

## INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS FOLIARES E DE FLORES EM MORANGUEIRO POR QUITOSANA E ACIBENZOLAR-S-METIL

### INDUCTION OF RESISTANCE TO LEAF AND FLOWER DISEASES IN STRAWBERRY PLANTS BY CHITOSAN AND ACIBENZOLAR-S-METHYL

Sérgio Miguel Mazaro<sup>1\*</sup>; Cicero Deschamps<sup>2</sup>; Alfredo de Gouvea<sup>3</sup>; Idemir Citadin<sup>4</sup>; Américo Wagner Junior<sup>5</sup>.

#### RESUMO

A indução de resistência em plantas à patógenos com a utilização de indutores está sendo amplamente estudada considerando a demanda por frutos mais saudáveis aos consumidores. Assim sendo, foi desenvolvido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos – PR, um experimento com objetivo de avaliar os indutores de resistência quitosana e Acibenzolar-S-Metil (ASM) sobre o desenvolvimento das doenças do morangueiro mancha-de-micosferela (*Mycosphaerella fragariae*), mancha-de-dendrofoma (*Dendrophoma obscurans*) e à flor preta (*Colletotrichum acutatum*), relacionando com a ação bioquímica e a resposta de defesa vegetal. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, contendo 16 plantas por parcela. Foram avaliadas três doses de quitosana (0,5; 1,0 e 2,0%) e uma dose de ASM (0,25 g L<sup>-1</sup>) em relação à testemunha (água destilada) e o tratamento controle com aplicação de fungicidas. O intervalo de aplicações dos produtos foi de sete dias, totalizando 15 aplicações no ciclo da cultura. O uso dos indutores não interferiu na produtividade e na massa média dos frutos.

Quitosana nas concentrações de 1% e 2,0% e ASM reduziram a mancha-de-micosferela e a mancha-de-dendrofoma com eficiência comparável ao tratamento com fungicidas. O uso dos indutores interferiu nos parâmetros bioquímicos foliares de aminoácidos, açúcares totais e redutores e fenóis totais mantendo os valores superiores à testemunha.

**Palavras-chave:** *Fragaria x ananassa* Duch., proteínas PR, ASM, Benzothiadiazole, *Mycosphaerella fragariae*, *Dendrophoma obscurans*, *Colletotrichum acutatum*.

#### ABSTRACT

The induction of plant resistance against pathogen by inductors has been widely studied due to increasing demand for safe fruit for consumer. This work was carried out at Federal Technological University of Paraná State located at Dois Vizinhos - PR, with the objective to evaluate the induction of resistance by chitosan and Acibenzolar-S-Methyl (ASM) on the disease development of strawberry plants against mycosphaerella blight (*Mycosphaerella fragariae*),

<sup>1\*</sup> Eng. Agr., Dr., Professor, UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos. Estrada para Boa Esperança, Km04, Dois Vizinhos - PR. 85660-000 – e-mail: [sergio@utfpr.edu.br](mailto:sergio@utfpr.edu.br) – autor para correspondência

<sup>2</sup> Eng. Agr., Dr., Professor, Universidade Federal do Paraná.

<sup>3</sup> Licenciado em Ciências Agrícola, Dr., Professor, UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos.

<sup>4</sup> Eng. Agr., Dr., Professor, UTFPR, Câmpus Pato Branco

<sup>5</sup> Eng. Agr., Dr., Professor, UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos.

dendrophoma blight (*Dendrophoma obscurans*) and black flower rot (*Colletotrichum acutatum*). The used experimental design was a randomized block with four replications containing 16 plants each. The effect of the elicitor quitosana (0,5; 1,0 and 2.0%) and ASM (0,25g L<sup>-1</sup>) were evaluated in relation to control plants (distilled water only) and fungicides application. The intervals of products applications was seven days, totalizing 15 applications. The use of inductors did not affected the productivity or fruits average fresh weight. Chitosan treatment in the concentrations of 1% and 2% and ASM presented similar results to chemical control with fungicides for mycosphaerella blight and dendrophoma. Plant treatment with inductors also increased the concentration of amino acids total and reducing sugars and total phenol compared to control plants.

