

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS PRÓ-REITORIA DE PESQUISA,
PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

SEVERIDADE DA MANCHA BACTERIANA DO
TOMATEIRO SOB AÇÃO DE ACIBENZOLAR-S-METIL E
PACLOBUTRAZOL E SUAS INTERAÇÕES FISIOLÓGICAS

Autor: Rhayf Eduardo Rodrigues
Orientadora: Dra. Alice Maria Quezado Duval
Coorientadora: Dra. Clarice Aparecida Megguer

MORRINHOS-GO
2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS PRÓ-REITORIA DE PESQUISA,
PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

SEVERIDADE DA MANCHA BACTERIANA DO
TOMATEIRO SOB AÇÃO DE ACIBENZOLAR-S-METIL E
PACLOBUTRAZOL E SUAS INTERAÇÕES FISIOLÓGICAS

Autor: Rhayf Eduardo Rodrigues
Orientadora: Dra. Alice Maria Quezado Duval
Coorientadora: Dra. Clarice Aparecida Megguer

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, ao Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos – Área de Concentração: Olericultura.

MORRINHOS-GO
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

R696s Rodrigues, Rhayf Eduardo.
Severidade da mancha bacteriana do tomateiro sob ação de
Acibenzolar-S-Metil e Paclobutrazol e suas interações fisiológicas. / Rhayf
Eduardo Rodrigues. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2019.
87 f. : il. color.

Orientadora: Dra. Alice Maria Quezado Duval.
Coorientadora: Dra. Clarice Aparecida Megguer.
Dissertação (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos,
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2019.

1. Solanum lycopersicum L. 2. Pragas - Controle. 3. ASM. 4.Pbz . I.
Duval, Alice Maria Quezado. II. Megguer, Clarice Aparecida. III. Instituto
Federal Goiano. IV. Título.

CDU 635.64

Fonte: Elaborado pela Bibliotecária-documentalista Morgana Guimarães, CRB1/2837

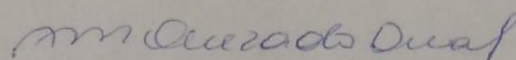
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

SEVERIDADE DA MANCHA BACTERIANA DO
TOMATEIRO SOB AÇÃO DE ACIBENZOLAR-S-METIL E
PACLOBUTRAZOL E SUAS INTERAÇÕES FISIOLÓGICAS.

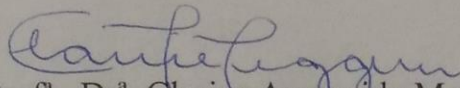
Autor: Rhayf Eduardo Rodrigues
Orientadora: Alice Maria Quezado Duval

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Manejo
Fitossanitário em Olerícolas.

APROVADO em 28 de agosto de 2019.



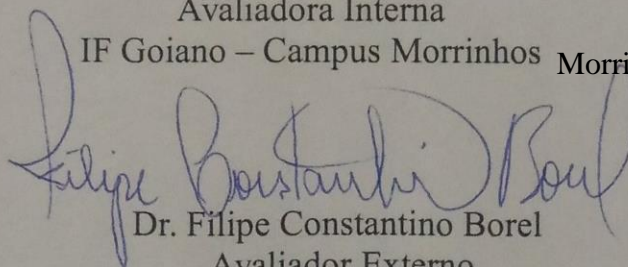
Dr^a. Alice Maria Quezado Duval
Presidente da Banca
Embrapa Hortaliças



Prof^a. Dr^a. Clarice Aparecida Megguer
Avaliadora Interna

IF Goiano – Campus Morrinhos Morrinhos

28 08 2019



Dr. Filipe Constantino Borel
Avaliador Externo
Pós-Doutorando – Funape/Bayer

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meus pais, João Batista Eduardo da Silva e Valéria Aparecida Alves Eduardo por todo o incentivo e apoio em ingressar em um curso de Mestrado, e por toda a paciência e compreensão durante.

Agradeço minha orientadora, Dra. Alice Maria Quezado Duval pela oportunidade de trabalharmos juntos, pelos conhecimentos e ensinamentos passados, pela paciência e pela confiança em me orientar a distância. À minha madrinha e coorientadora Dra. Clarice Aparecida Megguer por me acompanhar desde a graduação e durante este tempo ter me ensinado tanto, por toda a confiança, e acima de tudo pela amizade. Ao meu coorientador Dr. Nadson de Carvalho Pontes por ter participado da minha orientação, por me receber em seu laboratório, pela confiança atribuída e ter me fornecido todos os recursos necessários para execução dos ensaios. Agradeço também por toda a ajuda em diferentes momentos desde a graduação.

Às velhas amizades que se estreitaram durante o Mestrado, e tornaram possível a execução de cada etapa, além de proporcionarem excelentes momentos: Ana Carolina de Lima Ribeiro Murilo Alberto dos Santos, Wallace Verissimo Nascimento, Ygor Antônio Oliveira, Brendhon Serafim, e João Pedro Elias Gondim. Sou muito grato também aos novos amigos que ajudaram em diferentes etapas: Marcelo Antônio Marques Junior, Dr. Lucas Luís Faustino, Dra. Nádia Fernandes Moreira, Dr. Filipe Constantino Borel e Dra. Jaqueline Kiyomi Yamada. São amizades que pretendo levar para a vida.

Agradeço ao professor Dr. Lucas Anjos de Souza por junto da Dra. Clarice ter me auxiliado nos primeiros passos com o LI-6800. Agradeço imensamente o Dr. Henrique Hespanhol Tozzi por ter sido sempre tão solícito em diferentes ocasiões. Me desculpo por ter importunado tanto, mas agradeço a paciência e disponibilidade em sempre ajudar e ensinar tanto, principalmente sobre o LI-6800. Estendo este

agradecimento ao Sr. Marton Spitz pelos momentos que conversamos e também a todos da Além-Mar Comercial.

Ao Professor Dr. Carlos Alberto Martinez y Huaman por ter me recebido tão bem em duas ocasiões na USP-Ribeirão Preto, e em ambas as ocasiões ter sido tão prestativo e ensinado tanto. Estendo este agradecimento também à sua esposa.

Ao Juarez Antônio e Diogo Cezarotti Padilha por me ajudarem na manutenção dos ensaios em campo. Agradeço também ao viveiro Mudas Branbilla em especial ao João Marcos e Claudio Rizzini por terem fornecido todas as mudas de tomateiro e todas as informações necessárias. Agradeço também a Syngenta na pessoa do Renato Garcia por de bom grado fornecer os produtos comerciais necessários para execução dos ensaios, e a BASF por fornecerem as caixas para colheita e os defensivos necessários para as manutenções.

Agradeço ao pessoal da mecanização do IF Goiano – Campus Morrinhos, principalmente o Robinho o Mirinho por sempre terem se desdobrado para me atender nas atividades relacionadas ao mestrado e em atividades paralelas. Ao Me. Enio Basilio e ao Me. Danilo de Oliveira por montarem o sistema de irrigação de todos os campos experimentais e por sempre ajudarem de bom grado. Agradeço também a todos os que estavam presentes durante o plantio dos ensaios, infelizmente não lembro o nome de todos, mas sou muito grato a vocês.

Agradeço também a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo apoio financeiro durante todas as etapas de desenvolvimento do projeto mesmo que diante de um cenário pouco favorável. E por fim, em tempos tão sombrios para a educação e desenvolvimento científico em que vivemos atualmente no Brasil, onde tantos tem escolhido abraçar a ignorância, não posso deixar de agradecer a cada um que compreende a importância da pesquisa desenvolvida nas universidades, faculdades e institutos federais, e sobretudo, compreendem a importância que estas instituições representam para o desenvolvimento do país.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Rhayf Eduardo Rodrigues, filho de João Batista Eduardo da Silva e Valéria Aparecida Alves Eduardo, nascido em Morrinhos, Goiás, em 29 de julho de 1994. Em 2016 obteve o título de Bacharel em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos. Em 2017 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Olericultura pelo mesmo instituto.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Perspectivas e desafios futuros para a produção de alimentos.....	2
2.2 Relevância mundial da tomaticultura.....	3
2.3 Tomate para processamento industrial.....	4
2.4 Mancha bacteriana	4
2.5 Uso de indutores de resistência na agricultura e o Acibenzolar-S-Metil	6
2.6 Paclobutrazol e o uso de fitoreguladores na agricultura	7
2.7 Referências bibliográficas	8
3. CAPÍTULO I	14
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
3.1 Introdução	16
3.2 Material e Métodos	18
3.2.1 Condições experimentais e material vegetal	18
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	18
3.2.3 Obtenção do inóculo e inoculação	19
3.2.4 Avaliação das trocas gasosas das folhas	19

3.2.5 Avaliação da fluorescência da clorofila a	20
3.2.6 Avaliação das características de crescimento e desenvolvimento	22
3.2.7 Determinação da severidade da doença	23
3.2.7 Análise estatística.....	23
3.3 Resultados.....	23
3.3.1 Trocas gasosas das folhas.....	23
3.3.2 Fluorescência da clorofila a	29
3.3.3 Crescimento e desenvolvimento e acúmulo de biomassa	33
3.3.4 Severidade de mancha bacteriana	38
3.4 Discussão	39
3.4.1 Alterações nas trocas gasosas estão relacionadas com a inibição da síntese de giberelinas e com a redução da severidade da doença	39
3.4.2 A redução na fotossíntese pode estar relacionada com a redução na taxa de exportação de triose fosfato (TPU)	41
3.4.3 Como o aumento da ETR contribuiu para o aumento da fotossíntese e como a redução na fotossíntese pode ter causado a redução da ETR.....	42
3.4.4 O desacoplamento entre o aumento da assimilação de carbono e o crescimento e acúmulo de biomassa das plantas.....	43
3.4.5 Interação entre o Pbz e o ASM na redução da severidade da mancha bacteriana	44
3.5 Conclusão.....	45
3.6 Referências Bibliográficas.	45
4. CAPÍTULO II.....	51
RESUMO.....	51
ABSTRACT.....	52
4.1 Introdução	53
4.2 Material e Métodos	55
4.2.1 Condições experimentais e material vegetal	55
4.2.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	55
4.2.3 Obtenção do inóculo e inoculação	55
4.2.4 Avaliação das trocas gasosas das folhas	56
4.2.5 Avaliação da fluorescência da clorofila a	56
4.2.6 Determinação da severidade da doença	57
4.2.7 Avaliação da produtividade e da qualidade pós-colheita.....	58
4.2.8 Análise estatística.....	59
4.3 Resultados.....	59

4.3.1 Trocas gasosas das folhas.....	59
4.3.2 Fluorescência da clorofila a	62
4.3.3 Severidade da doença.....	64
4.3.4 Produtividade e Qualidade pós-colheita dos frutos.....	65
4.4 Discussão	69
4.4.1 As alterações nas trocas gasosas estão relacionadas com mudanças morfológicas	69
4.4.2 O aumento da ETR é explicado pelo aumento do queeching fotoquímico.....	70
4.4.3 A redução na severidade pode ser explicada pelo aumento da eficiência do sistema antioxidante das plantas	71
4.4.4 Alterações na qualidade pós-colheita dos frutos é um alvo interessante para estudos futuros	71
4.5 Conclusão.....	72
4.6 Referências Bibliográficas	73
CONCLUSÃO GERAL.....	77

RESUMO

RODRIGUES, RHAYF EDUARDO. Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, setembro de 2019. **Severidade da mancha bacteriana do tomateiro sob ação de Acibenzolar-S-Metil e Paclobutrazol e suas interações fisiológicas.** Orientadora: Dra. Alice Maria Quezado Duval. Coorientadora: Dra: Clarice Aparecida Megguer.

O tomate é a segunda hortaliça mais cultivada do mundo e seu volume de produção e versatilidade de consumo fazem dele uma cultura importante para a segurança alimentar mundial. O tomate é severamente afetado pela mancha bacteriana. Uma opção no manejo da doença são os indutores de resistência, uma possível interação sinérgica entre ASM e Paclobutrazol (Pbz). O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do Pbz e ASM nas trocas gasosas, na fluorescência da clorofila a, na severidade da mancha bacteriana e no crescimento de plantas de tomate. O Pbz alterou as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila a, reduzindo a severidade da mancha bacteriana, mas efeitos do Pbz na produção e na qualidade de tomate para processamento industrial ainda precisam ser mais bem investigados.

PALAVRAS-CHAVE: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, qualidade pós-colheita, resistência sistêmica adquirida, espécies reativas de oxigênio

ABSTRACT

RODRIGUES, RHAYF EDUARDO. Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, setembro de 2019. **Severity of tomato bacterial spot under Acibenzolar-S-Methyl action and Paclobutrazol and their physiological interactions.** Advisor: Dra. Alice Maria Quezado Duval. Co-Advisor: Dra.: Clarice Aparecida Megguer.

Tomato is the second most cultivated vegetable in the world and its production and consumption versatility make it an important crop for world food security. Tomato is severely affected by bacterial spot. Resistance inducers are an option in this disease management. A possible synergistic interaction between ASM and Paclobutrazol (Pbz). This study aimed to investigate the effects of Pbz and ASM on gas exchange, chlorophyll a fluorescence, bacterial spot severity and tomato plant growth. Pbz caused changes in the gas exchange and chlorophyll a fluorescence, decreasing the severity of bacterial spot, however the effects of Pbz on tomato yield and quality for industrial processing need to be further investigated.

KEYWORDS: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, postharvest quality, systemic acquired resistance, reactive oxygen species

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda hortaliça mais cultivada no mundo (FAO 2017). Sua produção, no entanto, pode ser altamente afetada pela mancha bacteriana causada por espécies do gênero *Xanthomonas*, cujo controle em campo é feito principalmente com base na aplicação de fungicidas cúpricos (Pontes *et al.*, 2016; Pontes *et al.*, 2017). Indutores de resistência, como o Acibenzolar-S-Metil (ASM), surgem como princípios ativos interessantes para o manejo de doenças por atuar contra uma ampla gama de patógenos (Santos *et al.*, 2017; Sleiman *et al.*, 2017).

No entanto, respostas de defesa desencadeadas pelo uso do ASM, por exemplo, na cultura do tomateiro para processamento industrial, podem resultar em gasto energético que, por sua vez, pode interferir no ganho produtivo, tendo em vista o controle da mancha bacteriana pelo emprego de ASM (Pontes *et al.*, 2016). Os gastos são principalmente em decorrência da perturbação no balanço entre produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio. O Paclobutrazol (Pbz) é um fitorregulador que reduz os efeitos do estresse oxidativo em plantas de tomate, aumentando a atividade do sistema antioxidante das plantas (Srivastav *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2016). Alguns estudos já sugeriram um possível sinergismo entre o ASM e o Pbz no controle de doenças em tomateiro para processamento industrial (Nascimento *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2016).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a interação entre o ASM e o Pbz no controle da mancha bacteriana causada por *X. euvesicatoria* pv. *Perforans*, o efeito nas trocas gasosas, na produtividade e qualidade físico-química do tomate para processamento industrial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Perspectivas e desafios futuros para a produção de alimentos

Desde 1960, com os avanços na mecanização, irrigação, uso de fertilizantes e defensivos, juntamente com variedades de potencial produtivo cada vez mais elevado, a produção de alimentos mundial cresceu em torno de 135%, indo de 1,84 para 3,96 toneladas por hectare (Burney, 2015; South 2019). Apesar de todo o avanço nos últimos 59 anos, previsões estimam que as atuais taxas de crescimento na produção, atualmente é em torno de 2% ao ano, são inadequadas para suprir uma futura demanda global por alimentos (Kromdijk *et al.*, 2016). Esse cenário traz para agricultura mundial o desafio de produzir alimentos de forma cada vez mais eficiente e sustentável para suprir as demandas da população (Silveira *et al.*, 2017).

Países de clima tropical como o Brasil vão enfrentar num futuro breve diversos desafios para a agricultura. Projeções indicam aumento da temperatura e redução na precipitação pluviométrica (Marengo *et al.*, 2017; Borjas-Ventura *et al.*, 2018). Grande parte dos campos de cultivo do país são irrigados via pivô central, demanda que tende a crescer com a redução da precipitação. É estimado que a temperatura aumentará mais de 2 °C até 2050, o que, aliado ao sistema de irrigação utilizado em grande parte do país, pode favorecer ainda mais a ocorrência de doenças foliares altamente destrutivas (Quezado-Duval, 2013; Brown & Caldeira, 2017). Progressos significantes foram feitos ao longo das últimas décadas em estudos sobre fotossíntese, cuja abordagem pode ajudar a aumentar a produtividade das plantas, algo que dependerá da integração entre múltiplas áreas da ciência (Nuccio *et al.*, 2017; Foyer *et al.*, 2017).

2.2 Relevância mundial da tomaticultura

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça dicotiledônea, da família das solanáceas, nativa da região andina, que se estende do norte do Chile ao Equador (Filgueira, 2008; Alvarenga, 2013). O tomate foi domesticado no México onde, posteriormente, se dispersou por vários países do mundo, chegando ao Brasil no final do século XIX, trazido por colonizadores europeus (Alvarenga, 2013; Silva-Junior *et al.*, 2015). Sua coloração avermelhada, antes atribuída à presença de toxinas, é devida à presença de licopeno. Além disso, o tomate é fonte de vitamina C, carotenoides, potássio, ácido fólico e outros antioxidantes (Jorge *et al.*, 2017).

A taxonomia do tomateiro sofreu alterações ao longo do tempo. A primeira classificação científica foi feita por Carl Von Linnaeus, que o classificou como pertencente ao gênero *Solanum*. Entretanto, a planta foi reclassificada e separada em um gênero distinto por Miller, que renomeou a espécie como *Lycopersicum esculentum* (Boiteux & Clemente, 2012; Alvarenga, 2013). Em função de estudos filogenéticos das solanáceas, que apontaram a proximidade entre o tomateiro e as espécies do gênero *Solanum*, a espécie foi novamente inserida no gênero *Solanum*, conforme determinado inicialmente por Linnaeus, sendo, por fim, classificado cientificamente como *Solanum lycopersicum* L. (Peralta & Spooner, 2006).

Hoje é uma das hortaliças mais importantes do mundo, seja pelo volume de produção ou pela sua versatilidade de consumo (Jorge *et al.*, 2017). A produção de tomate total no ano de 2016, com os dois principais segmentos indústria e mesa, foi de 162 milhões de toneladas cultivadas em 4,8 milhões de ha, obtendo média de 35 t ha⁻¹. O Brasil é o 9º maior produtor mundial de tomate no mundo, com média de 3,8 milhões de toneladas. A produção de tomate apresenta dois principais segmentos: tomate para consumo in natura, também conhecido como tomate de mesa, e tomate destinado ao processamento industrial (WPTC, 2017).

A principal diferença entre os segmentos está no hábito de crescimento da planta. O tomate destinado ao consumo in natura tem hábito de crescimento indeterminado, sendo conduzido de forma tutorada. Já os tomates destinados ao processamento industrial têm hábito de crescimento determinado, maturação mais uniforme e frutos com maiores concentrações de sólidos solúveis, o que lhe confere maior rendimento de polpa (Luz *et al.*, 2016)

2.3 Tomate para processamento industrial

A produção mundial de tomate para processamento industrial no ano de 2016 alcançou 38,1 milhões de toneladas. O maior produtor no segmento é os Estados Unidos, com 11,9 milhões de toneladas. O aumento da demanda por parte do mercado consumidor por produtos derivados de tomate promoveu um crescimento na cultura do tomate para processamento industrial no país (Melo e Fonte, 2011). O volume da produção brasileira coloca o país em 7º lugar no ranking mundial de produtores de tomate para processamento industrial. A produção anual é de, aproximadamente, 1,45 milhões de toneladas em uma área cultivada de 18 mil hectares (Colvine, 2017).

A produção nacional neste segmento se concentra no Estado de Goiás, que é favorecido por suas condições de clima e relevo ideais para seu cultivo. O Estado contribui com cerca de 70 % da produção nacional (Silva-Junior *et al.*, 2015; Camargo & Camargo, 2017). Os principais municípios produtores do estado são Cristalina, Itaberaí e Morrinhos (IBGE, 2017). O uso de híbridos de alto potencial produtivo, sem dúvida, contribui para as altas produtividades encontradas não só no Estado, mas em todo o território nacional. O híbrido Heinz 9553 é um dos mais plantados no país (Boiteux *et al.*, 2012).

