

# Indução de resistência à podridão-parda em pêssegos pelo uso de eliciadores em pós-colheita

Moeses Andriago Danner<sup>(1)</sup>, Simone Aparecida Zolet Sasso<sup>(1)</sup>, José Gilberto Sousa Medeiros<sup>(1)</sup>, José Abramo Marchese<sup>(1)</sup> e Sérgio Miguel Mazaro<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, Via do Conhecimento, Km 1, Caixa Postal 571, CEP 85501-970 Pato Branco, PR. E-mail: moeses@utfpr.edu.br, iosasso@ibest.com.br, gilmedeiros@wln.com.br, abramo@utfpr.edu.br  
<sup>(2)</sup>UTFPR, Campus Dois Vizinhos, Estrada para Boa Esperança, Km 4, CEP 85660-000 Dois Vizinhos, PR. E-mail: sergio@utfpr.edu.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos eliciadores acibenzolar-S-metil e proteína harpina, aplicados em pós-colheita, na indução de resistência sistêmica à podridão-parda em pêssegos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em parcelas subdivididas – com e sem ferimentos provocados aos frutos –, e os tratamentos foram constituídos por: acibenzolar-S-metil (50 mg do i.a. L<sup>-1</sup>), dois produtos comerciais com proteína harpina (80 mg do i.a. L<sup>-1</sup>) e uma testemunha (água destilada). Os frutos foram pulverizados, individualmente, com 1 mL de solução aquosa com os tratamentos e, após 12 horas, efetuou-se a inoculação com *Monilinia fructicola* (0,2 mL da suspensão com concentração de 10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>, em cada lado do fruto). Após 60 horas da inoculação, avaliaram-se: a área lesionada, a esporulação e o percentual de controle. Determinaram-se os teores de proteínas totais, açúcares redutores e totais, fenóis, além da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). Os eliciadores induziram resistência dos frutos a *M. fructicola*, com redução do desenvolvimento do fungo. O uso dos eliciadores aumentou os teores dos parâmetros bioquímicos avaliados e a atividade da FAL, que esteve relacionada à redução da área lesionada em pêssegos. Os indutores podem contribuir para o manejo integrado da podridão-parda em pêssegos, em pós-colheita.

Termos para indexação: *Monilinia fructicola*, acibenzolar-S-metil, fenilalanina amônia-liase, harpina, resistência sistêmica adquirida.

## Induction of resistance to brown-rot on peaches by elicitors use in post-harvest

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effects of acibenzolar-S-methyl and harpin protein elicitors, applied in post-harvest, in systemic resistance induction to brown-rot, on peaches. A completely randomized design was utilized, with four replicates, in a split plot scheme – injured or noninjured peaches –, and treatments were constituted of: acibenzolar-S-methyl (50 mg of a.i. L<sup>-1</sup>), two commercial products with harpin protein (80 mg of a.i. L<sup>-1</sup>); and control (distilled water). Peaches were sprayed individually with 1 mL of aqueous solution containing the treatments and, after 12 hours, the inoculation of *Monilinia fructicola* was carried out (0.2 mL of spore suspension with 10<sup>5</sup> spores mL<sup>-1</sup>, in each side of the fruit). Sixty hours past inoculation, the size of lesions, sporulation and percentage of control were evaluated. The contents of total protein, total phenol, total and reducing sugar, besides activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), were determined. The elicitors induce resistance to *M. fructicola*, with reduction in fungal development. Elicitor's increased the evaluated biochemical parameters and the activity of PAL, which was related to the size reduction of lesions in peaches. The elicitors could be used in integrated management of brown-rot, in post-harvest applications.

Index terms: *Monilinia fructicola*, acibenzolar-S-methyl, phenylalanine ammonia-lyase, harpin, systemic acquired resistance.

### Introdução

A podridão-parda, causada pelo fungo *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, é considerada a doença economicamente mais importante do pessegueiro, no Brasil (Fortes & Martins, 1998), e seu principal dano é a podridão na pós-colheita dos frutos. Feliciano et al.

(1987) observaram desenvolvimento mais lento da lesão no fruto e menor esporulação de *M. fructicola* na cultivar de pessegueiro Bolinha. Entretanto, ainda não existem cultivares que apresentem elevado grau de resistência à doença, principalmente em condições ideais para desenvolvimento do fungo.