**Key words:** *Fragaria x ananassa* Duch., PR-protein, elicitor, ASM, Benzothiadiazole, *Mycosphaerella fragariae*, *Dendrophoma obscurans*, *Colletotrichum acutatum*.

## INTRODUÇÃO

A cultura do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) apresenta alta suscetibilidade a diversas doenças, e o clima nas principais regiões produtoras é extremamente favorável ao desenvolvimento da maioria dos patógenos, que aliado ao cultivo intensivo, ausência de cultivares resistentes e práticas culturais inadequadas torna imprescindível o uso de fungicidas (COSTA et al., 2003). No entanto a crescente preocupação mundial pela melhoria da qualidade ambiental e dos padrões de produção agrícola, com conseqüente aumento da demanda por produtos saudáveis, tem levado a busca de informações por práticas agropecuárias favoráveis à conservação e qualidade do

meio ambiente (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003). Neste contexto, vêm se destacando métodos de controle alternativos de doenças, através do uso de indutores ou elicitores, que induzem a resistência das plantas aos patógenos (SILVA, 2007; KUHN, 2007).

A indução de resistência pode ser conceituada como um mecanismo de defesa induzida por agentes bióticos ou abióticos ou infecção localizada por patógenos, que confere proteção à planta a um amplo espectro de microorganismos (DURRANT & DONG, 2004; MAZARO, 2007). A exemplo a quitosana é um indutor abiótico orgânico, obtida a partir da reação de desacetilação parcial da quitina, substância essa encontrada em invertebrados marinhos, insetos, fungos e levedura (MATHUR & NARANG, 1990). O uso de quitosana na agricultura está tomando importância pela sua atividade elicitora sobre uma enorme gama de patógenos, sendo esse efeito observado em morangueiro por diversos pesquisadores (EL GHOUTH et al., 1992; REDDY et. al., 2000; DEVLIEGHIERE et. al., 2004, MAZARO, 2007).

O composto sintético acibenzolar-S-metil (ASM) é um análogo do ácido salicílico, e tem sido amplamente estudado como agente indutor de resistência (TERRY & JOICE, 2004). Atua no acúmulo de PRs-proteínas, como quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanase, peroxidases (INBAR et al., 1998).

Por mais que se conheça no meio científico os efeitos indutores de quitosana e ASM, os trabalhos em morangueiro são limitados, e esses indutores não chegam a serem utilizados por produtores, seja pela carência de informações científicas que justifiquem seu emprego ou pelo desconhecimento de sua ação protetora. Dessa forma, necessita-se trabalhos que venham contribuir com informações que relacionem o uso desses indutores com respostas agrônômicas, bioquímicas e fisiológicas, para que em um futuro próximo

possa-se conhecer sua forma de ação e potencial de uso na cultura do morangueiro.

O objetivo desse trabalho foi de avaliar os indutores de resistência quitosana e Acibenzolar-S-Metil (ASM) sobre o desenvolvimento das doenças do morangueiro, mancha de micosphaerela (*Mycosphaerella fragariae*), mancha de dendrofoma (*Dendrophoma obscurans*) e flor preta (*Colletotrichum acutatum*), relacionando com a ação bioquímica e a resposta de defesa vegetal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no ano de 2004, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos – PR, situada a 25° 42' 52" S e 53° 03' 94" W, a 519 metros acima do nível do mar. O solo local é do tipo Latossolo Vermelho Distroférico Típico e o terreno apresenta aproximadamente 3% de declividade média.