O plantio de tomate em Goiás acontece principalmente em época de temperaturas elevadas e baixa precipitação pluviométrica, tornando o uso da irrigação essencial para produção (Koetz *et al.*, 2010; Marouelli *et al.*, 2012). A irrigação é feita principalmente por aspersão via pivô central. Este tipo de irrigação, aliada a temperaturas elevadas (acima de 28 °C), favorece a ocorrência e a disseminação de doenças foliares, principalmente a mancha bacteriana (Quezado-Duval *et al.*, 2013; Pontes *et al.*, 2017)

2.4 Mancha bacteriana

Entre todas as doenças que ocorrem no tomateiro, a mancha bacteriana, causada por bactérias do gênero *Xanthomonas*, é uma das mais destrutivas, sendo, conseqüentemente, importante fator limitante da produção (Quezado-Duval *et al.*, 2013). A primeira ocorrência de que se tem registro foi em plantas de tomate na África do Sul (Jones & Stall, 1998). O agente causador da mancha bacteriana foi inicialmente identificado como *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*, entretanto estudos

mostraram que se tratava de um grupo diverso, que foi então dividido em Grupo A B, C e D., contudo, trabalhos conduzidos por Jones *et al.* (2004), utilizando de hibridização DNA-DNA, reclassificaram as espécies de *Xanthomonas*. Os isolados do Grupo A foram classificados como *X. euvesicatoria*; os isolados do Grupo B, como *X. vesicatoria*; os isolados do Grupo C, como *X. perforans*; e os isolados do Grupo D, como *X. gardneri*. Todas as espécies de *Xanthomonas* ocorrem no Brasil, mas, segundo levantamentos mais recentes, *X. perforans* tem prevalecido nas lavouras para processamento industrial na região central do país (Quezado-Duval *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2016). Estudos recentes reclassificaram *X. gardneri* em *X. cynarae* pv. *gardneri* (Timilsina *et al.*, 2018), e *X. perforans* foi considerada como pertencente à espécie *X. euvesicatoria*, com base num sequenciamento completo de genomas (Barak *et al.*, 2016).

A mancha bacteriana é uma doença de difícil controle em razão da rápida disseminação do patógeno, que penetra na planta principalmente via estômatos ou ferimentos (Lopes & Quezado-Duval, 2005; Nascimento *et al.*, 2013). A bactéria sobrevive em restos culturais, sementes e em plantas daninhas, sendo difícil a eliminação do inóculo inicial (Quezado-Duval & Lopes, 2010; Pontes *et al.*, 2017). Os danos associados à mancha bacteriana do tomateiro se dão pela destruição da área foliar, da base ao ápice, que resulta na redução da capacidade fotossintética da planta, reduzindo a produtividade, havendo ainda queda de flores e frutos em formação nas plantas (Lopes & Quezado-Duval, 2005; Nascimento *et al.*, 2013). Ocorre também formação de espécies reativas de oxigênio nos cloroplastos e nos peroxissomos em razão do estresse causado pela associação planta-patógeno (Sofa *et al.*, 2015; Landi *et al.*, 2017).

Em cultivos para processamento industrial, a desfolha pode ainda expor os frutos aos raios solares, causando-lhes danos por escaldadura. Este problema afeta diretamente as indústrias de processamento, pois a qualidade do produto final depende da qualidade da matéria-prima (Lopes & Quezado-Duval, 2005; Schwarz *et al.*, 2013). Nos frutos, a bactéria causa manchas similares a verrugas no início, de colocação esbranquiçada, que progridem para lesões com os centros escurecidos (Quezado-Duval & Lopes, 2010). O controle da mancha bacteriana se baseia tradicionalmente no uso de produtos à base de cobre, sendo motivo de preocupação alguns relatos da ocorrência de isolados

insensíveis a esse princípio ativo em testes *in vitro* (Quezado-Duval *et al.*, 2003; Nascimento *et al.*, 2013).

2.5 Uso de indutores de resistência na agricultura e o Acibenzolar-S-Metil

As plantas têm mecanismos de defesa basais contra patógenos e também mecanismos que podem ser ativados, conferindo resistência sistêmica às plantas. (Shine *et al.*, 2019). Esses mecanismos incluem a resistência sistêmica adquirida (SAR), um estado fisiológico induzível que aumenta a imunidade contra um amplo espectro de fitopatógenos (van Loon, 2016; Wang *et al.*, 2018). Essa indução envolve a geração de sinalizadores que são translocados pela planta e a protegem contra novas infecções (Shine *et al.*, 2019). A biossíntese de ácido salicílico (AS) é ativada após a percepção do patógeno pela planta, sendo, assim, parte central do processo de indução de resistência, (Spoel & Dong, 2012; Stahl *et al.*, 2016).

A SAR pode então ser induzida tanto por estímulos bióticos, como a infecção de patógenos, ou pela aplicação de AS ou compostos análogos (Gomes & Nascimento, 2018; Tripathi *et al.*, 2019). Explorar a indução de resistência na agricultura é desejável pelo seu potencial de tornar mais sustentável e eficiente o manejo de doenças de plantas (Shine *et al.*, 2019). A SAR não tem especificidade e envolve várias rotas e etapas, que dificultam o surgimento de populações resistentes (Tripathi *et al.*, 2019). Essa complexidade e essa multiplicidade de rotas fazem com que a SAR tenha eficiência contra um amplo número de patógenos, incluindo fungos, bactérias e nematoides, além de ser ambientalmente mais sustentável (Bektas & Eulgem, 2014; Bektas & Eulgem, 2015).

O uso da indução de resistência é também uma alternativa complementar ao melhoramento genético e ao controle químico tradicional, reduzindo as desvantagens relacionadas ao uso excessivo de agrotóxicos (Gomes & Nascimento, 2018). A SAR é ativada em mais de 30 famílias de plantas superiores, tanto dicotiledôneas quanto monocotiledôneas (Métraux, 2002; Bektas & Eulgem, 2015). Diferentes compostos que induzem respostas de defesa em plantas já foram descritos na literatura, sendo o Acibenzolar-S-Metil (ASM) o mais estudado (Tripathi *et al.*, 2019). O ASM foi inicialmente comercializado para controle de oídio em trigo e em cevada e, posteriormente, descoberto seu efeito no controle de uma ampla variedade de fitopatógenos (Tripathi *et al.*, 2019).

O ASM é comercialmente vendido como ACTIGARD nos Estados Unidos e como BION no Brasil e Europa. O ASM é um composto análogo do ácido salicílico que, quando aplicado, ativa processos bioquímicos e fisiológicos, induzindo a SAR (Debona *et al.*, 2009; Sleiman *et al.*, 2017). A indução de resistência pelo AS envolve uma cascata de sinalização promovida pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Baxter *et al.*, 2014; Veloso *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). A principal EROS relacionada ao processo de indução promovido pelo ASM é o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Lin & Ishii, 2009). Um nível não tóxico de EROS deve ser mantido para que não cause danos às membranas e isso depende de um delicado balanço entre a produção de EROS e os processos metabólicos para sua eliminação (Mittler *et al.*, 2004). Para que esse equilíbrio seja mantido, é necessário um gasto metabólico para as plantas (Walters & Fountaine, 2009).

O processo de indução de resistência está, no entanto, associado a perturbações do processo fotossintético e há relatos de redução na produtividade mesmo com redução na severidade da doença (Pontes *et al.*, 2016; Shine *et al.*, 2019). Apesar do efeito negativo, o uso da SAR ainda é promissor, além de promover vantagens adaptativas em condições de estresse, principalmente em relação ao ataque de patógenos (Traw *et al.*, 2007; Bernsdorff *et al.*, 2016). O estudo de combinações que possam melhorar a eficiência da SAR e até mesmo compensar seus possíveis efeitos negativos é alvo de estudos de grande interesse.

2.6 Paclobutrazol e o uso de fitoreguladores na agricultura

A manipulação de características fisiológicas das plantas por meio do uso de fitoreguladores tem melhorado a produtividade de algumas culturas (Upreti *et al.*, 2013). Uma das primeiras reações de defesa da planta durante a interação planta-patógeno é um aumento massivo da produção de EROS nos tecidos foliares (Torres, 2010; Zipfel, 2014; de Freitas & Stadnik, 2015). A aplicação de AS ou de compostos análogos como o ASM também leva à produção de EROS, o que resulta em uma cascata de sinalização e ativa a SAR em plantas (Baxter *et al.*, 2014; Veloso *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). No entanto, para que essa produção de EROS não cause danos à planta, é necessário que haja em paralelo atividade de enzimas do sistema de antioxidante das plantas (Torres; 2010; Sharma *et al.*, 2012).

Faz-se necessário então que o sistema antioxidante das plantas atue de maneira eficiente para manter níveis não tóxicos de EROS, o que resulta em um gasto de energia pela planta (Mittler *et al.*, 2004; Walters & Fountaine, 2009). A eliminação das EROS depende da presença de enzimas que catalisem a reação, como a glutatona peroxidase (GPX), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), sendo a última dependente do ciclo ascorbato-glutationa para regenerar o ascorbato (ASC) e a glutatona (GSH) (Sofo *et al.*, 2015; Landi *et al.*, 2017). O ciclo GSH-ASC catalisa a remoção do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), principal EROS produzido pelas plantas em condições de estresses e relacionada a SAR promovida pelo ASM, prevenindo danos que causem inibição do metabolismo central das plantas, incluindo o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) (Lin & Ishii, 2009; Foyer & Noctor, 2013; Pal *et al.*, 2016).

O Paclobutrazol (Pbz) é um regulador de crescimento do grupo dos triazóis que inibe a biossíntese de giberelina por bloquear as reações de oxidação na passagem de ent-caureno para ácido ent-caurenoico (Upreti *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2016). O Pbz causa também distúrbios da síntese de ergosteróis, afeta a ecdise de insetos e aumenta a taxa fotossintética em plantas de tomate (Pal *et al.*, 2016). Seu uso aumenta a eficiência do sistema antioxidante das plantas, aumentando a atividade do ciclo ASC-GSH, reduzindo então o estresse oxidativo das plantas (Pal *et al.*, 2016). O Pbz aumenta a taxa fotossintética em plantas de tomate e a atividade do ciclo TCA. Resultados de pesquisa mostram um possível sinergismo entre o ASM e o Pbz no controle de doenças bacterianas foliares em tomateiro (Nascimento *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2012).

2.7 Referências bibliográficas

A.R. Nascimento, P.M. Fernandes, L.C. Borges, A.W. Moita, A.M. Quezado-Duval, Field chemical control of bacterial spot on tomato for industrial processing, *Hortic. Bras.* 31 (2013) 15–24. doi:10.1590/S0102-05362013000100003.

A. Koltun, L. Erpen-Dalla Corte, L.M. Mertz-Henning, L.S.A. Gonçalves. Genetic improvement of horticultural crops mediated by CRISPR/Cas: a new horizon of possibilities. *Horticultura Brasileira* 36 (2018) 290-298. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620180302>.

A.M. Quezado-Duval, C.A. Lopes. Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria. *Embrapa Hortaliças* 84 (2010) 01-04.

A.M. Quezado-Duval, A.K. Inoue-Nagata, A. Reis; J.B. Pinheiro, C.A. Lopes, R.A. Araújo, M.R. Fontenelle, J.R. Costa, C.M.N. Guimarães, M. Rossato, W.F.Becker, H. Costa, M.A.S.V. Ferreira, S.A.L. Destéfano. Levantamento de doenças e mosca-branca

em tomateiro em regiões produtoras no Brasil. Embrapa Hortaliças Boletim de pesquisa e desenvolvimento 5-35. 2013.

A.M. Quezado-Duval, A.R. Nascimento, N.C. Pontes, A.W. Moita, A. Assunção, A. Golynski, A.K. Inoue-Nagata, R.T. Oliveira, Y.O. Castro, B.J. Melo, Desempenho de híbridos de tomate para processamento industrial em pressão de begomovirose e de mancha-bacteriana, *Hortic. Bras.* 32 (2014) 446–452. doi:10.1590/S0102-053620140000400012.

A.R. Silva-junior, W.M. Ribeiro, A.R. Nascimento, C.B. Souza. Cultivo do tomate industrial no estado de Goiás: evolução das áreas de plantio e produção. *Conjuntura Econômica Goiana* 34 (2015) 97-109.

A. Sofo, A. Scopa, M. Nuzzaci, A. Vitti, Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 13561–13578. doi:10.3390/ijms160613561.

C.A. Lopes, A.M. Quezado-Duval. Doenças bacterianas, In: C.A. Lopes, A.C. Ávila. *Doenças do Tomateiro*. Brasília, EMBRAPA-CNPq, Brasília, 2005, pp. 62-64.

C.H. Foyer, A. V. Ruban, P.J. Nixon, Photosynthesis solutions to enhance productivity, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 372 (2017) 3–6. doi:10.1098/rstb.2016.0374.

C.H. Foyer, G. Noctor, Redox signaling in plants, *Antioxidants Redox Signal.* (2013). doi:10.1089/ars.2013.5278.

C. Zipfel, Plant pattern-recognition receptors, *Trends Immunol.* 35 (2014) 345e351.

D. Debona, G.G. Figueiró, G.D. Corte, L. Navarini, L. da S. Domingues, R.S. Balardin, Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja, *Summa Phytopathol.* (2009) 26-31.

D.R. Walters, J.M. Fountaine, Practical application of induced resistance to plant diseases: An appraisal of effectiveness under field conditions, *J. Agric. Sci.* (2009). doi:10.1017/S0021859609008806.

D. Tripathi, G. Raikhy, D. Kumar, Chemical elicitors of systemic acquired resistance—Salicylic acid and its functional analogs, *Curr. Plant Biol.* 17 (2019) 48–59. doi:10.1016/j.cpb.2019.03.002.

E. Stahl, P. Bellwon, S. Huber, K. Schlaeppi, F. Bernsdorff, A. Vallat-Michel, F. Mauch, J. Zeier, Regulatory and Functional Aspects of Indolic Metabolism in Plant Systemic Acquired Resistance, *Mol. Plant.* 9 (2016) 662–681. doi:10.1016/j.molp.2016.01.005.

F.A.R. Filgueira. *Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*, third ed., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

F. Bernsdorff, A.C. Doering, K. Gruner, S. Schuck, A. Bräutigam, J. Zeier, Pipecolic acid orchestrates plant systemic acquired resistance and defense priming via salicylic acid dependent and independent pathways, *Plant Cell.* 28 (2016). <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.15.00496>.

- G. Van Den Broeck, M. Maertens. Horticultural exports and food security in developing countries. *Global Food Security* 10 (2016) 11-20.
- I.E. Peralta, S. Knapp, D.M. Spooner, Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. *TGC Report*, 56 (2006) 6-12.
- J.B. Jones, G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall, N.W. Schaad. Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology*, 27 (2004) 755-762.
- J.B. Jones; R.E. Stall. Diversity among Xanthomonads pathogenic on pepper and tomato. *Annu.Rev. Phytopathol* 36 (1998) 41-58
- J.A. Burney, S. J. Davis, D. B. Lobell, Greenhouse gas mitigation by agricultural intensification. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107 (2010) 12052–12057. doi: 10.1073/pnas.0914216107; pmid: 20551223
- J. Kromdijk, K. Głowacka, L. Leonelli, S.T. Gabilly, M. Iwai, K.K. Niyogi, S.P. Long. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science* 354 (2016) 857-861 doi: 10.1126/science.aai8878.
- J.M.Q. Luz, C.A. Bittar, R.C. Oliverira, A.R. Nascimento, A.P.O Nogueira. Desempenho e divergência genética de genótipos de tomate para processamento industrial. *Revista Horticultura Brasileira*, 34 (2016) 483-490.
- J. Marengo, R. Torres, L. Alves. Drought in northeast Brazil-past, present, and future. *Theor Appl Climatol* 129 (2017) 1189–1200.
- J.P. Métraux, Recent breakthroughs in the study of salicylic acid biosynthesis, *Trends Plant Sci.* (2002). doi:10.1016/S1360-1385(02)02313-0.
- K.K. Upreti, Y.T.N. Reddy, S.R.S. Prasad, G. V. Bindu, H.L. Jayaram, S. Rajan, Hormonal changes in response to paclobutrazol induced early flowering in mango cv. Totapuri, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. (2013). doi:10.1016/j.scienta.2012.11.030.
- K. Schwarz, J.T.V. Resende, A.P. Preczenhak, J.T. Paula, M.V. Faria, D.M. Dias. Desempenho agrônomo e qualidade físico-química de híbridos de tomateiro em cultivo rasteiro. *Horticultura Brasileira*, 31 (2013) 410-418.
- L.C. van Loon, The intelligent behavior of plants, *Trends Plant Sci*, 21 (2016) 286-294 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.009>.
- L.S. Boiteux, F.M.V. Clemente, *Produção de tomate para processamento industrial*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2012. 344 p.
- M.A.R. Alvarenga. Origem, botânica e descrição da planta. In M.A.R. Alvarenga. *Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia*. Editora universitária de Lavras, Lavras, 2013, pp. 13-21.
- M.A. Torres, ROS in biotic interactions, *Physiol. Plantarum* 138 (2010) 414–429 <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01326.x>.
- M.B. de Freitas, M.J. Stadnik, Ulvan-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Alternaria brassicicola* requires reactive oxygen species derived from NADPH oxidase,

Physiol. Mol. Plant Pathol. 90 (2015) 49–56
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2015.03.002>.

M.B. Shine, X. Xiao, P. Kachroo, A. Kachroo, Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens, *Plant Sci.* 279 (2019) 81–86. doi:10.1016/j.plantsci.2018.01.001.

M.B. Traw, J.M. Kniskern, J. Bergelson, SAR increases fitness of *Arabidopsis thaliana* in the presence of natural bacterial pathogens, *Evolution* 61 (2007) 2444–2449.

M.F. Jorge, K.D.O. Do Nascimento, J.L. Barbosa Junior, L.D.B. Da Silva, M.I.M.J. Barbosa, Physicochemical Characteristics, Antioxidant Capacity and Phenolic Compounds of Tomatoes Fertigated With Different Nitrogen Rates, *Rev. Caatinga.* 30 (2017) 237–243. doi:10.1590/1983-21252017v30n126rc.

M. Koetz, M.G.C Churata Masca, L.C. Carneiro, V.A. Ragagnin, D.G. Sena Junior, R.R. Gomes Filho. Caracterização agrônômica e Brix em frutos de tomate industrial sob irrigação por gotejamento no sudeste de Goiás. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada* 4 (2010) 14-22.

M.L. Nuccio, L. Potter, S.M. Stieglmeyer, J. Curley, J. Cohn, P.E. Wittich, X. Tan, J. Davis, J. Ni, J. Trullinger, R. Hall, N.J. Bate, Strategies and tools to improve crop productivity by targeting photosynthesis, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 372 (2017). doi:10.1098/rstb.2016.0377.

M. Sleiman, M. Stawinoga, S. Wang, P. de Sainte-Claire, P. Goupil, C. Richard, Photochemical transformation of the plant activator Acibenzolar-S-methyl in solution, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 333 (2017) 79–86. doi:10.1016/j.jphotochem.2016.10.016.

N. de C. Pontes, A. dos R. Nascimento, A. Golynski, L.A. Maffia, J.R. de Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Intervals and number of applications of Acibenzolar-S-Methyl for the control of bacterial spot on processing tomato, *Plant Dis.* 100 (2016) 2126–2133. doi:10.1094/PDIS-11-15-1286-RE.

N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A. Golynski, A.W. Moita, L.A. Maffia, J.R. Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Volume de aplicação e eficiência do controle químico da mancha bacteriana em tomateiro industrial, *Hortic. Bras.* 35 (2017) 371–376. doi:10.1590/S0102-053620170309.

P. Sharma, A.B. Jha, R.S. Dubey, M. Pessarakli, Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *J. Bot.* (2012). doi:10.1155/2012/217037.

P.F. South, A.P. Cavanagh, H.W. Liu, D.R. Ort, Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field, *Science* (80-.). 363 (2019). doi:10.1126/science.aat9077

P.H.D. dos Santos, S.F. da Silveira, M. Vivas, B.M. Carvalho, M.G. Pereira, Alternative control to black spot disease in papaya genotypes, *Summa Phytopathol.* 43 (2017) 60–62. doi:10.1590/0100-5405/2208.