A principal forma de controle da podridão-parda é a utilização de fungicidas, em pré-colheita. No entanto, o controle químico possui limitações, pois seu uso excessivo pode resultar em resíduos nos frutos e surgimento de resistência dos patógenos aos ingredientes ativos. Estes fatores têm estimulado práticas de produção favoráveis à conservação do meio ambiente e da qualidade dos frutos. Métodos de controle alternativos de doenças em plantas vêm se destacando, como o uso de eliciadores para indução da resistência sistêmica adquirida (RSA).

A RSA se caracteriza pela expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos nas plantas, tais como: proteínas relacionadas à patogenicidade (proteínas-RP), como quitinases e glucanases; enzimas envolvidas na rota da síntese de fitoalexinas, como a fenilalanina amônia-liase; acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao local de penetração do microrganismo (Durrant & Dong, 2004).

Os genes envolvidos na RSA estão associados, principalmente, com o acúmulo do ácido salicílico, que é sinalizador para a expressão de proteínas-RP (Grüner et al., 2003; Jalali et al., 2006). A expressão desses genes tem sido observada em vários patossistemas, pelo uso de diversos produtos de origem biótica e abiótica, denominados de eliciadores, entre os quais se destacam: o acibenzolar-S-metil (ASM) (Cole, 1999; Terry & Joyce, 2000; Latunde-Dada & Lucas, 2001), liberado para uso comercial no Brasil para tratamento do tomate, citros e cacau (Anvisa, 2001); e a proteína harpina (Dong et al., 1999; Capdeville et al., 2003; Clarke et al., 2005), liberada para uso comercial nos Estados Unidos (United States, 2005). Em alguns casos, esses produtos foram eficientes no controle de podridões em pós-colheita de frutos (Dong et al., 1999; Terry & Joyce, 2000; Capdeville et al., 2003).

O ASM é um análogo do ácido salicílico, que induz a ativação de genes que codificam proteínas-RP e enzimas relacionadas à produção de fitoalexinas e lignina (Cole, 1999; Oostendorp et al., 2001). A harpina pertence a uma classe de proteínas produzidas por algumas bactérias, isolada primeiramente de *Erwinia amylovora* (Wei et al., 1992), que ativa a síntese de moléculas sinalizadoras, como o ácido salicílico, o ácido jasmônico e o etileno, e induz a RSA (Dong et al., 1999; Clarke et al., 2005). Entre as proteínas-RP ativadas por esses eliciadores, encontra-se a fenilalanina amônia-liase (FAL), que está diretamente envolvida no processo de produção de compostos fenólicos e lignificação da parede celular (Nakazawa et al., 2001).

Por mais que se conheçam, no meio científico, os efeitos indutores de resistência sistêmica de ASM e harpina, os trabalhos ainda são inexistentes para a cultura do pessegueiro.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos eliciadores acibenzolar-S-metil e da proteína harpina, aplicados em pós-colheita, na indução de resistência sistêmica à podridão-parda em pêssegos.

## Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Vegetal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, com frutos de pessegueiro (*Prunus persica* L.) da seleção 'Conserva 681', provenientes do campo experimental da UTFPR. Os frutos foram coletados de plantas com quatro anos de idade, oriundas do programa de melhoramento genético da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, cultivadas no espaçamento 4x6 m, no sistema de condução tipo taça. Realizou-se um tratamento fungicida com tebuconazole (100 mL 100 L<sup>-1</sup>) contra a podridão-parda (May de Mio et al., 2004), durante a floração.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições, e parcelas representadas por bandejas de plástico com tampa, com 12 frutos cada. As parcelas foram submetidas à aplicação de três eliciadores: acibenzolar-S-metil (ASM) e dois produtos comerciais com harpina, além de uma testemunha (água destilada). As subparcelas foram constituídas por frutos com e sem ferimentos.

Os frutos maduros foram colhidos e transportados em caixas de plástico para o laboratório de Bioquímica e Fisiologia da UTFPR, onde foram selecionados, tendo-se considerado a ausência de injúrias visuais e infecções, bem como a uniformidade de tamanho, a firmeza e a cor. Em seguida, foram submetidos à desinfecção superficial, com imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 3 min, e foram secados à temperatura ambiente, por 10 min, e divididos em dois grupos. Em seguida, foi realizado o fermento mecânico nos frutos de um dos grupos.