A cultivar de morango utilizada foi a Aroma, com mudas procedentes do Chile e importadas por empresa que comercializa mudas de morango no Brasil, sendo o plantio realizado no mês de maio, no espaçamento de 30 x 30 cm entre plantas e quatro fileiras por canteiro. O sistema de condução foi em túnel baixo com fertirrigação com duas fileiras de tubos gotejadores por canteiro e com sistema de “mulching” plástico preto.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 16 plantas por parcela e quatro repetições. Os tratamentos incluíram a quitosana nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0%, e ASM na dose de 0,25g L<sup>-1</sup> diluído em água destilada; os fungicidas recomendados para a cultura (tiofanato-metílico - 49g i.a./100L água; iprodione - 75g i.a./100L. água e folpete - 135g i.a./100L água) e a testemunha (aplicação de água destilada). A quitosana foi dissolvida em ácido acético 1%, seguindo diluição com água destilada para

obter as concentrações testadas. A aplicação dos tratamentos foi realizada em intervalos de sete dias totalizando 15 aplicações durante o ciclo da cultura.

As colheitas foram realizadas em intervalo médio de três dias, totalizando 42 colheitas no ciclo produtivo da cultura. Após cada colheita os frutos foram transportados para o laboratório e então contados e pesados em balança de precisão. A produtividade média foi obtida somando-se a massa dos frutos de todas as colheitas e dividindo-se pelo número de plantas da parcela, e a massa média de fruto foi obtido dividindo-se a massa total dos frutos pelo número total de frutos.

Para avaliação da incidência natural da mancha-de-micosphaerela e mancha-de-dendrofoma em cada data de amostragem, a cada 20 dias, em um total de seis, foram realizadas contagens do número de folha com sintomas das doenças, considerando-se as quatro plantas centrais de cada parcela, e a incidência definida pelo percentual de folhas atacadas em relação ao total de folhas das plantas avaliadas. Com base nos dados obtidos foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença através da seguinte fórmula:  $AACPD = \sum[(I_i + I_{i+1})/2 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$ ,  $I_i$  = incidência na época da avaliação  $i$  e  $T_i$  = idade da planta na época da avaliação  $i$ .

Para mancha-de-micosphaerela além da incidência foi realizada avaliação da severidade, sendo que em cada uma das plantas avaliadas foram marcadas duas folhas e nestas foi determinado o número e o tamanho das lesões. O tamanho das lesões foi obtido com auxílio de um paquímetro. Com base no diâmetro da lesão foi estimada a área média da lesão. A área total lesionada foi obtida multiplicando-se a área média das lesões pelo número de lesões por folha. A severidade, dada pela percentagem de área foliar lesionada, foi determinada com base na relação entre a área foliar média e área lesionada de cada tratamento em cada época de avaliação. Tal metodologia foi adotada para avaliação da severidade devido à

ausência de uma escala diagramática que pudesse ser utilizada no experimento. A área sob a curva de progresso da doença foi determinada pela seguinte fórmula: AACPD =  $\Sigma[(S_i + S_{i+1})/2 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$ , onde  $S_i$  = severidade da doença na época da avaliação  $i$ ;  $T_i$  = idade da planta na época da avaliação  $i$ .

Para avaliação natural da antracnose, cujo sintoma é conhecido como flor preta, causada por *Colletotrichum acutatum* foi efetuada a avaliação da incidência de sintomas típicos do ataque do patógeno, caracterizado pela necrose do pecíolo, das flores e frutos jovens, deformações em frutos verdes e manchas deprimidas nos frutos maduros (TANAKA & PASSOS, 2002).

Para as análises bioquímicas em tecidos foliares (proteínas totais, aminoácidos, fenóis totais, açúcares totais e redutores), discos foliares foram coletados 24, 72, 120 e 168 h após a aplicação dos indutores. Imediatamente após as coletas as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em "freezer", na temperatura de -20°C até às avaliações.

Para dosagem de proteínas totais as amostras de tecido foram colocadas em 10 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5) e maceradas em almofariz de porcelana. A seguir, o material foi centrifugado (14.000 g / 10 min a 4°C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras foi empregado o teste de BRADFORD (1976).