- P.T. Brown, K. Caldeira. Greater future global warming inferred from Earth's recent energy budget. *Nature* 552 (2017) 45–50.
- R. Borjas-Ventura, L.R. Alves, R. de Oliveira, C.A. Martínez, P.L. Gratão, Impacts of warming and water deficit on antioxidant responses in *Panicum maximum* Jacq. *Physiol. Plant.* 165 (2019) 413–426. doi:10.1111/ppl.12907.
- R. dos S.S. Gomes, L.C. do Nascimento, Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean, *Arq. Inst. Biol. (Sao. Paulo)*. 85 (2018) 1–7. doi:10.1590/1808-1657000022018.
- R. Mittler, S. Vanderauwera, M. Gollery, F. Van Breusegem, Reactive oxygen gene network of plants, *Trends Plant Sci.* (2004). doi:10.1016/j.tplants.2004.08.009.
- S. Colvine. Production estimate of tomatoes for processing. WPTC, 2017. Available in: <<https://www.wptc.to/releases-wptc.php>>. Acesso em: 10 may. 2017.
- S.H. Spoel, X. Dong, How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells, *Nat. Rev. Immunol.* 12 (2012) 89–100.
- S. Landi, A. De Lillo, R. Nurcato, S. Grillo, S. Esposito, In-field study on traditional Italian tomato landraces: The constitutive activation of the ROS scavenging machinery reduces effects of drought stress, *Plant Physiol. Biochem.* 118 (2017) 150–160. doi:10.1016/j.plaphy.2017.06.011.
- S. Pal, J. Zhao, A. Khan, N.S. Yadav, A. Batushansky, S. Barak, B. Rewald, A. Fait, N. Lazarovitch, S. Rachmilevitch, Paclobutrazol induces tolerance in tomato to deficit irrigation through diversified effects on plant morphology, physiology and metabolism, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–13. doi:10.1038/srep39321.
- S.P. Long, A. Marshall-Colon, X.G. Zhu, Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential, *Cell.* 161 (2015) 56–66. doi:10.1016/j.cell.2015.03.019.
- T.C. Lin, H. Ishii, Accumulation of H₂O₂ in xylem fluids of cucumber stems during ASM-induced systemic acquired resistance (SAR) involves increased LOX activity and transient accumulation of shikimic acid, *Eur. J. Plant Pathol.* (2009). doi:10.1007/s10658-009-9464-9.
- V.C.P. SILVEIRA, J.A. GONZALES, E.L. FONSECA. Land use changes after the period commodities rising price in the Rio Grande do Sul State, Brazil. *Ciência Rural* (2017) 1-7.
- W.A. Marouelli, H.R. Silva, W.L.C. Silva. Irrigação do tomateiro para processamento. Circular Técnica 102 ed., Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento/Embrapa. 2012.
- W.P. Camargo, F.P. Camargo. Evolução das cadeias produtivas de tomate indústria e para mesa no Brasil, 1990-2016. *Informações Econômicas*, 47 (2017) 50-59.
- X. dong WANG, W. shuai BI, J. GAO, X. mei YU, H. yan WANG, D. qun LIU, Systemic acquired resistance, NPR1, and pathogenesis-related genes in wheat and barley, *J. Integr. Agric.* 17 (2018) 2468–2477. doi:10.1016/S2095-3119(17)61852-5.

X.G. Zhu, S.P. Long, D.R. Ort. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61 (2010) 235–261. doi:10.1146/annurev-arplant-042809-112206.

Y. Bektas, T. Eulgem, Synthetic plant defense elicitors, *Front. Plant Sci.* 5 (2015) 1–9. doi:10.3389/fpls.2014.00804.

3. CAPÍTULO I

Severidade da mancha bacteriana do tomateiro sob ação de acibenzolar-S-metil e paclobutrazol e suas interações fisiológicas

(Normas de acordo com a revista *Physiological and Molecular Plant Pathology*)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da aplicação em conjunto e isoladamente de Pbz e ASM sobre as características fisiológicas e na severidade da mancha bacteriana em tomateiro. Foram estabelecidas quatro doses de Pbz, mais o controle, com e sem ASM. As plantas foram inoculadas e avaliadas quanto às trocas gasosas e fluorescência da clorofila com um IRGA LI-6800 e quanto ao crescimento, acúmulo de biomassa e severidade da mancha bacteriana. O Pbz alterou as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*, aumentando a taxa fotossintética e reduzindo a severidade da mancha bacteriana. Doses elevadas podem causar efeito inverso em todas as variáveis analisadas.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, resistência sistêmica adquirida, trocas gasosas, estresse biótico

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of the combined and isolated application of Pbz and ASM on physiological characteristics and the severity of tomato bacterial spot. Four doses of Pbz with and without ASM and control were established. Plants were inoculated and evaluated for gas exchange and chlorophyll fluorescence with an IRGA LI-6800, as well as growth, biomass accumulation, and bacterial spot severity. Pbz caused changes gas exchange and chlorophyll fluorescence, increasing the photosynthetic rate and decreasing bacterial spot severity. High doses can cause opposite effect on all variables analyzed.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, systemic acquired resistance, gas exchange, chlorophyll fluorescence

3.1 Introdução

A fotossíntese é o principal processo fisiológico afetado por doenças foliares. Plantas cultivadas de alta importância econômica e alimentar, quando afetadas por doenças foliares, resultam em perdas expressivas na produção (Rodríguez-Salus *et al.*, 2016). O tomate (*Solanum lycopersicum* L.), a segunda hortaliça mais cultivada no mundo, é altamente afetada pela mancha bacteriana causada por espécies de *Xanthomonas*, a principal e mais destrutiva doença nos cultivos de tomate para processamento industrial (Quezado-Duval *et al.*, 2013).

A doença está associada a quatro espécies de *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria*, *X. perforans*, *X. vesicatoria* e *X. gardneri*, todas encontradas no Brasil, com a ocorrência de *X. perforans* prevalecendo (Jones *et al.* 2004; Quezado-Duval *et al.* 2005; Araújo *et al.*, 2016). Estudos recentes reclassificaram *X. gardneri* em *X. cynarae* pv. *gardneri* (Timilsina *et al.*, 2018) e *X. perforans* foi considerada como pertencente à espécie *X. euvesicatoria*, com base em sequenciamento completo de genomas (Barak *et al.*, 2016).

A mancha bacteriana limita a fotossíntese em plantas de tomate pela destruição direta da área foliar e pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) durante a interação planta-patógeno (de Freitas & Stadnik, 2015; Sofo *et al.*, 2015; Landi *et al.*, 2017). Não há variedades comerciais que apresentem níveis satisfatórios de resistência, e a principal e mais eficiente ferramenta para manejo da mancha bacteriana atualmente são os fungicidas cúpricos (Quezado-Duval *et al.*, 2014; Pontes *et al.*, 2017), havendo relatos de que a aplicação de fungicidas cúpricos não tem controlado de maneira eficiente a doença (Pontes *et al.*, 2017). Este fator tem levantado interesse na busca de métodos alternativos aos fungicidas cúpricos para controlar a mancha bacteriana (Rodríguez-Salus *et al.*, 2016; Huang & Vallad, 2018).

Outra opção para o manejo da mancha bacteriana do tomateiro é o uso de indutores de resistência sistêmica adquirida (SAR) (Shine *et al.*, 2019). A SAR é um estado fisiológico induzível por um estímulo específico que protege a planta e atua contra um amplo espectro de fitopatógenos (van Loon, 2016; Sleiman *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018). O ácido salicílico (AS) é o principal sinalizador da SAR. Sua biossíntese aumenta logo após a percepção do patógeno pela planta via elicitores (Spoel

& Dong, 2012; Stahl *et al.*, 2016; Shine *et al.*, 2019). A SAR é naturalmente ativada durante a interação planta-patógeno e pode também ser induzida pela aplicação de SA ou elicitores análogos (Gomes & Nascimento, 2018; Tripathi *et al.*, 2019).

Entre os compostos análogos ativadores da SAR, o Acibenzolar-S-Metil (ASM) é o mais estudado deles (Tripathi *et al.*, 2019). O ASM é um composto análogo mais eficiente e menos fitotóxico que o AS, que atua contra um amplo número de patógenos (Bektas & Eugem, 2015; Bektas & Eugem 2016; Santos *et al.*, 2017; Sleiman *et al.*, 2017). No entanto, a ativação da SAR envolve uma cascata de sinalização promovida pelo acúmulo de EROS, que pode causar estresse oxidativo (Baxter *et al.*, 2014; Veloso *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). Por essa razão, a SAR está também associada a perturbações do processo fotossintético, havendo relatos de redução na produtividade mesmo com redução na severidade da doença (Pontes *et al.*, 2016; Shine *et al.*, 2019).

Um delicado balanço entre produção e eliminação de EROS deve ser mantido para que não haja danos às membranas (Mittler *et al.*, 2004). Esse balanço depende da eficiência do sistema antioxidante das plantas para metabolizar essas EROS. Neste cenário, os fitorreguladores podem possibilitar manipulação de características fisiológicas das plantas sem alterar sua composição genética (Srivastav *et al.*, 2010; Peleg & Blumwald, 2011; Upreti *et al.*, 2013). O Paclobutrazol (Pbz) é um fitorregulador que aumenta a eficiência do sistema antioxidante das plantas, reduzindo os efeitos deletérios do estresse oxidativo (Srivastav *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2016). Além disso, o Pbz aumenta a fotossíntese líquida e a eficiência do uso da água em plantas de tomate (Pal *et al.*, 2016).

Uma possível interação sinérgica da aplicação de ASM em conjunto com Pbz já foi observada no controle da mancha bacteriana e da pinta bacteriana em plantas de tomate (Nascimento *et al.*, 2013). No entanto, os efeitos do uso de Pbz na produção de tomate para processamento industrial direcionados à fotossíntese e à severidade da mancha bacteriana são pouco explorados. Desse modo, foram investigados no presente trabalho os efeitos da aplicação em conjunto e isoladamente de Pbz e ASM sobre as trocas gasosas, na fluorescência da clorofila *a*, na severidade da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas perforans* e nas características de crescimento de plantas de tomate.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Condições experimentais e material vegetal

Foram conduzidos dois ensaios em casa de vegetação no período de 10 de abril a 8 de maio e de 15 de maio a 26 de junho de 2018, respectivamente, no Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, Morrinhos, Goiás. A cultivar empregada foi a H 9553 (Heinz Seeds), e as mudas, obtidas no viveiro Mudas Brambilla, localizado no mesmo município. Aos 30 dias após a sementeira, as mudas foram plantadas para vasos de 500 mL (uma por vaso), contendo terra e areia na proporção de 2:1. Cada parcela experimental foi composta por quatro plantas.

3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Foram estabelecidos cinco tratamentos de Pbz e dois de ASM em esquema fatorial, seguindo um delineamento de blocos ao caso com quatro repetições. Os tratamentos foram cinco doses de Pbz (Cultar®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.): 25, 50, 100 e 200 ppm mais o controle (0), com presença (AP) e ausência (AA) de ASM, totalizando 40 parcelas experimentais. O ASM (Bion®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.) foi aplicado no dia do plantio, aos 7 e 14 dias após o plantio das mudas, com concentração de 0,05 g i.a. L⁻¹, seguindo recomendação da bula. O Pbz foi aplicado sete dias após o plantio das mudas. Ambas as aplicações foram feitas com o auxílio de um pulverizador manual até o ponto de escorrimento (Figura 1).



Figura 1. Ponto de escorrimento considerado para as aplicações.

3.2.3 Obtenção do inóculo e inoculação

Aos 14 dias após o plantio das mudas, as plantas foram inoculadas por meio de pulverização com uma suspensão bacteriana em concentração de 5×10^7 u.f.c. mL⁻¹ (1:10, $A_{600\text{nm}} = 0,3$) do isolado de *Xanthomonas perforans* (EH 2012-22), proveniente da coleção de bactérias fitopatogênicas da Embrapa Hortaliças. Para o preparo do inóculo, foram utilizadas culturas bacterianas com 48 horas de incubação em meio nutriente ágar a 28°C. A suspensão bacteriana foi pulverizada por volta das 17h30, com o auxílio de um pulverizador manual (Tramontina, 78610/200) até o ponto de escorrimento (Figura 1). Após a inoculação, cada planta foi coberta com um saco plástico e mantida em condição de câmara úmida pelo período de 15 horas (Figura 2).



Figura 2. Ilustração do procedimento de câmara úmida após a inoculação

3.2.4 Avaliação das trocas gasosas das folhas

As avaliações de trocas gasosas foram feitas aos oito e aos 30 dias após o plantio das mudas, entre 08h30 e 11h30. Para as medições, foi utilizado o primeiro folíolo de folhas completamente expandidas do terço médio de plantas representativas da parcela em altura, área foliar e severidade da doença. As avaliações foram feitas por meio de um analisador gasoso no infravermelho (IRGA) de sistema aberto (LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA), equipado com uma câmara de fluorescência integrada a um fluorômetro multifase (MPF) (LI-6800-01, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA).

Durante as medições, foi utilizada uma densidade constante de fluxo de fótons de $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz actínica. A fonte de luz utilizada foi a luz do MPF. A umidade relativa dentro da câmara foi mantida em 50% e a concentração de CO₂, em $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. A temperatura do ar dentro da câmara foi monitorada com um sensor

termoelétrico localizado na parte inferior da câmara, mantida em 25 °C. As plantas foram avaliadas quanto à transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e quanto à relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a). Calculou-se também a eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) (Equação 1).

$$(1) \text{ WUE} = A/E$$

3.2.5 Avaliação da fluorescência da clorofila *a*

As medições ocorreram em duas etapas, ambas no mesmo dia das análises de trocas gasosas das folhas. Os dados foram coletados com o MPF da câmara LI-6800-01 do IRGA. A primeira etapa de medições aconteceu com as plantas adaptadas à luz, com a luz actínica ligada durante as medições de trocas gasosas. As plantas foram submetidas a um flash de luz saturante ($8.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para determinar a fluorescência máxima na luz (F_m') e os valores da fluorescência no steady-state (F_s). Com os valores de F_m' e F_s , foi determinado o rendimento quântico efetivo do fotossistema 2 (PSII), ΦPSII (Equação 2).

$$(2) \Phi\text{PSII} = F_m' - F_s / F_m'$$

Tendo como referência os dados de ΦPSII , foi calculada a taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Equação 3).

$$(3) \text{ ETR} = \Phi\text{PSII} \times Q_{\text{abs}} \times 0.5$$

em que Q_{abs} é o valor obtido pelo MPF da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos absorvidos pela planta e 0.5 é um fator de conta para a partição de energia entre o PSII e o PSI. Logo em seguida, foi emitido um pulso de luz vermelho distante (735 nm) (dark pulse) de modo a excitar preferencialmente o fotossistema 1 (PSI) e drenar os elétrons do (PSII) (Figura 3).

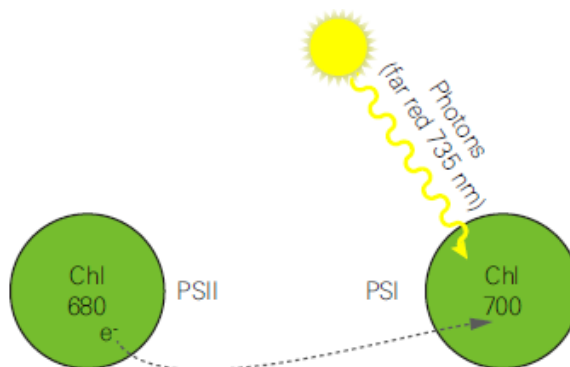


Figura 3. Pulso de luz vermelho distante (Dark Pulse) drenando elétrons do PSI para o PSII.

Desse modo, foi possível obter a fluorescência mínima no escuro de uma planta adaptada à luz (F_o'). Com os valores de F_o' , foi calculada a fluorescência variável de uma folha adaptada à luz (F_v') (Equação 4).

$$(4) F_v = F_m' - F_o'$$

Com os valores de F_m' , F_v' e F_o' , foi calculado o quenching fotoquímico (qP), um indicador da proporção de centros de reação do PSII que estão abertos (Equação 5).

$$(5) qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$$

Na segunda etapa, as plantas foram adaptadas ao escuro, de modo que todos os aceptores primários do PSII estivessem abertos (Q_A totalmente oxidada). No primeiro ensaio, as medições foram feitas à noite, uma hora após anoitecer e, no segundo ensaio, após as avaliações de trocas gasosas das folhas, às 12h00. Para aclimação ao escuro, no segundo ensaio, as plantas foram envolvidas em papel alumínio por 30 minutos e, após a retirada, colocadas rapidamente dentro da câmara do IRGA.

As plantas foram expostas a um pulso de luz de baixa intensidade ($0,5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para determinar a fluorescência mínima de uma folha adaptada ao escuro (F_o). Após estabilização da fluorescência, um pulso de luz saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2}$) foi emitido com duração de 1 segundo para determinar a fluorescência máxima de uma folha adaptada ao escuro (F_m). Com estes dados, foi calculada eficiência quantifica máxima dos centros de reação do PSII F_v/F_m (Equação 6).

$$(6) F_v/F_m = (F_m - F_o) / (F_m)$$

Com os valores de F_m , e F_m' , foi calculado o quenching não fotoquímico (NPQ) (Bilger & Björkman, 1990; Maxwell & Johnson, 2016) (Equação 7).

$$(7) NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$$

3.2.6 Avaliação das características de crescimento e desenvolvimento

Ao fim dos ensaios, a parte aérea de duas plantas representativas da parcela foi cortada na altura do colo com um estilete. A parte aérea foi imediatamente colocada em câmara úmida e mantida assim até o momento da avaliação. O material vegetal foi então levado ao laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita para as avaliações. Os vasos contendo as raízes foram colocados para secar ao sol por um período de 24 horas para facilitar a remoção completa do solo. A parte aérea foi avaliada quanto ao comprimento, diâmetro do caule, número de folhas, número de entrenós, distância de entrenós, área foliar, massa fresca da parte aérea e massa seca da parte aérea.

O comprimento da parte aérea foi considerado da base até a inserção do último ramo. Para o diâmetro do caule, foi considerada a medida da base. A distância entre entrenós foi obtida medindo o espaço interno entre cada entrenó. As avaliações foram feitas com auxílio de um paquímetro digital. O comprimento e a largura da folha para cálculo da área foliar foram obtidos por meio de uma régua graduada de 30 centímetros (Equação 8).

$$(8) AF = (CF \times LF) \times 0,59$$

em que CF é o comprimento da folha medido da inserção do ramo até o primeiro folíolo, LF é a largura da folha medida de folíolo a folíolo e 0,59 é um fator de correção.

A parte aérea foi então colocada em sacos de papel Kraft e secada em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 65 °C até a estabilização do peso. As raízes foram separadas do solo com uma peneira, lavadas em água corrente e colocadas em sacos de papel craft que foram colocados em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 65 °C até que a estabilização do peso. Após, ambos os sacos foram retirados da estufa, colocados em dessecador por 1 hora, e o material foi retirado do saco e pesado em balança de precisão

3.2.7 Determinação da severidade da doença

A eficiência dos tratamentos no controle da mancha bacteriana foi determinada segundo dados de severidade da doença, tendo como base uma escala diagramática proposta por Boff (1991), com cinco níveis de severidade (2, 4, 8, 16 e 32% de área foliar lesionada). A severidade foi determinada ao fim do ensaio, avaliando sempre o terceiro e quarto folíolos de duas plantas representativas da parcela.

3.2.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As médias das doses de Pbz foram submetidas à análise de regressão. Foi analisado também o desdobramento de cada dose de Pbz dentro de cada tratamento de ASM e de cada tratamento de ASM dentro de cada dose de Pbz. As análises foram feitas utilizando o software Sisvar v5.6 (Ferreira, 2014).

