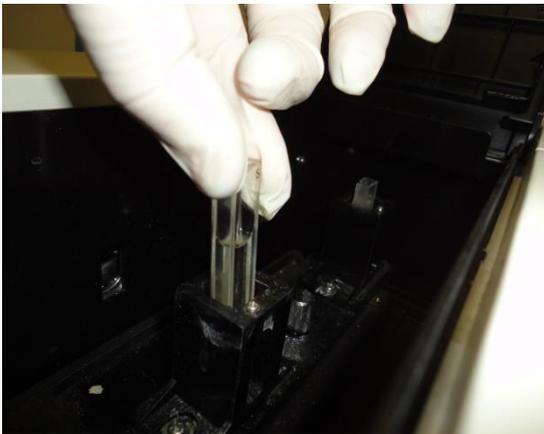
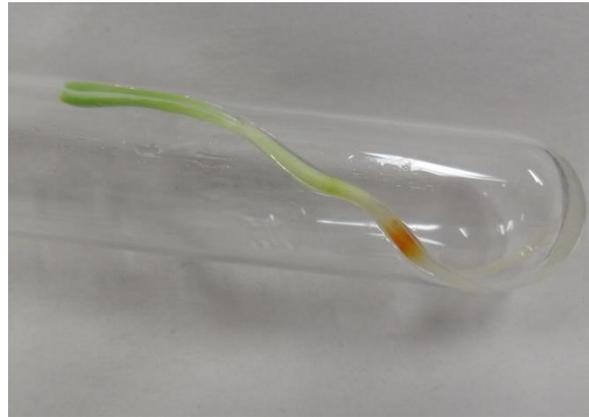


Foto (direita): Leitura de absorvância em espectrofotômetro a 480 nm.
Foto (esquerda): Leitura de absorvância em espectrofotômetro a 480 nm.



Foto (direita): Extração em aparelho Soxhlet.
Foto (esquerda): Extração em aparelho Soxhlet.