Para determinação de aminoácidos as amostras foram maceradas em almofariz contendo 5 mL de ácido sulfosalicílico e centrifugadas por 15 minutos a 3.600 g. Utilizando-se 2 mL do extrato e adicionando-se 2 mL de ácido acético + 2 mL de ninidrina ácida, deixou-se em banho-maria por 1 hora a 100°C.; após as amostras foram resfriadas em banho de gelo. A leitura das amostras dos padrões foi realizada colorimetricamente

a 520 nm. A curva padrão foi obtida com prolina (100ug/mL).

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada em duas fases, seguindo o método BIELESKI & TURNER (1966) e adaptado por JENNINGS (1991).

Açúcares solúveis totais foram determinados pelo método fenol-sulfúrico descrito por DUBOIS et al. (1956) e açúcares redutores pelo método do dinitrosalicilato (MILLER, 1959).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias pelo Teste Tukey ( $P \geq 0.05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As aplicações dos indutores quitosana e ASM não interferiram sobre a massa média dos frutos e produtividade, não havendo diferenças entre os tratamentos (Tabela 1). Isso demonstra que os indutores nas doses e frequência de aplicações avaliadas não comprometeram a produtividade com perdas metabólicas, fato possível quando se faz uso de indutores de resistência, devido a desvios de rotas metabólicas para síntese de compostos de defesa (HEIL & BOSTOCK 2002).

Na avaliação da mancha-de-micosferela as áreas abaixo das curvas de progresso da doença (AACPD), tanto para incidência como para severidade, e AACPD para incidência de mancha-de-dendrofoma foram menores quando se utilizou quitosana nas concentrações de 1,0% e 2,0% e ASM, não diferindo do tratamento com fungicidas (Tabela 1). A testemunha apresentou os maiores valores de AACPD, diferindo de todos os tratamentos. Essa ação dos indutores sobre as doenças provavelmente esteja relacionado à produção de compostos metabólicos relacionados à patogenicidade, como enzimas quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanase.

**Tabela 1.** Massa média, produtividade (g.) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da incidência de dendrofoma e de micosferela e severidade de micosferela de plantas de morangueiro cultivar Aroma não tratadas e em plantas tratadas com elicitores e fungicidas. Dois Vizinhos, PR, 2004.

Tratamentos	Massa média (g.)	Produtividade (g/ planta)	AACPD		
			Incidência Dendrofoma	Incidência Micosferela	Severidade de Micosferela
Testemunha	11,85 a*	554,04a	1032,6a	5095,9a	273,6a
Fungicidas	11,66 a	571,29a	623,1c	1373,4c	33,0c
ASM	11,87 a	550,03a	659,5bc	2294,0bc	86,3bc
Quitosana 0,5%	11,46 a	563,69a	856,0b	2633,2b	93,5b
Quitosana 1,0%	11,78 a	556,77a	674,0bc	2037,8bc	62,0bc
Quitosana 2,0%	11,69 a	598,12a	749,6bc	2260,8bc	63,5bc
C.V.	9,43	12,45	19,52	16,80	36,40

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \geq 0,05$ ).

Na avaliação de antracnose no pecíolo foliar, flor e fruto, não se observou diferenças estatísticas entre os tratamentos, sendo que a incidência variou de 3,17% a 7,37% para o pecíolo, de 5,7% a 6,8% para a flor e de 3,0 a 5,1% para os frutos.

Para variáveis bioquímicas o uso dos indutores quitosana (1%) e ASM interferiu nos parâmetros bioquímicos foliares das macromoléculas de aminoácidos, açúcares totais e redutores, mantendo os valores das médias de algumas avaliações superiores à testemunha (Tabela 2). A elevação dos teores de aminoácidos, açúcares redutores (glicose, manose e frutose) e açúcares totais (redutores e sacarose) pode estar relacionada ao aumento da atividade metabólica das plantas induzidas, pois os ciclos metabólicos estão integrados e o processo de indução de compostos do metabolismo secundário pode afetar o metabolismo primário, como a glicólise, pentose fosfato ou ciclo do ácido cítrico (TAIZ & ZAIGER, 2004).