3.3 Resultados

3.3.1 Trocas gasosas das folhas

O resumo da ANOVA mostra que no ensaio 1 na primeira avaliação de trocas gasosas das folhas, feita aos oito dias após o plantio, houve efeito significativo ($P < 0,05$) da aplicação de Pbz apenas para fotossíntese; no ensaio 2, foi observada significância também para a transpiração e para a condutância estomática. Em ambos os ensaios, não foi detectada significância para o fator ASM nem para a interação entre Pbz e ASM (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 1, oito dias após o plantio, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	E	A	gs	Ci/Ca	WUE
Pbz	4	1,89 ^{NS}	28,56**	0,03 ^{NS}	0,0005 ^{NS}	0,24 ^{NS}
ASM	1	3,91 ^{NS}	11,92 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,0002 ^{NS}	0,40 ^{NS}
Pbz*ASM	4	3,41 ^{NS}	4,79 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,0004 ^{NS}	0,04 ^{NS}
Bloco	3	13,21*	23,55*	0,04 ^{NS}	0,0005 ^{NS}	0,14 ^{NS}
Resíduo	27	3,80	3,88	0,05	0,0004	0,09

CV (%)		17,99	12,20	26,03	2,44	20,22
Ensaio 2						
Pbz	4	31,23*	155,70**	0,36**	0,0095 ^{NS}	0,66 ^{NS}
ASM	1	8,18 ^{NS}	37,09 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,0038 ^{NS}	0,69 ^{NS}
Pbz*ASM	4	10,66 ^{NS}	20,34 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,0066 ^{NS}	0,66 ^{NS}
Bloco	3	3,15 ^{NS}	33,79 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,0032 ^{NS}	0,37 ^{NS}
Resíduo	27	9,02	15,11	0,07	0,0036	0,33
CV (%)		26,52	16,72	36,26	7,55	25,31

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Na primeira avaliação de ambos os ensaios, a aplicação de Pbz aumentou a fotossíntese das plantas de tomateiro. Esse aumento foi em função da dose até a concentração de 100 ppm de Pbz, com redução nos valores em doses superiores (Figura 4).

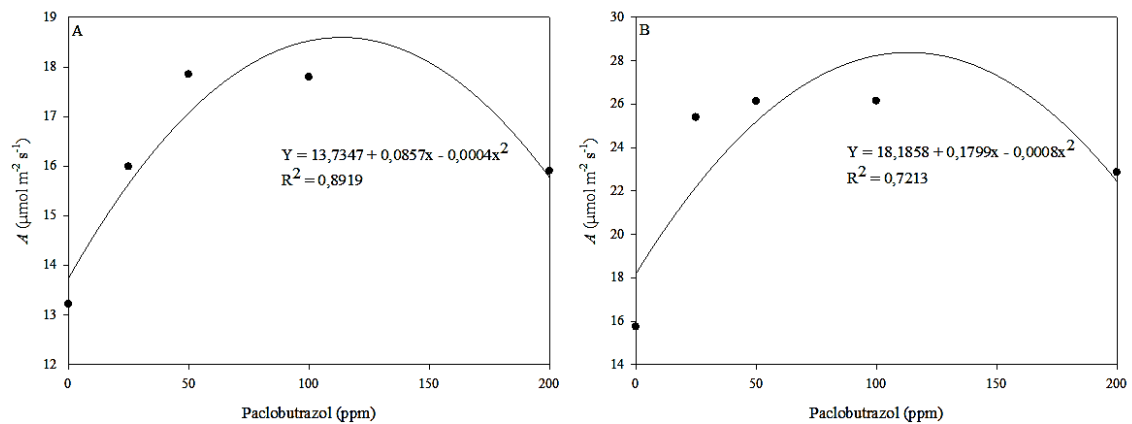


Figura 4. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na fotossíntese (A) do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B) (Avaliação 1, oito dias após o plantio).

No ensaio 2, o comportamento observado para transpiração e condutância estomática foi semelhante ao observado na fotossíntese, com aumento seguido de redução em doses acima de 100 ppm de Pbz (Figura 5).

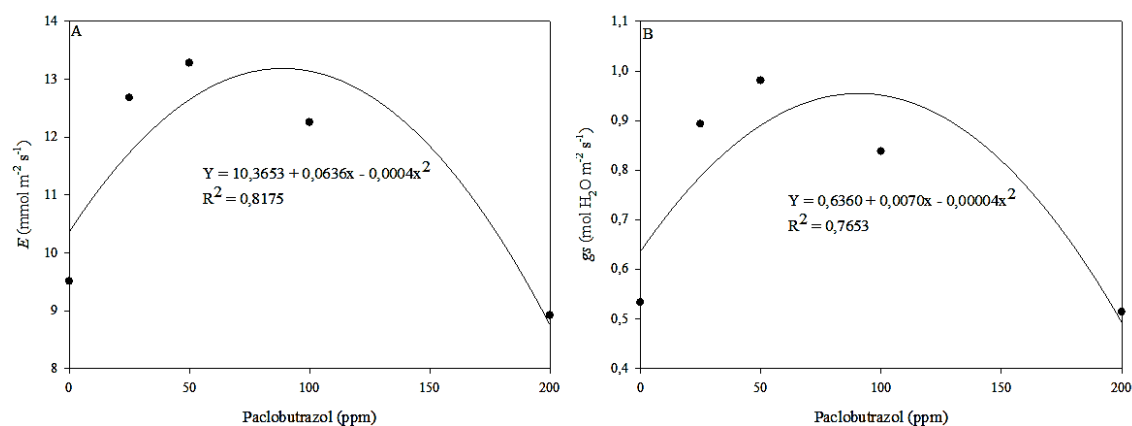


Figura 5. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na transpiração (A) e condutância estomática (B) (Ensaio 2, avaliação 1, oito dias após o plantio).

Na segunda avaliação, houve efeito significativo do Pbz para todas as variáveis analisadas nos dois ensaios. No ensaio 1, houve efeito significativo do ASM para fotossíntese, enquanto no ensaio 2, houve efeito significativo também para a transpiração e para a relação *Ci/Ca*. Foi observada também significância para a interação entre os fatores Pbz e ASM para a transpiração, condutância estomática, relação *Ci/Ca* e eficiência do uso da água; no ensaio 2, apenas para a relação *Ci/Ca* (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz na transpiração (*E*, $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (*A*, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (*gs*, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (*Ci/Ca*) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 2, 30 dias após o plantio, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	<i>E</i>	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>Ci/Ca</i>	WUE
Pbz	4	71,87**	113,40**	0,85**	0,02**	4,69**
ASM	1	0,04 ^{NS}	83,08**	0,11 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,20 ^{NS}
Pbz*ASM	4	16,37**	17,19 ^{NS}	0,19**	0,014**	3,61**
Bloco	3	2,84 ^{NS}	14,84 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,0001 ^{NS}	0,09 ^{NS}
Resíduo	27	2,42	9,02	0,04	0,002	0,16
CV (%)		15,84	13,18	22,09	3,51	15,66
	Ensaio 2					
Pbz	4	147,54**	398,75**	0,82**	0,099**	0,36**
ASM	1	79,05*	367,34**	0,32 ^{NS}	0,058**	1,89 ^{NS}
Pbz*ASM	4	21,26 ^{NS}	45,76 ^{NS}	0,12 ^{NS}	0,020*	1,46 ^{NS}
Bloco	3	14,00 ^{NS}	66,09 ^{NS}	0,11 ^{NS}	0,011 ^{NS}	0,51 ^{NS}
Resíduo	27	15,57	39,13	0,12	0,007	0,86
CV (%)		46,40	34,13	63,90	11,73	32,27

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

No ensaio 2, o tratamento AP (presença do ASM) apresentou maiores médias de transpiração e de fotossíntese, quando comparadas ao tratamento AA (ausência do ASM) pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) (Tabela 3).

A transpiração aumentou em função das doses em ambos os ensaios (Figura 7). No Ensaio 1, quando analisado o desdobramento entre os fatores, nota-se que as médias do tratamento AP foram superiores ao tratamento AA no tratamento controle de Pbz ($P \leq 0,05$; Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis de trocas gasosas de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 2, 30 dias após o plantio, Ensaios 1 e 2). Transpiração (*E*), fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*gs*), relação entre concentração interna e externa de CO₂ (*Ci/Ca*) e eficiência do uso da água (WUE).

Característica avaliada	Doses de Pbz (ppm)						Média
	Ensaio 1						
	ASM	0	25	50	100	200	
<i>E</i> (mmol m ⁻² s ⁻¹)	AA	2,60b	12,73a	12,30a	12,24a	9,42a	9,86
	AP	7,54a	10,59a	10,39a	11,61a	7,82a	9,79
DMS: 2,25 CV: 15,84%	Média:	5,07	11,66	11,84	11,93	8,62	9,98
<i>A</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	AA	13,39	23,05	23,30	24,73	22,23	21,34b
	AP	19,9	26,54	27,60	25,97	21,10	24,22a
DMS: 1,94 CV: 13,18%	Média:	16,64	24,80	25,45	25,35	21,67	22,78**
<i>gs</i> (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	AA	0,19b	1,31a	1,22a	1,23a	0,96a	0,98
	AP	0,61a	0,98b	1,00a	1,11a	0,67a	0,88
DMS: 0,29 CV: 22,09%	Média:	0,40	1,14	1,11	1,17	0,82	0,93
<i>Ci/Ca</i>	AA	0,65b	0,88a	0,87a	0,87a	0,83a	0,82
	AP	0,82a	0,84a	0,84a	0,86a	0,82a	0,84
DMS: 0,04 CV: 3,51%	Média:	0,74	0,86	0,86	0,86	0,83	0,83
WUE (μmol CO ₂ /mmol H ₂ O)	AA	5,19a	1,80a	1,91a	2,03a	2,47a	2,68
	AP	2,67b	2,53b	2,43a	2,26a	2,79a	2,54
DMS: 0,59 CV: 20,22%	Média:	3,93	2,17	2,17	2,14	2,63	2,61
Ensaio 2							
<i>E</i> (mmol m ⁻² s ⁻¹)	AA	1,20	7,16	4,49	11,69	10,95	7,10b
	AP	1,38	11,66	12,27	12,47	11,77	9,91a
DMS: 2,56 CV: 46,40%	Média:	1,29	9,41	8,38	12,08	12,36	8,50**
<i>A</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	AA	4,95	17,37	13,39	21,10	19,65	15,29b
	AP	6,74	25,23	26,97	25,25	22,58	21,35a
DMS: 4,05 CV: 34,13%	Média:	5,85	21,30	20,18	23,18	21,11	18,32**
<i>gs</i> (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	AA	0,05	0,38	0,24	0,91	0,74	0,46a
	AP	0,06	0,75	0,76	0,85	0,81	0,65a
DMS: 0,23 CV: 63,90%	Média:	0,05	0,56	0,50	0,88	0,77	0,55**
<i>Ci/Ca</i>	AA	0,55a	0,65b	0,60b	0,80a	0,71a	0,68
	AP	0,51a	0,84a	0,78a	0,81a	0,81a	0,75
DMS: 0,12 CV: 11,73%	Média:	0,53	0,75	0,69	0,81	0,79	0,71
WUE (μmol CO ₂ /mmol H ₂ O)	AA	4,26	3,00	3,89	1,97	2,35	3,09a
	AP	4,84	2,21	2,23	2,04	1,97	2,66a
DMS: 0,60 CV: 32,27%	Média:	4,55	2,61	3,02	2,01	2,16	2,88**

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F. DMS - Diferença Mínima Significativa; CV - Coeficiente de Variação.

A transpiração aumentou em função das doses em ambos os ensaios (Figura 6). No Ensaio 1, quando analisado o desdobramento entre os fatores, nota-se que as médias

do tratamento AP foram superiores ao tratamento AA no tratamento controle de Pbz ($P \leq 0,05$; Tabela 3).

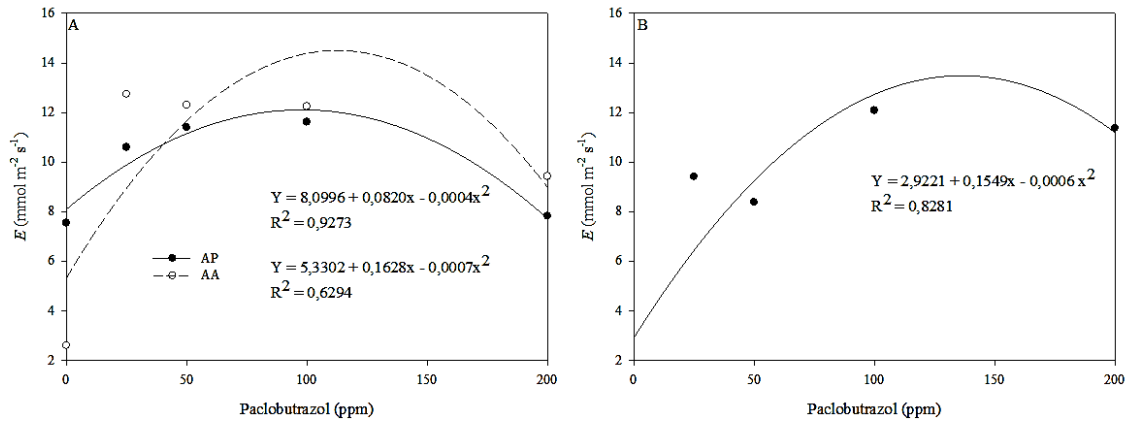


Figura 6. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na Transpiração (E) do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B) (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

Na segunda avaliação de trocas gasosas, a fotossíntese (A) das plantas tratadas com Pbz também aumentou em ambos os ensaios. Assim como na primeira avaliação, o aumento ocorreu em função da dose até a concentração de 100 ppm de Pbz, com redução em doses acima de 100 ppm (Figura 7).

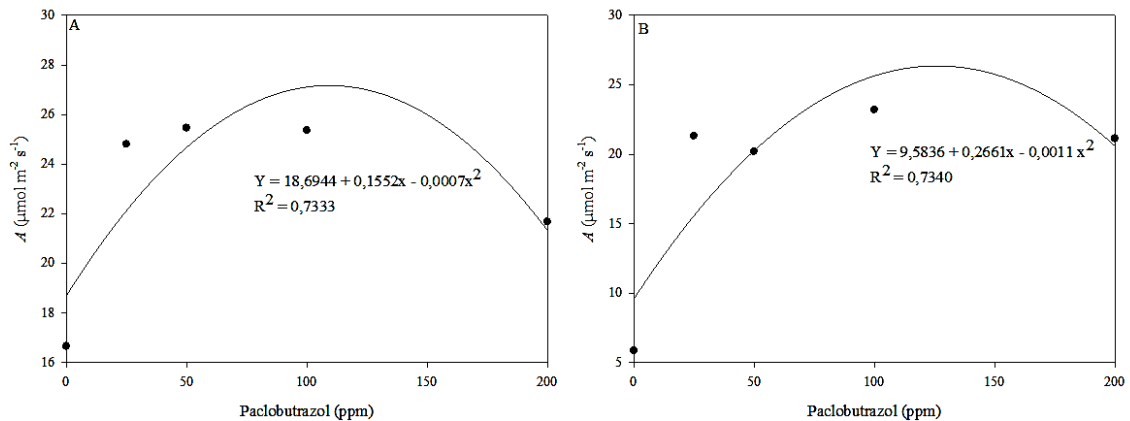


Figura 7. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na fotossíntese (A) do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B). (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

Os valores de condutância estomática também aumentaram em função das doses de Pbz aplicadas, com redução acima de 100 ppm (Figura 8). No primeiro ensaio, é possível observar ainda valores de condutância estomáticas superiores ($P \leq 0,05$), quando na ausência de Pbz, e inferiores na presença (Tabela 3).

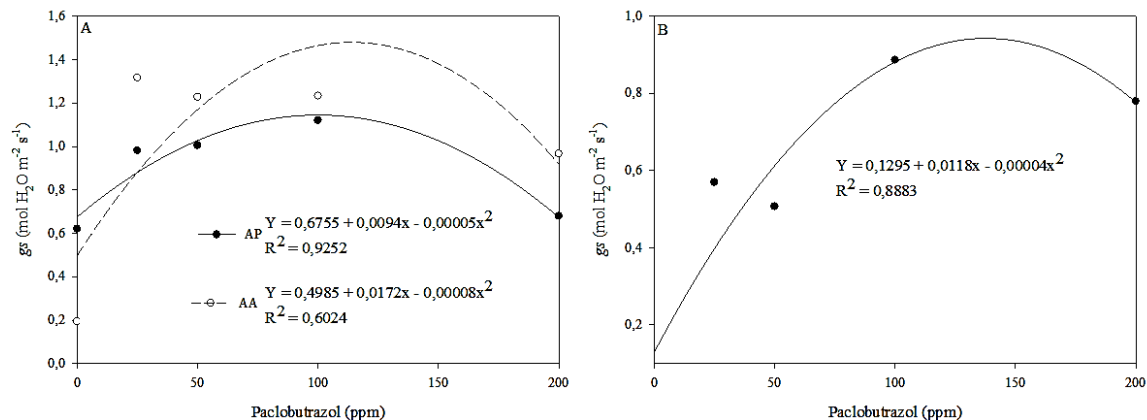


Figura 8. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na condutância estomática do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B). (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

Houve também aumento da relação C_i/C_a das plantas tratadas com Pbz em ambos os ensaios. É possível observar também valores de C_i/C_a superiores no tratamento AP em relação ao tratamento AA (Figura 9).

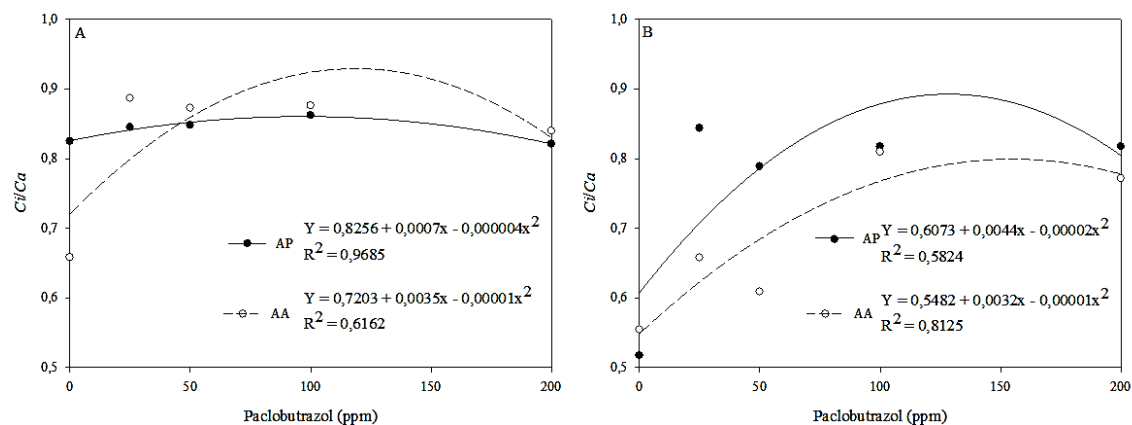


Figura 9. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na relação C_i/C_a do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B). (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

A eficiência do uso da água sofreu redução considerável em função das doses de Pbz utilizadas. A redução da eficiência do uso da água teve efeito no aumento da condutância estomática e da transpiração (Figura 10).