Para o fermento dos frutos, foi utilizado um perfurador de 1,8 mm de diâmetro, que perfurou a porção equatorial, em dois lados opostos, até 1 cm de profundidade.

A aplicação dos eliciadores foi efetuada 2 horas após a colheita, por meio da pulverização da superfície total

de cada fruto com 1 mL de solução aquosa com os tratamentos, com auxílio de um borrifador. Na testemunha, utilizou-se água destilada. O ASM foi aplicado à concentração de 50 mg do i.a. L<sup>-1</sup>, com o uso do produto comercial Acti Gard 50 WG (50% do i.a.). A proteína harpina foi aplicada à concentração de 80 mg do i.a. L<sup>-1</sup>, em duas formulações comerciais: Messenger (3% do i.a.) e ProAct (1% do i.a.). O Messenger é produzido comercialmente em *Escherichia coli* K-12 transformada, que recebe o fragmento de DNA que codifica a proteína harpina de *E. amylovora*. O ProAct é uma combinação de quatro fragmentos de proteína harpina, derivados de três bactérias de ocorrência natural: (1) harpinN de *E. amylovora*, (2) harpinW de *E. amylovora*, (3) popA de *Ralstonia solanacearum* e (4) harpinZ de *Pseudomonas syringae*. A harpina não apresenta nenhum sintoma de toxicidade em animais (United States, 2005).

Em seguida, os frutos foram acondicionados sobre anéis de policloreto de vinila (PVC), de 50 mm de diâmetro e 2 cm de altura, e depois em caixas de plástico (23x17x10 cm), fechadas e forradas com papel toalha umedecido, para formação de câmara úmida. As caixas de plástico foram mantidas em recinto à temperatura ambiente (24±4°C).

Após 12 horas, foi realizada a inoculação do fungo com 0,2 mL da suspensão de esporos, à concentração de 10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>, em cada lado do fruto, com auxílio de um borrifador. O inóculo de *M. fructicola* foi obtido a partir de frutos infectados, e a cultura pura foi desenvolvida em placas de Petri, com meio BDA (batata, dextrose e ágar), mantidas em estufa incubadora tipo BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Nessas placas foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada, procedeu-se à raspagem das colônias com pincel, e foi determinada a concentração de esporos, com auxílio da câmara de Neubauer.

Sessenta horas após a inoculação, os frutos foram avaliados quanto aos parâmetros: área lesionada, eficiência de controle e contagem de esporos. Além disso, efetuou-se a coleta de tecido dos frutos, para posterior medição da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase, e do teores de proteínas totais, açúcares totais e redutores, e de fenóis totais, no laboratório de Bioquímica e Fitopatologia da UTFPR, Campus Dois Vizinhos.

Para a avaliação da área lesionada por *M. fructicola* na superfície dos frutos, mediram-se quatro raios, a partir do centro da lesão, nas direções superior, inferior, direita

e esquerda, com auxílio de um paquímetro digital. O raio médio, mensurado nos dois lados do fruto, foi utilizado para o cálculo da área superficial lesionada. Pelo fato de as áreas lesionadas terem sido praticamente circulares, utilizou-se a fórmula-padrão para cálculo da área do círculo:  $A = \pi r^2$ , em que: A = área superficial acometida pela infecção;  $\pi$  = constante (3,1416); r = raio médio da lesão superficial.

A eficiência de controle foi calculada por meio da redução da área lesionada dos frutos tratados com os eliciadores, em relação aos frutos tratados com água: eficiência (%) = [(valor da testemunha - valor do tratamento)/valor da testemunha] x 100. A contagem de esporos foi efetuada em todos os frutos de cada repetição, pela raspagem em área de 1 cm<sup>2</sup> no centro da lesão, com auxílio de um estilete. Em seguida, o estilete foi mergulhado num frasco com 10 mL de água destilada esterilizada, para formar uma suspensão de esporos. Para se determinar a concentração de esporos da suspensão, foi utilizada a câmara de Neubauer.