KUHN (2007), trabalhando com o indutor de resistência ASM em feijoeiro obteve alteração nos níveis de proteínas totais e açúcares redutores, sugerindo que a elevação dos níveis de proteínas esteja relacionado à síntese de proteínas

relacionadas à patogênese, além de outras proteínas de defesa vegetal. Segundo o autor, a elevação dos níveis de açúcares redutores pode ser evidência da inversão no processo de armazenamento, visto que, para a planta manter um nível respiratório mais elevado há necessidade de açúcares simples disponíveis.

Os indutores quitosana e ASM induziram a produção de compostos fenólicos o qual pode ser observado nas avaliações de fenóis totais (Tabela 2), sendo que o acúmulo ocorreu nas primeiras 72 horas após a aplicação dos indutores. Entre os compostos fenólicos com ação antimicrobiana destaca-se a lignina e os flavonóides; dentre os flavonóides os isoflavonoides tem se tornado conhecidos pela sua ação como fitoalexinas (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A associação dos fungicidas utilizados mostrou-se eficiente no controle de mancha-de-micosferela e dendrophoma (Tabela 1), no entanto, nas condições que foi conduzido o experimento a incidência e severidade de doenças foi de modo geral baixa, não refletindo em perda de produtividade por redução da área fotossintética. Os dados de produtividade ficaram dentro da normalidade para as condições de cultivo na região, sendo a média dos tratamentos de 565g por planta.

Nesse sentido, novos estudos que contemplem diferentes condições de cultivo, bem como, exposição a uma maior pressão de patógenos sob condições favoráveis ao

estabelecimento das doenças, poderão complementar os resultados obtidos nesse trabalho.

**Tabela 2-** Concentração de proteínas (mg/g tecido) aminoácidos (mg/g tecido), açúcares totais e redutores (mg/g tecido) e fenóis totais (mg./g tecido) presentes nos extratos foliares de plantas de morangueiro da cultivar Aroma não tratadas e em plantas tratadas com elicitores e fungicidas, após 24, 72, 120 e 168 horas da aplicação dos tratamentos. Dois Vizinhos, PR, 2004.

Tratamentos	Avaliações Bioquímicas				
	24 horas	72 horas	120 horas	168 horas	Média
<b>Proteínas totais (mg/g tecido)</b>					
Testemunha	66,9 a*	69,8 a	76,3 a	72,2 a	71,3a
Fungicidas	72,3 a	74,7 a	79,4 a	71,7 a	74,5a
ASM	70,4 a	83,3 a	77,6 a	73,9 a	76,3a
Quitosana 1,0%	68,8 a	77,3 a	75,7 a	72,0 a	73,4a
C.V.	7,6	9,2	3,4	7,5	6,9
<b>Aminoácidos (mg/g tecido)</b>					
Testemunha	0,155 b	0,178 c	0,180 a	0,187 a	0,175b
Fungicidas	0,146 b	0,211 ab	0,205 a	0,211 a	0,193a
ASM	0,146 b	0,245 a	0,196 a	0,178 a	0,191a
Quitosana 1,0%	0,180 a	0,220 ab	0,213 a	0,195 a	0,202a
C.V.	14,76	10,94	28,97	18,04	18,63
<b>Açúcares totais (mg/g tecido)</b>					
Testemunha	1,67 b	3,67 c	9,58b	27,61 a	10,63b
Fungicidas	4,57 ab	4,17 bc	16,69 ab	26,91a	13,08ab
ASM	5,07 a	10,98 b	13,29ab	24,70 a	13,51ab
Quitosana 1,0%	5,78 a	13,89 ab	19,20 a	32,62 a	17,87a
C.V.	36,48	34,0	28,08	23,93	27,26
<b>Açúcares redutores (mg/g tecido)</b>					
Testemunha	0,024 a	0,034 c	0,047 a	0,081 a	0,046b
Fungicidas	0,031 a	0,042 b	0,052 a	0,094 a	0,054a
ASM	0,039 a	0,049 a	0,055 a	0,088 a	0,057a
Quitosana 1,0%	0,033 a	0,048 a	0,051 a	0,097 a	0,057a
C.V.	22,26	6,29	15,32	11,96	13,17
<b>Fenóis totais (mg/g tecido)</b>					
Testemunha	3,0 b	3,3 b	3,2 a	2,7 a	3,05b
Fungicidas	3,4 ab	4,4 a	3,7 a	2,8 a	3,57a
ASM	3,6 a	4,5 a	3,3 a	2,9 a	3,57a
Quitosana 1,0%	3,5 a	4,4 a	3,3 a	2,8 a	3,50a
C.V.	6,45	7,59	10,75	13,74	10,16