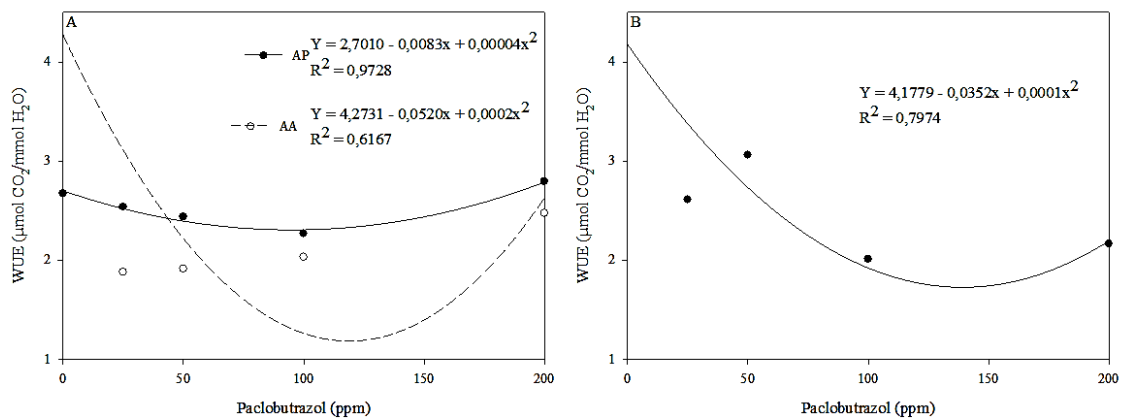


Figura 10. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na eficiência do uso da água (WUE) do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B) (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

3.3.2 Fluorescência da clorofila *a*

Na primeira avaliação de fluorescência da clorofila *a* do ensaio 1 e do ensaio 2, não foi possível observar efeito significativo de nenhum dos fatores para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz na taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência quântica do fotossistema II (ΦPSII), quenching fotoquímico (qP), quenching não fotoquímico (NPQ) e rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) de folhas de tomate para processamento industrial, cv. H 9553 (Heinz Seeds) (Avaliação 1, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	ETR	ΦPSII	qP	NPQ	Fv/Fm
Pbz	4	176,71 ^{NS}	0,0004 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,57 ^{NS}	0,000006 ^{NS}
ASM	1	1,08 ^{NS}	0,000003 ^{NS}	0,0008 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,000002 ^{NS}
Pbz*ASM	4	56,53 ^{NS}	0,0014 ^{NS}	0,0004 ^{NS}	0,42 ^{NS}	0,000020 ^{NS}
Bloco	3	658,19*	0,0016*	0,002*	0,57 ^{NS}	0,000016 ^{NS}
Resíduo	27	123,4	0,0003	0,0008	0,31	0,000018
CV (%)		10,88	10,89	10,76	34,92	0,53
Pbz	4	1408,12 ^{NS}	0,001981 ^{NS}	0,0038 ^{NS}	0,31 ^{NS}	0,000147 ^{NS}
ASM	1	5,59 ^{NS}	0,000008 ^{NS}	0,0032 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,0000253 ^{NS}
Pbz*ASM	4	25,04 ^{NS}	0,000035 ^{NS}	0,0010 ^{NS}	0,79 ^{NS}	0,0000034 ^{NS}
Bloco	3	1589,20 ^{NS}	0,002238 ^{NS}	0,0051 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,000131 ^{NS}
Resíduo	27	16352,99	0,000852	0,0038	0,48	0,000133
CV (%)		13,22	13,22	15,61	46,85	1,44

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

No ensaio 1, a segunda avaliação foi feita apenas nas folhas adaptadas à luz, tendo ocorrido efeito do Pbz em todas as variáveis analisadas. O comportamento foi

semelhante no segundo ensaio, tendo havido efeito significativo do fator Pbz para as variáveis ETR, Φ PSII, quenching fotoquímico e quenching não fotoquímico. O efeito do tratamento com ASM foi significativo para o quenching fotoquímico no ensaio 1 e para a ETR Φ PSII e quenching fotoquímico no ensaio 2 (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz na taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência quântica do fotossistema II (Φ PSII), quenching fotoquímico (qP), quenching não fotoquímico (NPQ) e rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) de folhas de tomate para processamento industrial, cv. H 9553 (Heinz Seeds) (Avaliação 2, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	ETR	Φ PSII	qP	NPQ	Fv/Fm
Pbz	4	1119,16*	0,0028*	0,006*	-	-
ASM	1	742,39 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,008*	-	-
Pbz*ASM	4	481,86 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,002 ^{NS}	-	-
Bloco	3	168,71 ^{NS}	0,0004 ^{NS}	0,0006 ^{NS}	-	-
Resíduo	27	391,28	0,0009	0,001	-	-
CV (%)		16,53	16,54	13,71	-	-
	Ensaio 2					
Pbz	4	50305,31**	0,017**	0,047**	0,10 ^{NS}	0,000190 ^{NS}
ASM	1	7414,69*	0,010*	0,033*	0,11 ^{NS}	0,000023 ^{NS}
Pbz*ASM	4	514,93 ^{NS}	0,000181 ^{NS}	0,0007 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,000448 ^{NS}
Bloco	3	1953,11 ^{NS}	0,000917 ^{NS}	0,0067 ^{NS}	0,14 ^{NS}	0,000280 ^{NS}
Resíduo	27	31291,41	0,0016	0,0062	0,12	0,000170
CV (%)		25,26	25,26	26,35	23,18	1,66

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Na segunda avaliação de fluorescência da clorofila *a* de ambos os ensaios, houve aumento da ETR das plantas tratadas com Pbz até a dose de 100 ppm, com subsequente redução. Esse comportamento acompanha o aumento da fotossíntese e a redução da severidade (Figura 11). Na primeira avaliação, apesar de não ter sido observado efeito significativo da aplicação de Pbz em nenhum dos ensaios, o comportamento foi semelhante.

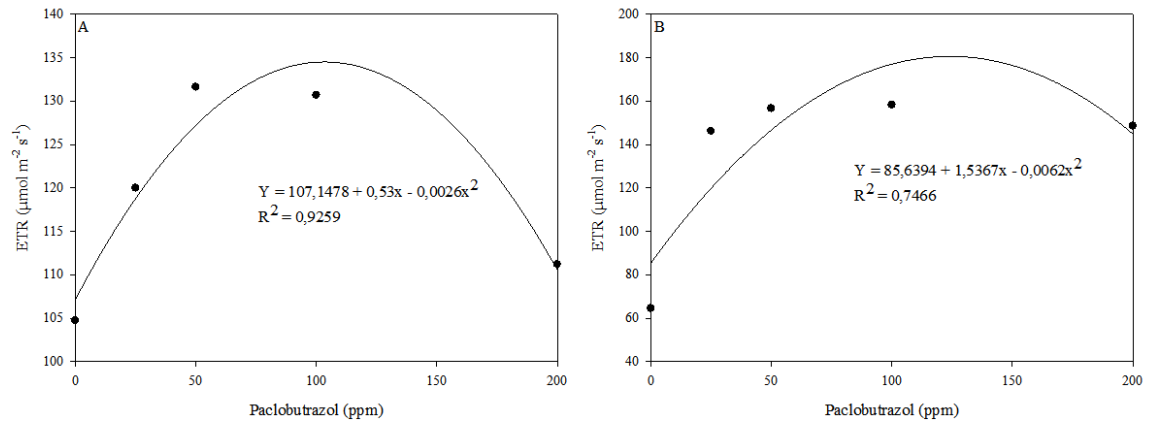


Figura 1. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na taxa de transporte de elétrons (ETR) (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

Para a eficiência quântica efetiva do PSII e para o quenching fotoquímico, também é possível observar o mesmo comportamento encontrado para a ETR (Figura 12).

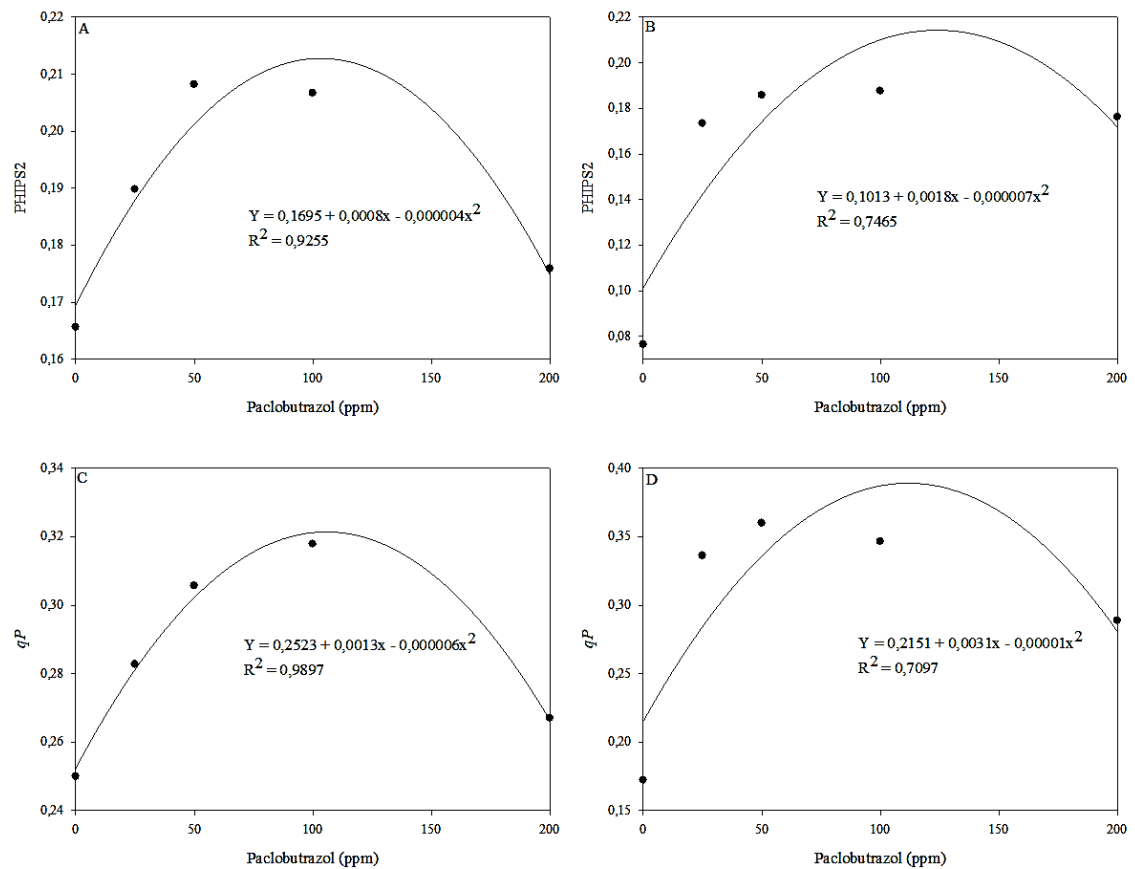


Figura 12. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na eficiência quântica do PSII (PHIP2) e do quenching fotoquímico (qP) do Ensaio 1 (A, B) e Ensaio 2 (C, D). (Avaliação 2, 30 dias após o plantio).

No primeiro ensaio, as médias do quenching fotoquímico do tratamento AA foram significativamente superiores ao tratamento AP ($P \leq 0,05$). No ensaio 2, as médias da ETR, Φ PSII e quenching fotoquímico do tratamento AP foram superiores em relação às médias do tratamento AA (Tabela 6).

Tabela 6. Variáveis fluorescência da clorofila *a* de folhas de tomate para processamento industrial, cv. H 9553 (Avaliação 2, Ensaios 1 e 2). Taxa de transporte de elétrons (ETR), eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ PSII), quenching fotoquímico (*qP*), quenching não fotoquímico (*NPQ*) e rendimento quântico máximo do fotossistema II (*Fv/Fm*).

Característica avaliada	Doses de Pbz (ppm)						Média
	Ensaio 1						
	ASM	0	25	50	100	200	
ETR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	AA	108,54	118,94	142,42	143,86	105,94	115,32a
	AP	100,89	121,02	120,81	117,49	116,41	123,94a
DMS: 12,83 CV: 16,53%	Média:	104,72	119,98	131,61	130,68	111,18	119,63*
Φ PSII	AA	0,17	0,18	0,22	0,22	0,16	0,19a
	AP	0,15	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18a
DMS: 0,02 CV: 16,54%	Média:	0,16	0,18	0,20	0,20	0,17	0,18*
<i>qP</i>	AA	0,26	0,27	0,33	0,35	0,26	0,29a
	AP	0,23	0,28	0,27	0,28	0,27	0,27b
DMS: 0,02 CV: 13,71%	Média:	0,24	0,28	0,30	0,31	0,26	0,28*
Ensaio 2							
ETR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	AA	57,51	129,66	139,75	144,99	133,90	121,16b
	AP	71,83	162,63	173,41	171,38	163,14	148,39a
DMS: 22,08 CV: 25,26%	Média:	64,45	146,15	156,58	158,19	148,53	134,78**
Φ PSII	AA	0,06	0,15	0,16	0,17	0,15	0,14b
	AP	0,08	0,19	0,20	0,20	0,19	0,17a
DMS: 0,02 CV: 25,26%	Média:	0,07	0,17	0,18	0,18	0,17	0,15**
<i>qP</i>	AA	0,15	0,30	0,32	0,32	0,24	0,27b
	AP	0,19	0,36	0,39	0,36	0,33	0,32a
DMS: 0,05 CV: 23,35%	Média:	0,17	0,33	0,35	0,34	0,28	0,03**
<i>NPQ</i>	AA	1,76	1,53	1,64	1,35	1,19	1,50a
	AP	1,68	1,58	1,49	1,56	1,69	1,60a
DMS: 0,23 CV: 23,18%	Média:	1,72	1,56	1,57	1,46	1,44	1,55 ^{NS}
<i>Fv/Fm</i>	AA	0,78	0,77	0,79	0,79	0,79	0,78a
	AP	0,77	0,80	0,77	0,79	0,79	0,78a
DMS: 0,008 CV: 1,66	Média:	0,78	0,78	0,78	0,79	0,79	0,78 ^{NS}

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F. DMS - Diferença Mínima Significativa; CV - Coeficiente de Variação.

3.3.3 Crescimento e desenvolvimento e acúmulo de biomassa

Foram significativos os efeitos do Pbz no crescimento e desenvolvimento e no acúmulo de biomassa dados pelas variáveis de comprimento da parte aérea, distância de entrenós, área foliar e massa seca das raízes em ambos os ensaios, e massa seca da parte aérea no primeiro ensaio (Tabelas 7 e 8). Para o ASM não houve significância em nenhuma variável analisada no ensaio 1 (Tabela 7). Entretanto, no ensaio 2, foi observado efeito significativo do ASM para comprimento da parte aérea e para massa seca de raízes (Tabela 8).

Em relação à interação entre os fatores Pbz e ASM, no primeiro ensaio houve significância para a distância de entrenós, enquanto no segundo ensaio não foi possível verificar efeito significativo para nenhuma das variáveis analisadas (Tabelas 7 e 8). O Pbz causou redução de aproximadamente 57% da distância de entrenós, o que, conseqüentemente, reduziu também o comprimento da parte aérea das plantas em ambos os ensaios. A redução da parte aérea, por sua vez, foi de, aproximadamente, 60% (Figuras 13 e 14).

Tabela 9. Variáveis de Crescimento e desenvolvimento de plantas de tomate para processamento industrial (Ensaio 1 e 2): comprimento da parte aérea (CA), diâmetro, distância de entrenós (DENT) e massa seca de raiz (MSRZ).

Característica avaliada	Doses de Pbz (ppm)						Média	
	Ensaio 1							
	ASM	0	25	50	100	200		
DENT	AA	34,08a	25,60a	23,28a	21,10a	16,38a	24,09	
	AP	27,62b	24,73a	26,06a	19,53a	18,43a	23,27	
DMS: 3,65	CV: 10,62%	Média:	30,85	25,16	24,67	20,32	17,41	23,68
			Ensaio 2					
CA (cm)	AA	32,62	25,71	24,55	20,72	19,61	24,64b	
	AP	37,43	28,72	26,97	24,97	21,90	28,00a	
DMS: 2,79	CV: 16,35%	Média:	35,03	27,21	25,76	22,85	20,75	26,32**
MSRZ (g)	AA	2,23	1,86	1,80	1,43	1,43	1,75a	
	AP	1,91	1,88	1,23	1,34	0,89	1,45b	
DMS: 0,26	CV: 25,46%	Média:	2,07	1,87	1,51	1,38	1,65	1,60

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F. DMS - Diferença Mínima Significativa; CV - Coeficiente de Variação.

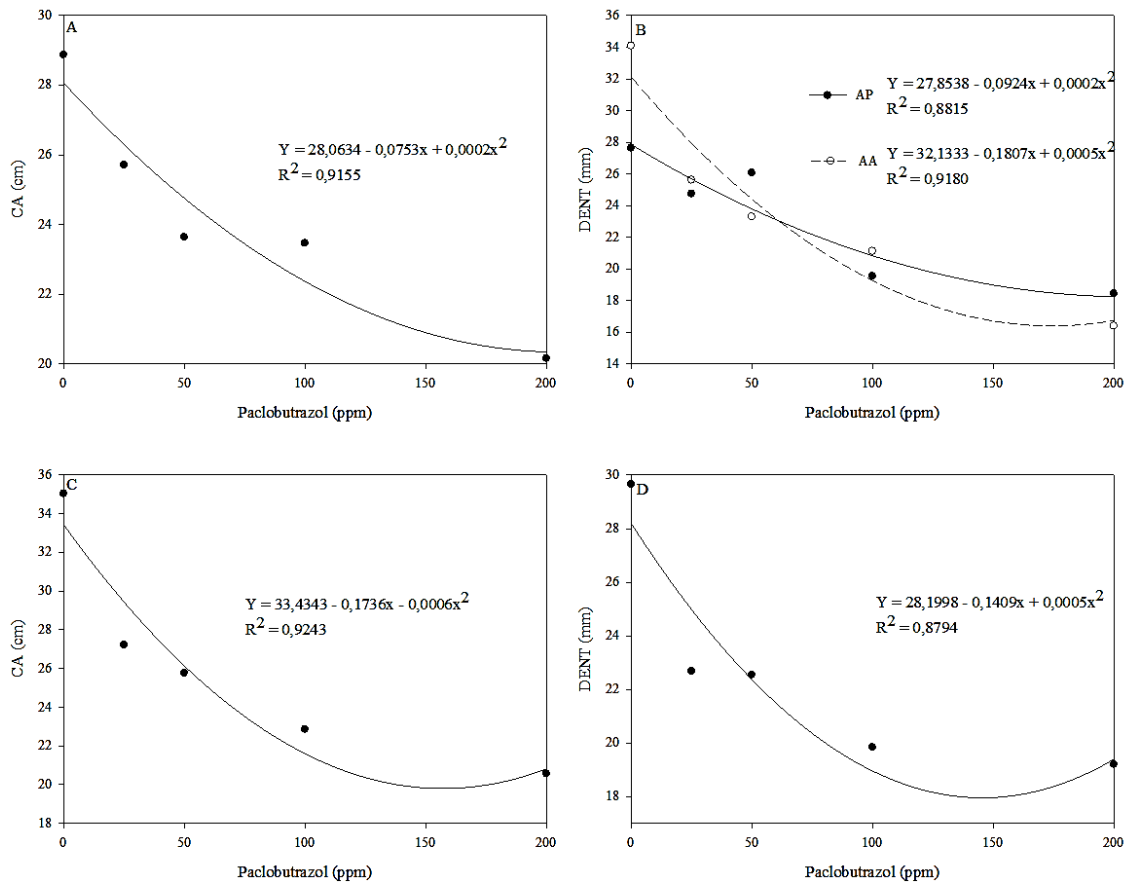


Figura 13. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) no comprimento da parte aérea (CA) e na distância entrenós (DENT) de plantas de tomate para processamento industrial do Ensaio 1 (A, C) e Ensaio 2 (B, D).

Quando analisado o desdobramento da interação entre Pbz e ASM, são observados valores da distância de entrenós menores no tratamento AP em relação ao tratamento AA na dose controle de Pbz (0) (Tabela 9). Para as demais doses, não há diferença estatística ($P \leq 0,05$). Para o ASM, o tratamento AP obteve média de comprimento da parte aérea superior ao tratamento de AA e menor massa seca de raízes ($P \leq 0,05$) (Tabela 9).

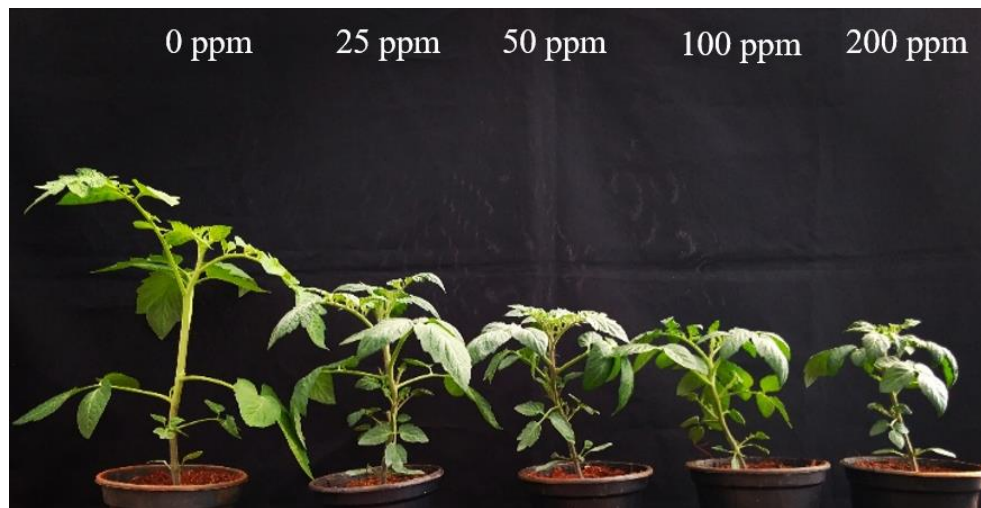


Figura 14. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) no porte das plantas.