A obtenção dos discos de tecido dos pêssegos (epicarpo + mesocarpo), utilizados para as análises bioquímicas, foi feita pela padronização de uma área de 1 cm<sup>2</sup> e cerca de 5 mm de profundidade, na região limítrofe à lesão causada por *M. fructicola*, com auxílio de lâmina de aço inoxidável. Em seguida, os discos foram acondicionados em frascos, selados, identificados e armazenados em freezer a -18° C. As análises bioquímicas foram efetuadas com procedimentos descritos em: Hyodo et al. (1978), para determinação da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase; Bradford (1976), para obtenção do teor de proteínas; Dubois et al. (1956), para determinação da concentração de açúcares solúveis totais; Miller (1959), para determinação da concentração de açúcares redutores; e Bielecki & Turner (1966) e Jennings (1981), em método adaptado para quantificação dos compostos fenólicos totais. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro, modelo UV-1601-Shimadzu.

Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com uso do programa GENES (Cruz, 2006). Os valores de número de esporos por mililitro e de eficiência de controle foram transformados em  $(x+0,5)^{0,5}$ . Os dados de atividade de fenilalanina amônia-liase e área lesionada foram submetidos à análise de correlação de Pearson, a 1% de probabilidade, pelo teste t.

## Resultados e Discussão

Não foi verificada interação significativa entre os fatores estudados (eliciadores x fermentos no fruto), em nenhuma das variáveis avaliadas. Os eliciadores reduziram a área superficial lesionada por *M. fructicola* nos frutos, em relação à testemunha, com destaque para o Messenger, à base de harpina, que também apresentou maior eficiência de controle que o ASM (Tabela 1). Os eliciadores proporcionaram redução média de 32% na área lesionada na superfície dos frutos, ao se calcular a eficiência de controle com base neste parâmetro.

A avaliação do número de esporos por mililitro demonstrou que os três eliciadores reduziram significativamente a esporulação do fungo, em relação à testemunha. Resultados semelhantes foram obtidos por Capdeville et al. (2003), que observaram redução da incidência e severidade dos danos, causados por *Penicillium expansum* em três cultivares de maçã, tratadas em pré e pós-colheita com harpina. Terry & Joyce (2000) observaram controle de *Botrytis cinerea* em morangueiro, com o uso de ASM em pré-colheita.

Observou-se que frutos feridos mecanicamente apresentaram maior área lesionada e número de esporos por mililitro, em relação aos frutos sem fermento (Tabela 1). Segundo Emergy et al. (2000), fermentos em pêssegos, causados por pássaros e insetos, criam pontos de entrada para infecção e fontes de nutrientes para subseqüentes esporulações de *M. fructicola*.

**Tabela 1.** Área lesionada, eficiência de controle e número de esporos por mililitro, em frutos de pessegueiro não tratados e tratados em pós-colheita com os eliciadores ASM, Messenger e Pro Act, e em frutos com ou sem danos mecânicos<sup>(1)</sup>.

| Tratamentos   | Área lesionada (cm <sup>2</sup> ) | Eficiência de controle (%) | Número de esporos mL <sup>-1</sup> x 10 <sup>4</sup> |
|---------------|-----------------------------------|----------------------------|--|
|               |                                   |                            |  |
| Testemunha    | 14,5a                             | - <sup>(2)</sup>           | 16,8a  |
| ASM           | 10,9b                             | 24,9b                      | 4,8b   |
| Messenger     | 8,7c                              | 39,8a                      | 5,8b   |
| Pro Act       | 9,9bc                             | 31,5ab                     | 9,1b   |
| Dano mecânico |                                   |                            |  |
| Sem fermento  | 9,9b                              | -                          | 5,1b   |
| Com fermento  | 12,1a                             | -                          | 13,2a  |
| CV (%)        | 9,3                               | 11,3                       | 17,3   |

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras distintas, na coluna, dentro de cada fator, diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>(2)</sup>Não se aplica.