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \geq 0,05$ ).

Curiosamente, o tratamento com fungicidas induziu à formação de compostos metabólicos como acúmulo de fenóis totais, comparável ao tratamento com os indutores

(Tabela 2). Isso possivelmente se deve ao fato dos fungicidas empregados possuírem além de atividade antifúngica, algum efeito de indução de resistência. Esse efeito indutor de

fungicidas já foi observado em trabalho desenvolvido por ANTONIAZZI (2005), o qual obteve alterações em  $\beta$ -1,3-glucanase com o uso dos fungicidas epoxiconazole + pyraclostrobin no cultivo da cevada.

## CONCLUSÃO

Quitosana nas concentrações de 1% e 2,0% e ASM atuam positivamente sobre a redução da mancha-de-micosferela e mancha-de-dendrophoma em morangueiro, com eficiência comparável ao tratamento com fungicidas;

Os indutores quitosana e ASM interferem nas características bioquímicas foliares com alteração no metabolismo primário.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONIAZZI, N. **Desenvolvimento de cevada em resposta ao uso de elicitores para controle de *Bipolaris sorokiniana***. Curitiba, 2005. 63p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography, **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.17, p. 278-293, 1966.

BRADFORD, M.M.; "A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p. 248-254, 1976.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Eds.)

**Métodos alternativos de controle fitossanitário**, EMBRAPA, 2003, p. 13-51.

COSTA, H.; ZAMBONI, L.; VENTURA, J.A. Manejo Integrado das Doenças do Morangueiro. In: Zamboni L. (Ed.) **Produção Integrada Fruteiras Tropicais**. Viçosa: UFV, 2003, p. 131-164.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, New York, v.21, p.703-714, 2004.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p.350-356, 1956.

DURRANT, W.E.; DONG X. Systemic Acquired Resistance, **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185-209, 2004.

EL GHAOUTH, A., ARUAL, J.; GRENIER, J. et al. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, Palo Alto, v.82, p.398-402, 1992.

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

INBAR, M.; DOOSTDAR, H.; SONODA, R.M. et al. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.24, p.135-149, 1998.

JENNINGS, A.C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of

plant tissues. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.118, p.396-398, 1991.

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**. Piracicaba, 2007. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura. "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

MAZARO, S.M. **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. Curitiba, 2007, 87p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná.

MATHUR, N.K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals, **Journal of Chemical Education**, New York, v.67, p.938-942, 1990.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic and reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426-428, 1959.

REDDY, M.V.B.; BELKACEMI, K; CORCUFF et al. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit, **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.20, p.39-51, 2000.

SILVA, R.F. **Indução de resistência em plantas de berinjela e tomate por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra bactérias causadoras de murcha (*Ralstonia solanacearum*) e cancro (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)**. Piracicaba, 2007, 109p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura. "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

TAIZ, L.; ZEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução: SANTAREM et al., 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TANAKA M.A.S; PASSOS F.A. Caracterização patogênica de *Colletotrichum acutatum* e *C. fragariae* associados à antracnose do morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.484-488, 2002.

TERRY, L.A. & JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v.32, p.1-13, 2004.