Tabela 7. Resumo da análise de variância de aplicações de ASM e Pbz no comprimento da parte aérea (CA, cm), diâmetro (DM, cm), número de folhas (NF), número de entrenós (NENT), distância de entrenós (DENT, mm), área foliar (AF, mm²), massa seca de raiz (MSRZ, g), massa fresca da parte aérea (MFPA, g) e massa seca da parte aérea (MSPA, g) de plantas de tomate para processamento industrial (Ensaio 1).

Causas da Variação	Quadrados Médios									
	GL	CA	DM	NF	NENT	DENT	AF	MSRZ	MFPA	MSPA
Pbz	4	82,38*	0,26 ^{NS}	1,59 ^{NS}	1,60 ^{NS}	210,48**	25625,02**	3,07**	264,56 ^{NS}	10,13*
ASM	1	19,73 ^{NS}	0,06 ^{NS}	2,75 ^{NS}	0,10 ^{NS}	6,65 ^{NS}	1816,94 ^{NS}	2,96 ^{NS}	120,86 ^{NS}	10,90 ^{NS}
Pbz*ASM	4	2,52 ^{NS}	0,05 ^{NS}	1,66 ^{NS}	0,44 ^{NS}	26,74**	664,05 ^{NS}	0,12 ^{NS}	122,65 ^{NS}	5,87 ^{NS}
Bloco	3	5,67 ^{NS}	0,13 ^{NS}	3,35 ^{NS}	0,97 ^{NS}	177,18 ^{NS}	3158,53 ^{NS}	0,62 ^{NS}	502,37 ^{NS}	10,35 ^{NS}
Resíduo	27	5,90	0,25	1,87	0,72	6,33	1524,81	0,71	273,24	3,39
CV (%)		9,98	8,61	15,52	9,93	10,62	22,04	34,49	21,96	21,77

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Tabela 8. Resumo da análise de variância de aplicações de aplicações de ASM e Pbz no comprimento da parte aérea (CA, cm), diâmetro (DM, cm), número de folhas (NF), número de entrenós (NENT), distância de entrenós (DENT, mm), área foliar (AF, mm²), massa seca de raiz (MSRZ, g), massa fresca da parte aérea (MFPA, g) e massa seca da parte aérea (MSPA, g) de plantas de tomate para processamento industrial (Ensaio 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios									
	GL	CA	DM	NF	NENT	DENT	AF	MSRZ	MFPA	MSPA
Pbz	4	240,963**	1,50 ^{NS}	0,30 ^{NS}	0,29 ^{NS}	137,57**	7317,78**	1,08**	606,82 ^{NS}	10,75 ^{NS}
ASM	1	112,72*	1,2 ^{NS}	1,40 ^{NS}	0,10 ^{NS}	22,80 ^{NS}	1590,13 ^{NS}	0,91*	798,69 ^{NS}	12,10 ^{NS}
Pbz*ASM	4	2,52 ^{NS}	1,04 ^{NS}	0,73 ^{NS}	0,70 ^{NS}	2,21 ^{NS}	464,84 ^{NS}	0,13 ^{NS}	33,24 ^{NS}	1,82 ^{NS}
Bloco	3	22,82 ^{NS}	1,44 ^{NS}	0,63 ^{NS}	2,14 ^{NS}	1,30 ^{NS}	96,61 ^{NS}	0,24 ^{NS}	164,90 ^{NS}	3,98 ^{NS}
Resíduo	27	18,51	1,06	1,34	1,97	6,53	1398,94	0,16	317,66	5,87
CV (%)		16,35	20,13	18,14	11,37	11,22	31,24	25,46	30,78	32,35

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

As plantas tratadas com Pbz apresentaram também redução na área foliar em relação às doses aplicadas em ambos os ensaios (Figura 15).

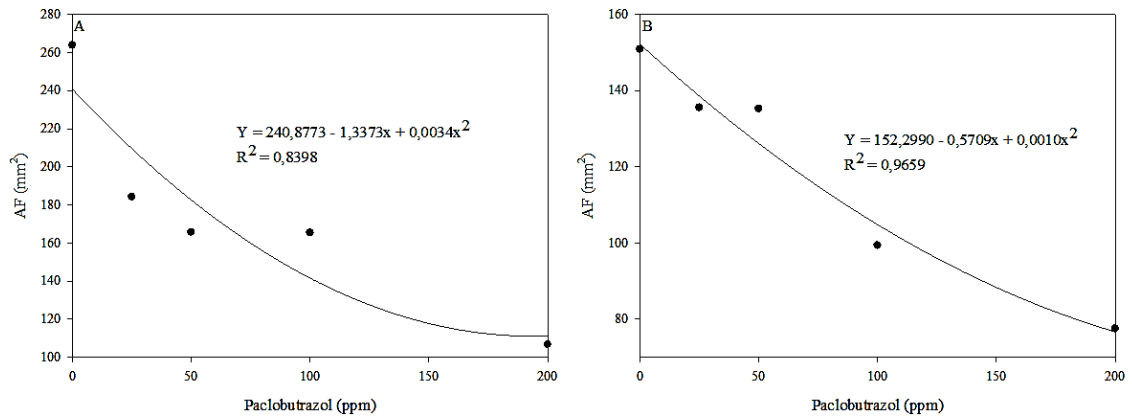


Figura 2. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na área foliar de plantas de tomate para processamento industrial (AF) do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B).

A produção de biomassa também foi afetada pela aplicação de Pbz em ambos os ensaios. Houve redução tanto da massa seca das raízes quanto da massa seca da parte aérea das plantas, em função das doses utilizadas (Figura 16).

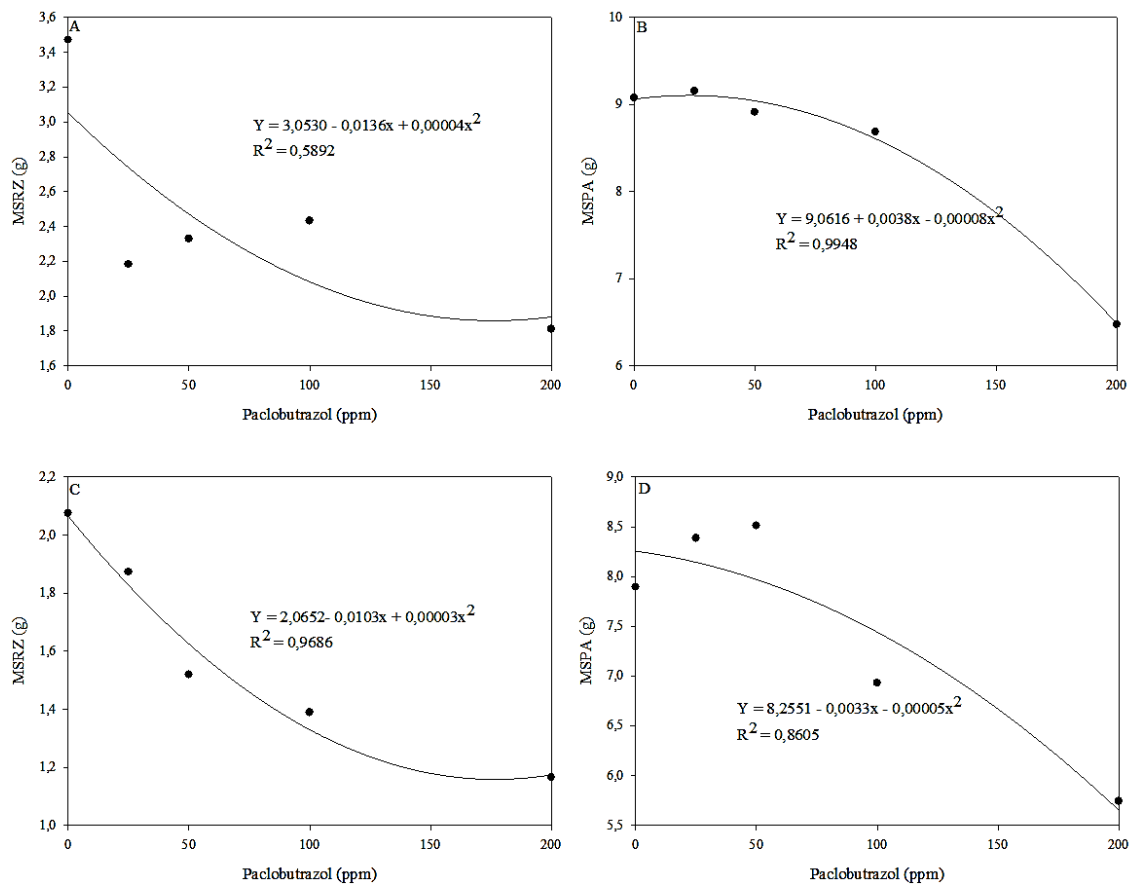


Figura 3. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na massa seca das raízes (MSRZ) e parte aérea (MSPA) de plantas de tomate para processamento industrial do Ensaio 1 (A, C) e Ensaio 2 (B, D).

3.3.4 Severidade de mancha bacteriana

Em ambos os ensaios, houve significância para Pbz, ASM e para a interação entre os fatores (Tabela 10).

Tabela 10. Resumo da análise de variância de aplicações de aplicações de ASM e Pbz na severidade da mancha bacteriana (AFL, % de área foliar lesionada), causada por *Xhantomonas perforans* em plantas de tomate para processamento industrial. (Ensaio 1 e 2).

Causas da Variação	GL	Quadrados Médios	
		Ensaio 1	Ensaio 2
		Severidade (%AFL)	Severidade (%AFL)
Pbz	4	53,99**	143,75**
ASM	1	110,65**	120,75**
Pbz*ASM	4	46,64**	5,78*
Bloco	3	0,37 ^{NS}	0,62 ^{NS}
Resíduo	27	0,63	1,57
CV (%)		20,54	22,08

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Quando analisado o desdobramento entre os fatores Pbz e ASM em ambos os ensaios, o tratamento AP apresentou menores valores de severidade da doença em todas as doses de Pbz quando comparado ao tratamento AA ($P \leq 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 11. Severidade da doença em folhas de tomate para processamento industrial (Ensaio 1 e 2). Porcentagem de área foliar lesionada (%AFL).

Doses de Pbz (ppm)	Severidade (%AFL)			
	Ensaio 1		Ensaio 2	
	AP	AA	AP	AA
0	2,50a	14,46b	10,00a	16,50b
25	2,50a	3,96b	2,75a	5,50b
50	2,08a	3,20b	2,50a	5,00b
100	1,45a	2,95b	2,00a	4,62b
200	2,50a	3,16b	2,50a	5,50b
CV		20,54		22,08

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.; CV - Coeficiente de Variação.

A severidade da doença foi reduzida consideravelmente em função das doses aplicadas, com subsequente aumento acima de 100 ppm de Pbz (Figura 17).

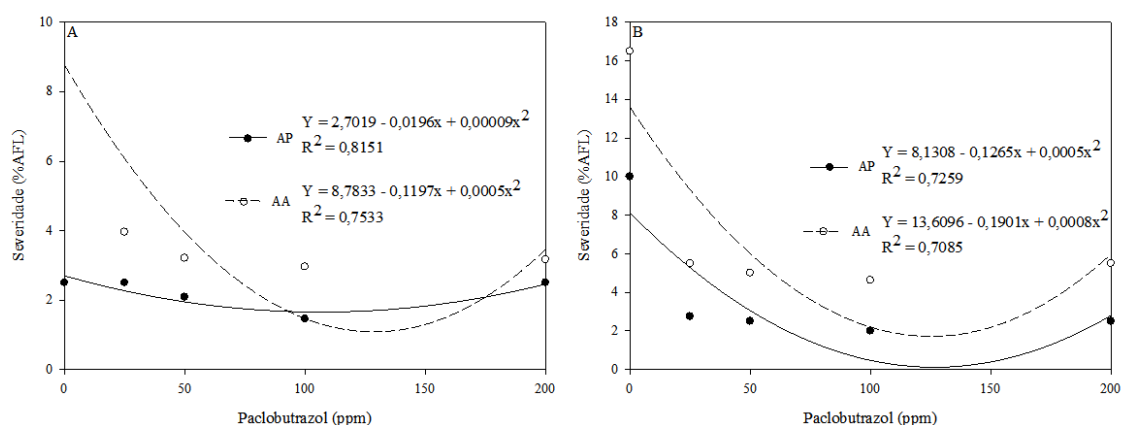


Figura 4. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) e ASM (AP, com ASM e AA, sem ASM) na severidade da doença (% de área foliar lesionada) em plantas de tomate para processamento industrial do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B).

3.4 Discussão

3.4.1 Alterações nas trocas gasosas estão relacionadas com a inibição da síntese de giberelinas e com a redução da severidade da doença

A fotossíntese das plantas tratadas com Pbz em doses de até 100 ppm foi consideravelmente maior que a das plantas não tratadas. O aumento da fotossíntese em plantas de tomateiro crescendo em condições normais, tratadas com 25 ppm de Pbz, já foi relatado (Berova & Zlatev, 2000); e em plantas submetidas ao déficit hídrico tratadas em concentrações de 0,8 e 1,6 ppm, consideravelmente inferiores às utilizadas no presente trabalho (Pal *et al.*, 2016). O aumento da fotossíntese já foi relatado também em plantas de canola, indicando que o Pbz tem a capacidade de aumentar a fotossíntese em plantas de diferentes espécies crescendo em diferentes condições (Kuai *et al.*, 2015).

Mudanças fisiológicas e morfológicas como aumento dos teores de clorofila e a redução da área foliar estão associadas ao aumento da fotossíntese nas plantas tratadas com Pbz (Pal *et al.*, 2016). De modo geral, a aplicação de Pbz aumenta os teores de clorofila em plantas, como relatado por Nivedithadevi *et al.* (2012) em plantas de *Solanum trilobatum* tratadas com 10 ppm. As mudanças morfológicas estão intimamente relacionadas com a inibição da síntese de giberelinas (GA) causada pelo Pbz. Plantas de tomate mutantes deficientes de GA apresentam níveis de fotossíntese

superiores quando comparadas com plantas normais (Martins *et al.*, 2019). Uma explicação adicional é possível para o aumento observado na segunda avaliação dos ensaios, aos 16 dias após a inoculação, se analisado comparativamente o efeito do Pbz na severidade da doença (Figura 18). A porcentagem de área foliar lesionada se reduziu nas plantas tratadas com Pbz em função da dose utilizada. A manutenção da área foliar e, conseqüentemente, dos cloroplastos é fundamental para a fotossíntese, além disso, a interação planta-patógeno está associada ao estresse oxidativo (Sofó *et al.*, 2015; Landi *et al.*, 2017). Plantas tratadas com Pbz metabolizam essas espécies de maneira mais eficiente, mantendo a integridade das membranas e das organelas que compõem a maquinaria fotossintética (Jungklang; 2015; Pal *et al.*, 2016).

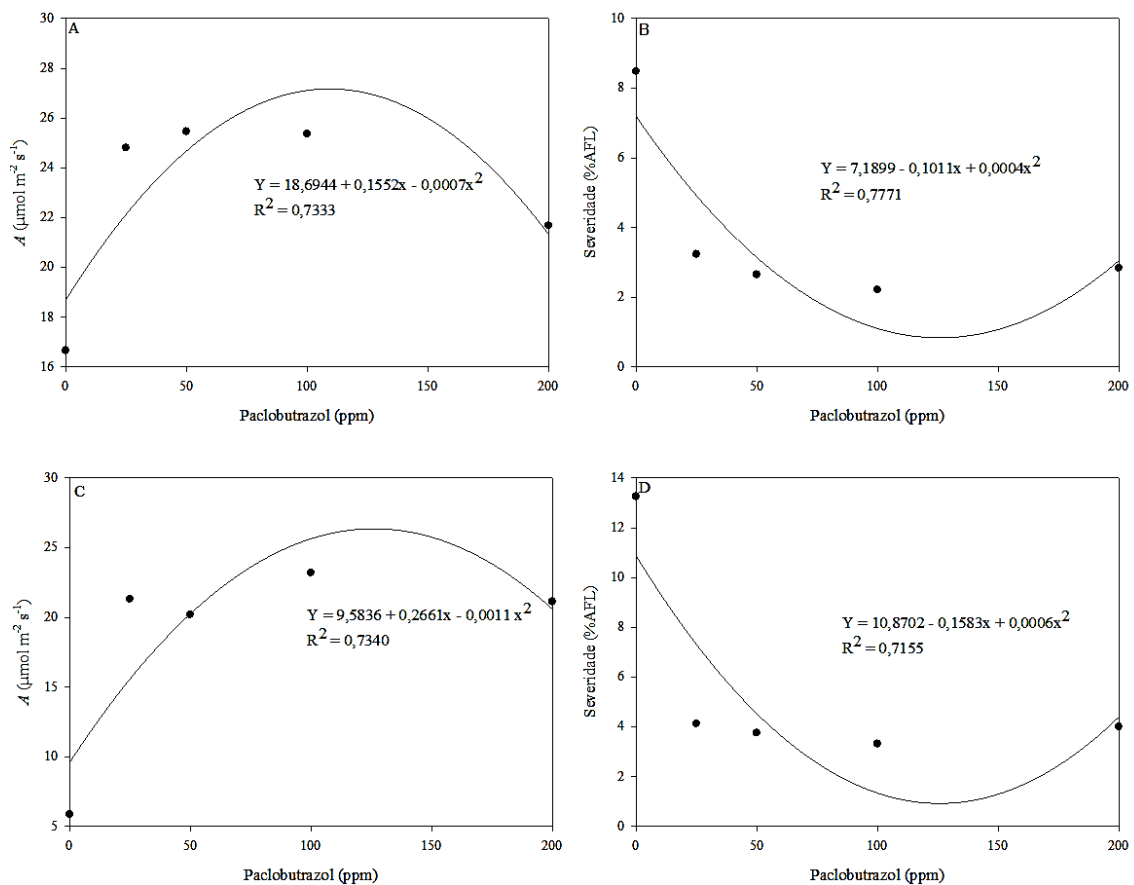


Figura 5. Efeitos da aplicação de Pbz (0, 25, 50, 100 e 200 ppm) na fotossíntese (Avaliação 2) e severidade da mancha bacteriana de plantas de tomate para processamento industrial do Ensaio 1 (A) e Ensaio 2 (B).

O Pbz também aumentou a condutância estomática em ambos os ensaios na segunda avaliação. O aumento da condutância estomática de plantas tratadas com Pbz, independentemente das condições de crescimento das plantas, já foi reportado por outros autores e está relacionado ao aumento da citocinina (Rivero, 2009; Pal *et al.*,

2016). O aumento da condutância estomática possibilita maior aporte de CO₂, aumentando a concentração interna do gás carbônico (C_i) e a relação C_i/C_a . Esse aumento do C_i resulta em um aumento da fotossíntese, que depende da atividade da Rubisco (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase) e da regeneração de RuBP (ribulose bifosfato) (Long & Bernacchi, 2003; Sharkey *et al.*, 2007). O aumento da ETR em função das doses de Pbz, Figuras 12 A e B, aumenta a regeneração da RuBP pelo sistema tiorredoxina-ferredoxina, que usa elétrons da cadeia de transporte de elétrons, resultando no aumento observado na fotossíntese. O aumento da condutância estomática também está associado ao aumento observado na transpiração.

O aumento da taxa transpiratória reduziu a eficiência do uso da água, no entanto, apesar de a eficiência do uso da água ter sido maior nas doses mais baixas, a fotossíntese foi também consideravelmente baixa. Em doses acima de 100 ppm, foi observado aumento da eficiência do uso da água causado pela redução na transpiração, em função da redução da condutância estomática. Os resultados divergem dos obtidos por Pal *et al.* (2016), que observaram aumento da eficiência do uso da água em plantas tratadas com Pbz. Essa divergência pode ser explicada pela diferença de doses e pelo método de aplicação utilizado, uma vez que, no trabalho de Pal *et al.* (2016), foram utilizadas doses consideravelmente menores de Pbz (0,8 e 1,6 ppm), aplicadas às sementes via solo.