Nas avaliações bioquímicas, observou-se efeito dos três eliciadores no aumento dos teores de proteínas, açúcares totais e redutores, e fenóis totais, em relação à testemunha (Tabela 2). A concentração de proteínas totais e açúcares redutores (glicose, manose e frutose), em frutos tratados com Messenger e Pro Act, ambos à base de harpina, foi maior do que nos frutos tratados com ASM. Além disso, observou-se que frutos feridos mecanicamente apresentaram maior teor de açúcares totais e redutores, e fenóis totais, em relação aos frutos sem fermento mecânico.

Essa elevação dos teores de compostos do ciclo primário e secundário está relacionada ao aumento da atividade metabólica, induzida nos frutos pelos eliciadores e pelo fermento. A elevação do teor de proteínas está relacionada à síntese de proteínas-RP, e a elevação dos teores de açúcares redutores, à necessidade de açúcares simples, disponíveis para manter o maior metabolismo respiratório (Kuhn, 2007).

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) foi incrementada pela aplicação dos eliciadores, em relação à testemunha (Figura 1 A), fato também observado por Stadnik & Buchenauer (2000), em plantas de trigo tratadas com ASM, que sofreram inoculação com *Blumeria graminis*. Além disso, observou-se que, quando se utilizaram os eliciadores, a maior atividade da FAL foi correlacionada negativamente ( $r = -0,995^{**}$ ) à área superficial dos frutos lesionada por *M. fructicola*, o que indica efeito benéfico dos eliciadores na ativação desta enzima e, como conseqüência, na redução da área lesionada. Outras respostas de defesa são ativadas pelos

**Tabela 2.** Teores de proteínas, açúcares totais e redutores, e fenóis totais presentes em frutos de pessegueiro, não tratados e tratados em pós-colheita com os eliciadores ASM, Messenger e Pro Act, e em frutos com ou sem danos mecânicos<sup>(1)</sup>.

| Tratamentos   | Proteínas totais | Açúcares totais | Açúcares redutores    | Fenóis totais |
|---------------|------------------|-----------------|-----------------------|---------------|
|               |                  |                 |                       |               |
| Elicidores    |                  |                 |                       |               |
| Testemunha    | 1,7c             | 108,4c          | 0,6x10 <sup>2</sup> c | 1,13b         |
| ASM           | 3,0b             | 139,6b          | 0,9x10 <sup>2</sup> c | 1,31a         |
| Messenger     | 4,2a             | 159,0a          | 1,1x10 <sup>2</sup> a | 1,39a         |
| Pro Act       | 4,2a             | 146,1ab         | 1,2x10 <sup>2</sup> a | 1,44a         |
| Dano mecânico |                  |                 |                       |               |
| Sem fermento  | 3,1a             | 125,5b          | 0,8x10 <sup>2</sup> b | 1,18b         |
| Com fermento  | 3,4a             | 151,0a          | 1,1x10 <sup>2</sup> a | 1,46a         |
| CV (%)        | 7,9              | 5,5             | 8,0                   | 10,7          |

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras distintas, na coluna, dentro de cada fator, diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

eliciadores e podem ter contribuído na redução da área lesionada, como a ativação das enzimas glucanases e quitinases (Durrant & Dong, 2004), não quantificadas neste trabalho.