3.4.2 *A redução na fotossíntese pode estar relacionada com a redução na taxa de exportação de triose fosfato (TPU)*

O aumento na condutância estomática resultou em maiores concentrações de carbono dentro da cavidade estomática (C_i). No entanto, a fotossíntese responde aos aumentos de C_i até certo ponto, podendo atingir um estágio de platô ou, em alguns casos, reduzir. Quando isso ocorre, a fotossíntese é limitada pela exportação de TPU. (Long & Bernacchi, 2003; Sharkey *et al.*, 2007). Essa fase é prevista pelo modelo matemático de Farquhar *et al.* (1980), com modificações feitas por von Caemmerer (2000).

A limitação pela TPU ocorre porque o transporte de triose fosfato depende de um translocador antiporte de fosfato inorgânico (Pi), ocorrendo, em condições de baixo Pi, redução na TPU, que resulta em redução da assimilação de CO₂ pela planta (Flügge *et al.*, 2003; Thuynsma *et al.*, 2016; Greer, 2018). A redução na assimilação de CO₂

resulta no acúmulo de C_i e leva ao fechamento estomático, que reduz a transpiração e, subsequentemente, a C_i/C_a . A redução na concentração de P_i está relacionada com a inibição da síntese de giberelinas causada pelo Pbz, que faz com que haja um menor desenvolvimento das raízes resulte em uma menor concentração de P_i nas plantas (Zhang *et al.*, 2019).

3.4.3 Como o aumento da ETR contribuiu para o aumento da fotossíntese e como a redução na fotossíntese pode ter causado a redução da ETR

A aplicação de Pbz aumentou a ETR na segunda avaliação de ambos os ensaios. Esse aumento acompanha o aumento da fotossíntese e a redução da severidade. O aumento da ETR das plantas de tomate em função das doses de Pbz observados confirma os dados obtidos por Pal *et al.* (2016). Esse aumento, independentemente das condições de crescimento, pode estar relacionado ao aumento da citocinina (Rivero, 2009; Pal *et al.*, 2016). Na primeira avaliação, apesar de não ter sido observado efeito significativo da aplicação de Pbz, o comportamento foi semelhante em ambos os ensaios.

O aumento da ETR está relacionado ao aumento da eficiência quântica efetiva do PSII em função das doses aplicadas. A eficiência quântica do PSII indica que a proporção de luz absorvida é utilizada na fotoquímica, que, por sua vez, está relacionada à proporção de centros de reação do PSII que estão abertos (qP) (Genty *et al.*, 1989; Maxwell & Jonson, 2000). Com uma maior proporção de centros de reação do PSII abertos, há uma maior eficiência quântica efetiva do PSII e, conseqüentemente, uma maior quantidade de energia sendo utilizada na fotoquímica. Como conseqüência, há uma maior taxa de transporte de elétrons (Maxwell & Jonson, 2000).

Sendo assim, os valores de ETR, $PHIS2$ e qP estão relacionados, os quais, por sua vez, se relacionam também com a relação C_i/C_a e, conseqüentemente, com a fotossíntese. A resposta da fotossíntese a C_i é descrita pelo modelo matemático de Farquhar *et al.* (1980), com modificações feitas por von Caemmerer (2000).

A regeneração de RuBP é regulada via tiorredoxina reduzida, que é produzida pela oxidação do NADPH na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese. Desse modo, a fotossíntese responde a aumentos da C_i (Long & Bernacchi, 2003; Sharkey *et al.*, 2007). Quando a fotossíntese passa a ser limitada pela exportação de TPU, uma redução da carboxilação resulta em uma menor quantidade de energia sendo utilizada na

fotoquímica, levando a uma redução na eficiência quântica do PSII e consequente redução da ETR.

3.4.4 O desacoplamento entre o aumento da assimilação de carbono e o crescimento e acúmulo de biomassa das plantas

A redução da distância de entrenós e do comprimento da parte aérea das plantas tratadas com Pbz foi bastante expressiva, chegando a, aproximadamente, 60% na concentração de 200 ppm. Essa redução no crescimento está relacionada com a inibição da síntese de giberelinas, hormônio vegetal que promove crescimento e alongamento vegetal, reduzindo consideravelmente o porte das plantas (Figura 15). A redução do porte em plantas de tomate tratadas com Pbz nos ensaios confirma os dados obtidos por outros autores (Silva & Faria Junior, 2011; Seleguini *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2017).

A área foliar das plantas tratadas com Pbz ficou reduzida em, aproximadamente, 46% em relação à área das plantas não tratadas na dose mais alta. Essa redução está também relacionada com a inibição da síntese de giberelinas causada pelo Pbz. Esses resultados confirmam os obtidos com Pal *et al.* (2016) e por Tanis *et al.* (2015), que observaram redução superior a 20% da área foliar. Essa redução da área foliar contribuiu para os aumentos observados de fotossíntese (Pal *et al.*, 2016).

A aplicação de Pbz reduziu consideravelmente o acúmulo de biomassa das plantas em, aproximadamente, 50% em ambos os ensaios. Estes resultados confirmam os obtidos por Pal *et al.* (2016). Redução na massa seca da parte aérea de plantas tratadas com Pbz também foi observada por Ahmad *et al.* (2015) em plantas ornamentais e por Tanis *et al.* (2015) em espécies arbóreas. A redução no crescimento e o acúmulo de biomassa mesmo em plantas que apresentam elevação na fotossíntese estão estreitamente relacionados com a inibição na síntese de GA. Plantas de tomate mutantes com níveis baixos de GA apresentam redução no acúmulo nas características de crescimento mesmo com aumento na assimilação de carbono (Martins *et al.*, 2019). Comportamento semelhante também ocorre em plantas de *Arabidopsis* submetidas à aplicação de Pbz (Ribeiro *et al.*, 2012).

Os resultados aqui obtidos, no entanto, contrariam as observações de Tanis *et al.* (2015), que afirmam que uma redução no crescimento da parte aérea com a manutenção ou o aumento da fotossíntese resultaria em maior produção de biomassa

nas raízes. Isso evidencia que as repostas das plantas ao Pbz variam em relação ao gênero e à espécie.

3.4.5 Interação entre o Pbz e o ASM na redução da severidade da mancha bacteriana

A severidade da doença foi reduzida consideravelmente em função das doses aplicadas, com subseqüente aumento acima de 100 ppm de Pbz. A redução foi ainda mais expressiva nos tratamentos com ASM em ambos os ensaios. A eficácia do ASM no controle da mancha bacteriana causada por espécies de *Xanthomonas* em plantas de tomate já foi reportada por diversos autores (Huang *et al.* 2012; Pontes *et al.*, 2016; Pontes *et al.*, 2017; Huang & Vallad, 2018). Há relatos ainda sobre a eficácia do ASM no controle da murcha bacteriana do tomateiro, evidenciando a eficácia do uso do ASM em plantas de tomate (Barretti *et al.* 2010). Estudos com outros patossistemas evidenciam a ação do ASM em uma ampla gama de patógenos e a capacidade de ativar a SAR em diferentes plantas (Graham & Myers 2011, 2013; Johnson & Temple 2016, 2017).

A redução da severidade da mancha bacteriana das plantas tratadas com Pbz está relacionada com a eliminação das EROS, bem como o aumento da atividade fotossintética. O estresse oxidativo causado pela interação planta-patógeno é um expressivo inibidor do ciclo do ácido cítrico (TCA), componente do metabolismo central das plantas (Baxter *et al.*, 2007). O aumento da assimilação de carbono resulta em maior disponibilidade de esqueletos de carbono para alimentar o ciclo do TCA, gerando maior quantidade de energia, conferindo maior tolerância ao estresse oxidativo e contribuindo para redução na severidade da doença (Pal *et al.*, 2016). Do mesmo modo, a redução na fotossíntese observada em doses superiores a 100 ppm causa menor suprimento de energia pela redução do ciclo TCA, reduzindo a capacidade da planta de lidar com o estresse oxidativo.

Nascimento *et al.* (2013) sugeriram, considerando resultados em mudas tratadas e não tratadas com Pbz em ensaios independentes de avaliação do efeito do ASM na redução da severidade da mancha bacteriana, uma possível interação sinérgica entre o Pbz e o ASM sobre essa variável. No presente estudo, em que os dois fatores foram avaliados conjuntamente no mesmo ensaio, foi detectada estatisticamente interação entre eles, o que confirma a hipótese dos referidos autores. No entanto, uma vez que aqui foram utilizados diferentes níveis de Pbz, foi possível observar ainda que,

com redução na fotossíntese, há também redução no metabolismo central das plantas, que, aliado aos possíveis distúrbios fisiológicos em doses acima de 100 ppm, pode explicar o aumento da severidade.

3.5 Conclusão

A aplicação de Pbz altera as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*. Isso promoveu maior suprimento de energia gerada pela planta pelo aumento na carboxilação, fazendo com que o sistema antioxidante das plantas fosse mais eficiente na eliminação das EROS produzidas durante a interação planta-patógeno e durante a SAR. Desse modo, o Pbz interage com o ASM e reduz a severidade da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas perforans*. As alterações causadas por doses maiores que 100 ppm podem levar também a um efeito inverso em todas as variáveis. Doses elevadas causam redução na fotossíntese e no metabolismo central, levando a aumento da severidade. A inibição da síntese das GAs causada pelo Pbz leva a uma redução do crescimento e uma produção de biomassa em plantas de tomate.

3.6 Referências Bibliográficas.

- A.M. Quezado-Duval, A.R. Nascimento, N.C. Pontes, A.W. Moita, A. Assunção, A. Golynski, A.K. Inoue-Nagata, R.T. Oliveira, Y.O. Castro, B.J. Melo, Desempenho de híbridos de tomate para processamento industrial em pressão de begomovirose e de mancha-bacteriana, *Hortic. Bras.* 32 (2014) 446–452. doi:10.1590/S0102-053620140000400012.
- A.M. Quezado-Duval, N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A.W. Moita. Metodologia de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Brasília: Embrapa. 24p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 73). 2011
- A.M. Quezado-Duval, R.P. Leite, D. Truffi, L.E.A. Camargo, Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in central-west Brazil, *Plant Dis.* 88 (2004) 157-161. doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.157.
- A.O. Martins, R.P. Omena-Garcia, F.S. Oliveira, W.A. Silva, M.R. Hajirezaei, J.G. Vallarino, D.M. Ribeiro, A.R. Fernie, A. Nunes-Nesi, W.L. Araújo, Differential root and shoot responses in the metabolism of tomato plants exhibiting reduced levels of gibberellin, *Environ. Exp. Bot.* 157 (2019) 331–343. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.10.036.
- A.R. Nascimento, P.M. Fernandes, L.L. Borges, N.C. Pontes, A.M. Quezado-Duval, Controle químico da mancha bacteriana em mudas de tomate para processamento industrial, *Biosci. J.* 29 (2013) 1878-1886.

- A. Seleguini, E. Pradi, L. Fernandes, M. de Araújo, Paclobutrazol effect on plant growth and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) production in protected environment, *Sci. Agropecu.* 7 (2016) 391–399. doi:10.17268/sci.agropecu.2016.04.04.
- A. Sofo, A. Scopa, M. Nuzzaci, A. Vitti, Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 13561–13578. doi:10.3390/ijms160613561.
- B. Genty, J.M. Briantais, N.R. Baker, The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 990 (1989) 87-92. doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
- C.A. Lopes, A.M. Quezado-Duval. Doenças bacterianas, In: C.A. Lopes, A.C. Ávila. Doenças do Tomateiro. Brasília, EMBRAPA-CNPq, Brasília, 2005, pp. 62-64.
- C.H. Foyer, A. V. Ruban, P.J. Nixon, Photosynthesis solutions to enhance productivity, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 372 (2017) 3–6. doi:10.1098/rstb.2016.0374.
- C.H. Huang, G.E. Vallad, Soil applications of acibenzolar-S-methyl induce defense gene expression in tomato plants against bacterial spot, *Eur. J. Plant Pathol.* 150 (2018) 971–981. doi:10.1007/s10658-017-1336-0.
- C.H. Huang, G.E. Vallad, S. Zhang, A. Wen, B. Balogh, J.F.L. Figueiredo, F. Behlau, J.B. Jones, M. Timur Momol, S.M. Olson, Effect of application frequency and reduced rates of Acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato, *Plant Dis.* 96 (2012) 221-227. doi:10.1094/PDIS-03-11-0183.
- C.J. Baxter, H. Redestig, N. Schauer, D. Reipsilber, K.R. Patil, J. Nielsen, J. Selbig, J. Liu, A.R. Fernie, L.J. Sweetlove, The metabolic response of heterotrophic Arabidopsis cells to oxidative stress, *Plant Physiol.* 143 (2007) 312–325. doi:10.1104/pp.106.090431.
- D.H. Greer, Photosynthetic responses to CO₂ at different leaf temperatures in leaves of apple trees (*Malus domestica*) grown in orchard conditions with different levels of soil nitrogen, *Environ. Exp. Bot.* 155 (2018) 56–65. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.06.014.
- D.M. Ribeiro, W.L. Araújo, A.R. Fernie, J.H.M. Schippers, B. Mueller-Roeber, Action of gibberellins on growth and metabolism of Arabidopsis plants associated with high concentration of carbon dioxide, *Plant Physiol.* 160 (2012) 1781–1794. doi:10.1104/pp.112.204842.
- D. Nivedithadevi, R. Somasundaram, R. Pannerselvam, Effect of abscisic acid, paclobutrazol and salicylic acid on the growth and pigment variation in *Solanum trilobatum* (L.), *Int. J. Drug Dev. Res.* 4 (2012) 236-246.
- E.R. Araújo, J.R. Costa, M.A.S.V. Ferreira, A.M. Quezado-Duval, Widespread distribution of *Xanthomonas perforans* and limited presence of *X. gardneri* in Brazil, *Plant Pathol.* 66 (2017) 159-168. doi:10.1111/ppa.12543.
- E. Stahl, P. Bellwon, S. Huber, K. Schlaeppli, F. Bernsdorff, A. Vallat-Michel, F. Mauch, J. Zeier, Regulatory and Functional Aspects of Indolic Metabolism in Plant

Systemic Acquired Resistance, *Mol. Plant.* 9 (2016) 662–681. doi:10.1016/j.molp.2016.01.005.

G.D. Farquhar, S. von Caemmerer, J.A. Berry, A Biochemical Model of Photosynthetic CO₂ Assimilation in Leaves of C3 Species, *Planta* 149 (1980) 78-90.

I. Ahmad, J.M. Dole, B.E. Whipker, Paclobutrazol or uniconazole effects on ethylene sensitivity of potted ornamental plants and plugs, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 192 (2015) 350–356. doi:10.1016/j.scienta.2015.04.032.

J.B. Jones, G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall, N.W. Schaad, Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper, *Syst. Appl. Microbiol.* 27 (2004). 755-762 doi:10.1078/0723202042369884.

J.D. Barak, T. Vancheva, P. Lefeuvre, J.B. Jones, S. Timilsina, G. V. Minsavage, G.E. Vallad, R. Koebnik, Whole-genome sequences of *Xanthomonas euvesicatoria* strains clarify taxonomy and reveal a stepwise erosion of type 3 effectors, *Front. Plant Sci.* 7 (2016). doi:10.3389/fpls.2016.01805.

J.H. Graham, M.E. Myers, Soil application of SAR inducers imidacloprid, thiamethoxam, and acibenzolar-S-methyl for citrus canker control in young grapefruit trees, *Plant Dis.* 95 (2011) 725–728. doi:10.1094/PDIS-09-10-0653.

J. Jungklang, K. Saengnil, J. Uthaibutra, Effects of water-deficit stress and paclobutrazol on growth, relative water content, electrolyte leakage, proline content and some antioxidant changes in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. cv. Chiang Mai Pink, *Saudi J. Biol. Sci.* 24 (2017) 1505–1512. doi:10.1016/j.sjbs.2015.09.017.

J. Kuai, Y. Yang, Y. Sun, G. Zhou, Q. Zuo, J. Wu, X. Ling, Paclobutrazol increases canola seed yield by enhancing lodging and pod shatter resistance in *Brassica napus* L., *F. Crop. Res.* 180 (2015) 10–20. doi:10.1016/j.fcr.2015.05.004.

K.B. Johnson, T.N. Temple, Comparison of Methods of Acibenzolar-S-Methyl Application for Post-Infection Fire Blight Suppression in Pear and Apple, *Plant Dis.* 100 (2016) 1125–1131. doi:10.1094/pdis-09-15-1062-re.

K.B. Johnson, T.N. Temple, Induction of systemic acquired resistance aids restoration of tree health in field-grown pear and apple diseased with fire blight, *Plant Dis.* 101 (2017) 1263–1268. doi:10.1094/PDIS-12-16-1772-RE.

K.K. Upreti, Y.T.N. Reddy, S.R.S. Prasad, G. V. Bindu, H.L. Jayaram, S. Rajan, Hormonal changes in response to paclobutrazol induced early flowering in mango cv. Totapuri, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. (2013). doi:10.1016/j.scienta.2012.11.030.

K.S. Silva, M.J. de A. Faria, Uso de paclobutrazol como estratégia para redução do porte e da brotação lateral de plantas de tomateiro, *Cienc. e Agrotecnologia.* 35 (2011) 539-546. doi:10.1590/S1413-70542011005000004.

L.C. van Loon, The intelligent behavior of plants, *Trends Plant Sci.* 21 (2016) 286-294 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.009>

M.A. Torres, ROS in biotic interactions, *Physiol. Plantarum* 138 (2010) 414–429 <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01326.x>.

- M.B. Shine, X. Xiao, P. Kachroo, A. Kachroo, Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens, *Plant Sci.* 279 (2019) 81–86. doi:10.1016/j.plantsci.2018.01.001.
- K. Maxwell, G.N. Johnson, Growth and chlorophyll a fluorescence in *Erythrina cristagalli* L.pdf, *J. Exp. Bot.* 51 (2000) 659–668. doi:10.1093/jxb/51.345.659.
- M. Rodriguez-Salus, Y. Bektas, M. Schroeder, C. Knoth, T. Vu, P. Roberts, I. Kaloshian, T. Eulgem, The synthetic elicitor 2-(5-Bromo-2-Hydroxy-Phenyl)-thiazolidine-4-carboxylic acid links plant immunity to hormesis1, *Plant Physiol.* 170 (2016) 444–458. doi:10.1104/pp.15.01058.
- M. Srivastav, A. Kishor, A. Dahuja, R.R. Sharma, Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.), *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 125 (2010) 785–788 doi:10.1016/j.scienta.2010.05.023.
- M. Sleiman, M. Stawinoga, S. Wang, P. de Sainte-Claire, P. Goupil, C. Richard, Photochemical transformation of the plant activator Acibenzolar-S-methyl in solution, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 333 (2017) 79–86. doi:10.1016/j.jphotochem.2016.10.016.
- M. Berova, Z. Zlatev, Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.), *Plant Growth Regul.* 30 (2000) 117–123. doi:10.1023/A:1006300326975.
- N.C. Ferreira, E.P. Vendruscolo, W.D.S. Dourado, C.G.S. Benett, A. Seleguini, A.D.R. Nascimento, Crescimento, produção e qualidade de frutos de tomateiro em cultivo adensado com uso de paclobutrazol, *Rev. Colomb. Ciências Hortícolas*. 11 (2017) 72–79. doi:10.17584/rcch.2017v11i1.5690.
- N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A. Golynski, L.A. Maffia, J.R. de Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Intervals and number of applications of Acibenzolar-S-Methyl for the control of bacterial spot on processing tomato, *Plant Dis.* 100 (2016) 2126–2133. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1286-RE>.
- N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A. Golynski, A.W. Moita, L.A. Maffia, J.R. Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Volume de aplicação e eficiência do controle químico da mancha bacteriana em tomateiro industrial, *Hortic. Bras.* 35 (2017) 371–376. doi:10.1590/S0102-053620170309.
- P.B. Barretti, R.M. Souza, E.A. Pozza, M.L.V. Resende, Effect of application methods and dosages of acibenzolar-s-methyl on protection against bacterial wilt, pathogen populations, and growth of tomato plants, *Trop. Plant Pathol.* 35 (2010) 229–235. doi:10.1590/S1982-56762010000400004.
- P.H.D. dos Santos, S.F. da Silveira, M. Vivas, B.M. Carvalho, M.G. Pereira, Alternative control to black spot disease in papaya genotypes, *Summa Phytopathol.* 43 (2017) 60–62. doi:10.1590/0100-5405/2208.