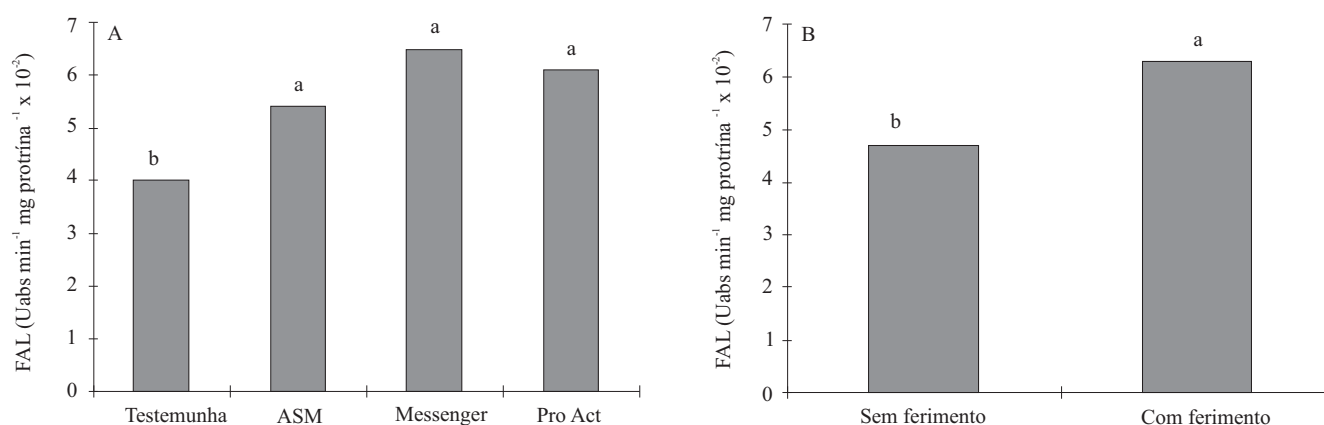
Frutos feridos mecanicamente apresentaram maior atividade da FAL, em relação a frutos sem ferimento (Figura 1 B). Este fato ocorreu, possivelmente, porque o ferimento nos frutos ativou a síntese de FAL, fato observado também por Saltveit (2000). Porém, ao mesmo tempo, esses frutos apresentaram maior área lesionada (Tabela 1), pois o ferimento mecânico proporcionou pontos de entrada e infecção para *M. fructicola*, o que facilitou seu estabelecimento.

Ao se avaliar o aumento dos níveis de fenóis totais e da atividade da FAL pelo uso dos eliciadores (Tabela 2 e Figura 1 A), pode-se inferir que Messenger, Pro Act e, em menor grau, o ASM, ativaram a rota dos fenilpropanóides, ou seja, potencializaram os mecanismos envolvidos na síntese de compostos fenólicos, como as fitoalexinas e, principalmente, a lignina, que confere à parede celular maior resistência aos patógenos (Nakazawa et al., 2001). Gradziel et al. (1998) associaram os maiores níveis de resistência em frutos de pessegueiro a *M. fructicola* ao maior acúmulo de compostos fenólicos na polpa e na epiderme.

Embora os eliciadores tenham proporcionado menor tamanho de lesão e menor esporulação de *M. fructicola*, observou-se incidência de podridão-parda em 100% dos

frutos, deixando-os, inclusive, impróprios à comercialização, em razão de sua má aparência. Em todos os tratamentos, houve o desenvolvimento rápido das lesões e da esporulação de *M. fructicola*, nos frutos de pessegueiro da seleção 'Conserva 681', principalmente após 30 horas da inoculação. Isto ocorreu em razão das condições experimentais utilizadas, tais como: alta concentração de inóculo, genótipo suscetível à doença, condições de alta umidade e temperatura ideal para desenvolvimento do fungo. Capdeville et al. (2003) demonstraram que o grau de proteção resultante da RSA pode variar de acordo com a concentração do indutor e do inóculo do fitopatógeno, com o intervalo de tempo entre o tratamento indutor e o contato com o fitopatógeno e com o genótipo utilizado. Além disso, esses autores relatam que houve maior efeito de indução de RSA quando as plantas de macieira foram tratadas com a proteína harpina, em pré-colheita, em comparação ao tratamento pós-colheita dos frutos.

Os resultados observados neste trabalho revelam que os eliciadores apresentam bom potencial de utilização no controle de *M. fructicola*, como estratégia de manejo integrado para redução dos danos pós-colheita. Porém, esses eliciadores devem ser testados em outros genótipos e condições de desenvolvimento do fungo, como por exemplo, com o acondicionamento refrigerado dos frutos. Além disso, testes adicionais com a utilização de diferentes concentrações desses indutores, em aplicações pré-colheita, aliadas às aplicações pós-colheita, podem ser realizados.



**Figura 1.** Efeito dos eliciadores ASM, Messenger e Pro Act (A) e da condição de inoculação nos frutos, com e sem ferimento (B), na atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL), em frutos de pessegueiro seleção 'Conserva 681', infectados com *Monilinia fructicola*. Médias com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. CV = 11,4%.

## Conclusões

1. A aplicação dos eliciadores à base de acibenzolar-S-metil e proteína harpina, em pós-colheita de pêssegos, ativa mecanismos relacionados à resistência dos frutos a *Monilinia fructicola*.
2. O uso dos eliciadores aumenta os teores de proteínas totais, açúcares totais e redutores, e fenóis totais.
3. A atividade da fenilalanina amônia-liase é aumentada pelo uso dos eliciadores e está relacionada à redução da área lesionada em pêssegos.
4. Os eliciadores podem contribuir no manejo integrado da podridão-parda, em pêssegos.

## Referências

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 114, de 1º de junho de 2001. Inclui na monografia A-38 Acibenzolar-S-metil... **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 5 jun. 2001.
- BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, v.17, p.278-293, 1966.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CAPDEVILLE, G.; BEER, S.V.; WATKINS, C.B.; WILSON, C.L.; TEDESCHI, L.O.; AIST, J.R. Pre- and post-harvest harpin treatments of apples induce resistance to blue mold. **Plant Disease**, v.87, p.39-44, 2003.
- CLARKE, A.; MUR, L.A.J.; DARBY, R.M.; KENTON, P. Harpin modulates the accumulation of salicylic acid by *Arabidopsis* cells via apoplastic alkalization. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.3129-3136, 2005.
- COLE, D.L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal disease of tobacco. **Crop Protection**, v.18, p.267-273, 1999.
- CRUZ, C.D. **Programa genes: estatística experimental e matrizes**. Viçosa: UFV, 2006. 285p.
- DONG, H.P.; DELANEY, T.P.; BAUER, D.W.; BEER, S.V. Harpin induces disease resistance in *Arabidopsis* through the systemic acquired resistance pathway mediated by salicylic acid and the *NIM1* gene. **Plant Journal**, v.20, p.207-215, 1999.
- DuBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.
- EMERGY, K.M.; MICHAILIDES, T.J.; SCHERM, H. Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia. **Plant Disease**, v.84, p.853-857, 2000.
- FELICIANO, A.; FELICIANO, A.J.; OGAWA, J.M. *Monilinia fructicola* resistance in peach cultivar Bolinha. **Phytopathology**, v.77, p.776-780, 1987.
- FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. (Ed.). **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa-SPI; Pelotas: Embrapa-CPACT, 1998. p.243-264.
- GRADZIEL, T.M.; THORPE, M.A.; BOSTOCK, R.M.; WILCOX, S. Breeding for brown rot (*Monilinia fructicola*) resistance in clingstone peach with emphasis on the role of fruit phenolics. **Acta Horticulturae**, v.465, p.161-170, 1998.
- GRÜNER, R.; STROPEN, G.; PFITZNER, A.P.; PFITZNER, U.M. Salicylic acid and the hypersensitive response initiate distinct signal transduction pathways in tobacco that converge on the *as-1*-like element of the *PR-1a* promoter. **European Journal of Biochemistry**, v.270, p.4876-4886, 2003.
- HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, v.62, p.31-35, 1978.
- JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **Journal of Phytopathology**, v.154, p.65-74, 2006.
- JENNINGS, A.C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v.118, p.396-398, 1981.
- KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J.A. The plant defence activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.58, p.199-208, 2001.
- MAY DE MIO, L.L.; MONTEIRO, L.B.; NAZARENO, N.R.X.; HICKEL, E. Classificação e manejo dos agroquímicos em fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. (Ed.). **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR, 2004. p.263-295.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1959.
- NAKAZAWA, A.; NOZUE, M.; YASUDA, H.; TAKEDA, G.; KUBO, H. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Pharbitis nil*. **Journal of Plant Research**, v.114, p.323-328, 2001.
- OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.
- SALTVEIT, M.E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.61-69, 2000.

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

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Suppression of grey mould on strawberry fruit with the chemical plant activator acibenzolar. **Pest Management Science**, v.56, p.989-992, 2000.

UNITED STATES. Environmental Protection Agency. **Biopesticide regulatory action document**: Harpin $\alpha\beta$  protein: (PC Code 006506). USA: U.S. Environmental Protection Agency Office, 2005. 22p.

WEI, Z.M.; LABY, R.J.; ZUMOFF, C.H.; BAUER, D.W.; HE, S.Y.; COLLMER, A.; BEER, S.V. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. **Science**, v.257, p.85-88, 1992.

---

Recebido em 9 de abril de 2008 e aprovado em 30 de junho de 2008