- R.D.S.S. Gomes, L.C. do Nascimento, Induction of resistance to *Colletotrichum truncatum* in lima bean, *Arq. Inst. Biol. (Sao. Paulo)*. 85 (2018) 1–7. doi:10.1590/1808-1657000022018.
- R.M. Rivero, V. Shulaev, E. Blumwald, Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit, *Plant Physiol.* 150 (2009) 1530–1540. doi:10.1104/pp.109.139378.
- S.H. Spoel, X. Dong, How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells, *Nat. Rev. Immunol.* 12 (2012) 89–100 doi:10.1038/nri3141.
- R. Thuynsma, A. Kleinert, J. Kossmann, A.J. Valentine, P.N. Hills, The effects of limiting phosphate on photosynthesis and growth of *Lotus japonicus*, *South African J. Bot.* 104 (2016) 244–248. doi:10.1016/j.sajb.2016.03.001.
- S. Landi, A. De Lillo, R. Nurcato, S. Grillo, S. Esposito, In-field study on traditional Italian tomato landraces: The constitutive activation of the ROS scavenging machinery reduces effects of drought stress, *Plant Physiol. Biochem.* 118 (2017) 150–160. doi:10.1016/j.plaphy.2017.06.011.
- S.P. Long, C.J. Bernacchi, Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error, *J. Exp. Bot.* 54 (2003) 2393–2401. doi:10.1093/jxb/erg262.
- S. Pal, J. Zhao, A. Khan, N.S. Yadav, A. Batushansky, S. Barak, B. Rewald, A. Fait, N. Lazarovitch, S. Rachmilevitch, Paclobutrazol induces tolerance in tomato to deficit irrigation through diversified effects on plant morphology, physiology and metabolism, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–13. doi:10.1038/srep39321.
- S.R. Tanis, D.G. McCullough, B.M. Cregg, Effects of paclobutrazol and fertilizer on the physiology, growth and biomass allocation of three *Fraxinus* species, *Urban For. Urban Green.* 14 (2015) 590–598. doi:10.1016/j.ufug.2015.05.011.
- S. Timilsina, S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G. V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones, M.F. Le Saux, Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al.* 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al.* 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69 (2019) 343–349. doi:10.1099/ijsem.0.003104.
- S. von Caemmerer, Biochemical models of leaf photosynthesis, CSIRO Publishing, Australia, 2000.
- T.D. Sharkey, C.J. Bernacchi, G.D. Farquhar, E.L. Singsaas, Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves, *Plant, Cell Environ.* 30 (2007) 1035–1040. doi:10.1111/j.1365-3040.2007.01710.x.
- U.I. Flügge, R.E. Häusler, F. Ludewig, K. Fischer, Functional genomics of phosphate antiport systems of plastids, *Physiol. Plant.* 118 (2003) 475–482. doi:10.1034/j.1399-3054.2003.00137.x.

- W. Bilger, O. Björkman, Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*, *Photosynth. Res.* 25 (1990) 173–185. doi:10.1007/BF00033159.
- X. dong WANG, W. shuai BI, J. GAO, X. mei YU, H. yan WANG, D. qun LIU, Systemic acquired resistance, NPR1, and pathogenesis-related genes in wheat and barley, *J. Integr. Agric.* 17 (2018) 2468–2477. doi:10.1016/S2095-3119(17)61852-5.
- Y. Bektas, M. Rodriguez-Salus, M. Schroeder, A. Gomez, I. Kaloshian, T. Eulgem, The synthetic elicitor DPMP (2,4-dichloro-6- $\{(E)-[(3\text{-methoxyphenyl)imino]methyl}\}$ phenol) triggers strong immunity in *Arabidopsis thaliana* and tomato, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–16. doi:10.1038/srep29554.
- Y. Bektas, T. Eulgem, Synthetic plant defense elicitors, *Front. Plant Sci.* 5 (2015). doi:10.3389/fpls.2014.00804.
- Y. Zhang, Y. Zhou, S. Chen, J. Liu, K. Fan, Z. Li, Z. Liu, W. Lin, Gibberellins play dual roles in response to phosphate starvation of tomato seedlings, negatively in shoots but positively in roots, *J. Plant Physiol.* 234–235 (2019) 145–153. doi:10.1016/j.jplph.2019.02.007.
- Z. Peleg, E. Blumwald, Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants, *Curr. Opin. Plant Biol.* 14 (2011) 290–295. doi:10.1016/j.pbi.2011.02.001.

4. CAPÍTULO II

Severidade da mancha bacteriana e qualidade pós-colheita em tomateiro para processamento industrial sob aplicações de Acibenzolar-S-Metil em associação com Paclobutrazol e seus efeitos fisiológicos

(Normas de acordo com a revista *Physiological and Molecular Plant Pathology*)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da aplicação em conjunto e isoladamente de Pbz e ASM nas trocas gasosas, na fluorescência da clorofila, na severidade da mancha bacteriana e na qualidade pós-colheita de frutos de tomate para processamento industrial. Foram cinco números de aplicação, com presença e ausência de Pbz. As plantas foram inoculadas e avaliadas quanto às trocas gasosas e à fluorescência da clorofila com um IRGA LI-6800, à severidade da mancha bacteriana e à qualidade pós-colheita dos frutos. O Pbz aumentou a fotossíntese das plantas, mas esse aumento não se refletiu na produtividade. Não foi observada interação entre Pbz e ASM na mancha bacteriana causada por *Xanthomonas perforans*. Os efeitos do Pbz na qualidade dos frutos ainda precisam ser mais bem investigados.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, indução de resistência, fotossíntese, fluorescência da clorofila

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of t applying Pbz and ASM together and in isolation on gas exchange, chlorophyll fluorescence, bacterial spot severity and postharvest quality of tomato fruits for industrial processing. Five applications with and without Pbz were carried out. Plants were inoculated and evaluated for gas exchange and chlorophyll fluorescence with an IRGA LI-6800, bacterial spot severity and postharvest quality of fruits. Pbz increased plant photosynthesis, although this increase was not reflected in yield. No interaction was observed between Pbz and ASM in the bacterial spot caused by *Xanthomonas perforans*. The effects of Pbz on fruit quality have yet to be further investigated.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas*, resistance induction, photosynthesis, chlorophyll fluorescence

4.1 Introdução

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda hortaliça mais cultivada do mundo, uma cultura muito importante para a segurança alimentar em razão do seu volume de produção e versatilidade de consumo (Van den Broeck & Maertens, 2016; Jorge *et al.*, 2017; FAO 2017). A demanda por parte do mercado consumidor de produtos derivados promoveu um crescimento expressivo do cultivo para processamento industrial (Melo e Fonte, 2011). No entanto, para suprir essas demandas, a tomaticultura irá enfrentar no futuro desafios como aumento na temperatura e redução da precipitação, aumentando a dependência da irrigação (Marengo *et al.*, 2017; Borjas-Ventura *et al.*, 2019).

A irrigação é feita principalmente por aspersão que, aliada a altas temperaturas, pode favorecer a ocorrência de doenças, um problema atual responsável por perdas expressivas (Quezado-Duval *et al.*, 2004; Quezado-Duval *et al.*, 2013; Rodriguez-Salus *et al.*, 2016). Das doenças que comprometem o cultivo de tomate para processamento industrial, a mais destrutiva e, conseqüentemente, a mais limitante à produção é a mancha bacteriana (Quezado-Duval *et al.*, 2013). A doença está associada a diversas espécies de *Xanthomonas* como *X. euvesicatoria*, *X. perforans*, *X. vesicatoria* e *X. gardneri*, todas encontradas no Brasil, prevalecendo a ocorrência de *X. perforans* (Jones *et al.*, 2004; Quezado-Duval *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2017). Estudos envolvendo sequenciamento de genomas completos reclassificaram a *X. gardneri* como *X. cynarae* pv. *gardneri* (Timilsina *et al.*, 2018) e *X. perforans* foi considerada como pertencente à espécie *X. euvesicatoria* (Barak *et al.*, 2016).

A mancha bacteriana causa destruição da área foliar, afetando a fotossíntese, reduzindo a produtividade (Lopes & Quezado-Duval, 2005; Nascimento *et al.*, 2013). A necrose foliar expõe ainda os frutos ao sol, causando danos por escaldadura, afetando diretamente as indústrias, uma vez que a qualidade do produto final depende da qualidade da matéria-prima (Lopes & Quezado-Duval, 2005; Schwarz *et al.*, 2013). Deste modo, a busca por híbridos resistentes à mancha bacteriana é uma das principais demandas dos agricultores (Quezado-Duval *et al.*, 2014). Apesar de evidente a necessidade, ainda não há híbridos completamente resistentes à doença no Brasil, assim, o uso de materiais com resistência quantitativa e o manejo com fungicidas

cúpricos têm sido a principal estratégia para manejo da doença (Quezado-Duval *et al.*, 2014; Pontes *et al.*, 2017).

O manejo tradicional, no entanto, levanta preocupações acerca de potenciais perigos à saúde e ao meio ambiente, além da possibilidade do surgimento de populações resistentes (Mirik *et al.*, 2007; Pimentel & Pimentel, 2008). Uma opção ao manejo tradicional é o uso do Acibenzolar-S-Metil (ASM), um indutor de resistência sistêmica adquirida (SAR) análogo ao ácido salicílico, porém mais eficiente e menos fitotóxico (Bektas & Eugem, 2015; Shine *et al.*, 2019; Tripathi *et al.*, 2019). A SAR é um estado fisiológico induzível que protege a planta contra um amplo espectro de fitopatógenos (van Loon, 2016; Sleiman *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018).

A SAR está, no entanto, associada a perturbações na fotossíntese e há relatos de redução na produtividade com aplicações frequentes de ASM, mesmo com redução na severidade da doença (Pontes *et al.*, 2016; Shine *et al.*, 2019). Isso ocorre porque a ativação da SAR está associada ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Baxter *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). Para que não haja estresse oxidativo, um nível não tóxico de EROS deve ser mantido, o que depende de um balanço entre a produção e a eliminação das EROS (Mittler *et al.*, 2004). Melhorar a eficiência do sistema antioxidativo das plantas pode mitigar esses efeitos negativos causados por aplicações frequentes de ASM.

O uso de fitoreguladores emergiu como uma abordagem alternativa para manipular características fisiológicas sem alterar sua composição genética (Srivastav *et al.*, 2010; Peleg & Blumwald, 2011; Upreti *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2016). O Paclobutrazol (Pbz) é um regulador de crescimento do grupo dos triazóis, que aumenta a eficiência do sistema antioxidante das plantas e reduz o estresse oxidativo em plantas de tomate (Pal *et al.*, 2016).

O Pbz bloqueia reações de oxidação na passagem de ent-caureno para ácido ent-caurenoico, inibindo a biossíntese de giberelina (Upreti *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2016). O Pbz aumenta a fotossíntese em plantas de tomate, e estudos mostram um possível sinergismo entre o ASM e o Pbz no controle de doenças em tomateiro (Nascimento *et al.*, 2013; Pal *et al.*, 2016). Com isso, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da aplicação em conjunto e isoladamente de Pbz e ASM nas trocas gasosas, na fluorescência da clorofila *a*, na severidade da mancha bacteriana causada

por *Xanthomonas perforans* em plantas de tomate para processamento industrial cultivadas em campo, bem como na produtividade e nas características físico-químicas dos frutos produzidos.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Condições experimentais e material vegetal

Foram conduzidos dois ensaios em campo na área experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos. O primeiro ensaio foi conduzido do período de 24 de maio a 25 de setembro de 2018 e o segundo, de 21 de março a 02 de julho de 2019. Foram utilizadas sementes do híbrido H9553, obtidas no viveiro Mudas Brambilla. O espaçamento utilizado no primeiro ensaio foi de 1,0 m entre linhas e 0,33 m entre plantas; no segundo, o espaçamento entre linhas utilizado foi de 0,8 m. Ambos os ensaios foram instalados em 3 linhas simples e cada parcela teve 5 metros de comprimento. A linha central foi a parcela útil de onde foram tomados todos os dados dos ensaios.

4.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Foram estabelecidos cinco tratamentos de ASM e dois de Pbz em um delineamento de blocos ao caso com quatro repetições. Os tratamentos de ASM foram número de aplicações (NAp): Controle (0), 7, 8, 10, 12, com presença (PP) e ausência (PA) de Pbz, totalizando 40 parcelas experimentais. As aplicações de ASM (Bion®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.) foram semanais, iniciadas aos 7 dias após o plantio das mudas (DAP) e finalizadas aos 91 DAP. O Pbz (Cultar®, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.) foi aplicado aos 15 DAP com um volume de 200 L ha⁻¹ e aos 75 DAP em um volume de calda de 300 L ha⁻¹ e concentração de 120ppm. O equipamento utilizado para as aplicações foi um pulverizador costal pressurizado com CO₂ (HB PES 003, Herbicat, Catanduva, SP, Brasil), com uma pressão de 31 lbf/pol² e barra de 3,0 m de comprimento.

4.2.3 Obtenção do inóculo e inoculação

No primeiro ensaio, as plantas foram inoculadas aos 30 DAP e novamente aos 82 DAP para garantir o estabelecimento da epidemia. Foi utilizado o isolado de *Xanthomonas perforans* (EH 2012-22), proveniente da coleção de bactérias

fitopatogênicas da Embrapa Hortaliças. No segundo ensaio, as inoculações ocorreram aos 40 DAP aos 63 DAP. A suspensão bacteriana foi preparada na concentração aproximada de 5×10^7 u.f.c. mL⁻¹ (1:10, A₆₀₀ = 0,3). Para a inoculação, as plantas foram pulverizadas com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado com CO₂ (HB PES 003, Herbicat, Catanduva, SP, Brasil), na pressão de 31 lbf/pol² as 17:30 h.

4.2.4 Avaliação das trocas gasosas das folhas

As avaliações de trocas gasosas foram feitas aos 20, 80 e 96 dias após o plantio das mudas, entre 08h30 e 12h00. A primeira e a segunda avaliações foram feitas após as respectivas aplicações de Pbz, e a terceira, após a última aplicação de ASM. Para as medições, foi utilizado o primeiro folíolo de folhas completamente expandidas do terço médio, representativas da parcela em altura, área foliar e severidade da doença. Para as avaliações, foi utilizado um analisador gasoso no infravermelho (IRGA) de sistema aberto (LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) equipado com uma câmara de fluorescência integrada com um fluorômetro multifase (MPF) (LI-6800-01, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA).

Durante as medições, foi utilizada uma densidade constante de fluxo de fótons de $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz actínica. A fonte de luz utilizada foi a luz do MPF. A umidade relativa dentro da câmara foi mantida em 50%, e a concentração de CO₂, em $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. A temperatura do ar dentro da câmara foi monitorada com um sensor par termoeletrônico localizado na parte inferior da câmara e mantida em 25 °C. As plantas foram avaliadas quanto à transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e quanto à relação entre concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a). Foi calculada também a eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) (Equação 1).

$$(1) \text{ WUE} = A/E$$

4.2.5 Avaliação da fluorescência da clorofila *a*

As medições ocorreram no mesmo dia das análises de trocas gasosas das folhas, utilizando o MPF da câmara LI-6800-01 do IRGA. As plantas foram submetidas a um flash de luz saturante ($8.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para determinar a fluorescência máxima na luz (F_m') e os valores da fluorescência no steady-state (F_s). Com os valores

de F_m' e F_s , foi determinado o rendimento quântico efetivo do fotossistema 2 (PSII), Φ_{PSII} (Equação 2).

$$(2) \Phi_{PSII} = F_m' - F_s / F_m'$$

Tendo como referência os dados de Φ_{PSII} , foi então calculada a taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Equação 3).

$$(3) \text{ETR} = \Phi_{PSII} \times Q_{\text{abs}} \times 0.5$$

em que Q_{abs} é o valor obtido pelo MPF da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos absorvidos pela planta e 0.5 é um fator de conta para a partição de energia entre o PSII e o PSI. Logo em seguida, foi emitido um pulso de luz vermelho distante (735 nm) (dark pulse) para excitar preferencialmente o fotossistema 1 (PSI) e drenar os elétrons do (PSII) (Figura 1).

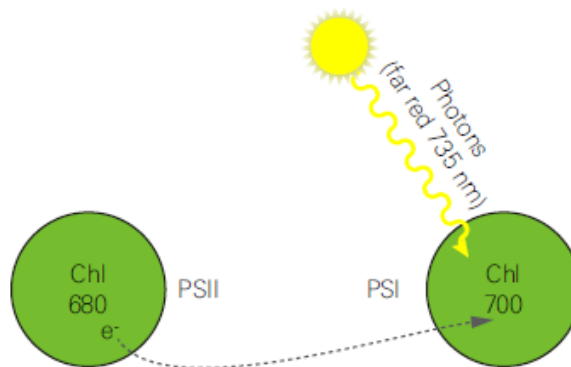


Figura 1. Pulso de luz vermelho distante (Dark Pulse) drenando elétrons do PSI para o PSII.

Assim, foi determinada a fluorescência mínima no escuro de uma planta adaptada à luz (F_o') e foi possível calcular o quenching fotoquímico (qP), um indicador da proporção de centros de reação do PSII que estão abertos (Equação 4).

$$(4) qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$$

4.2.6 Determinação da severidade da doença

A eficiência dos tratamentos no controle da mancha bacteriana foi determinada com base nos dados de severidade da doença, estimada com escala de notas de 1 a 10 de níveis progressivos de severidade em conjunto com plantas da parcela (Quezado-Duval (2011) (Figura 2). As avaliações foram feitas semanalmente após o estabelecimento da doença na área experimental. Foram feitas 6 avaliações aos 7 dias após a inoculação. Os

dados foram utilizados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).



Figura 2. Escala de severidade da mancha bacteriana em plantas de tomate rasteiro (Quezado-Duval, 2011).

4.2.7 Avaliação da produtividade e da qualidade pós-colheita

Os ensaios foram finalizados quando a maioria dos frutos alcançaram a maturidade fisiológica. Os ensaios 1 e 2 foram colhidos aos 124 e 103 dias após o plantio, respectivamente. Foram colhidos todos os frutos de três plantas localizadas na região central da parcela útil. As mesmas plantas de onde os frutos foram colhidos foram retiradas e acondicionadas em caixas de plástico, que foram levadas para o laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita para serem analisadas. No laboratório, as plantas foram avaliadas quanto ao número de cachos e ao número de frutos.

Os frutos foram classificados manualmente quanto à maturação, segundo padrões estabelecidos pelo MAPA, Portaria nº 278, de 1988, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e pesados. Os frutos considerados bons foram aqueles completamente vermelhos e os frutos apresentando algum tipo de descoloração foram classificados com descoloridos. Os frutos foram classificados também em verdes (imaturos), podres e danificados. Após lavados em água deionizada, os frutos foram avaliados quanto ao comprimento e diâmetro com um paquímetro digital (Digimess, 100.174BL, Mooca, SP). Em seguida, foi avaliada a quantidade de sólidos solúveis (SS) com um refratômetro digital (Instrutherm, RTDS-28, São Paulo, SP, Brasil), os valores

foram expressos em °Brix, pH por meio de um pHmetro de bancada e a acidez titulável foi obtida por titulometria de neutralização (AOAC, 2010).

4.2.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de variância (ANOVA) e tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e, quando necessário, submetidas à análise de regressão. As análises foram feitas utilizando o software Sisvar v5.6 (Ferreira, 2014).

4.3 Resultados

4.3.1 Trocas gasosas das folhas

Na primeira avaliação de trocas gasosas, houve efeito significativo da aplicação de Pbz para a fotossíntese em ambos os ensaios. No primeiro ensaio, é possível observar também significância do Pbz para eficiência do uso da água (Tabela 1). A fotossíntese e a eficiência do uso da água das plantas tratadas com Pbz (PP) foram maiores quando comparadas às plantas não tratadas (PA).

Tabela 1. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 1, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	E	A	g_s	C_i/C_a	WUE
Pbz	1	3,30 ^{NS}	148,69*	0,10 ^{NS}	0,0002 ^{NS}	0,44*
NAp	1	29,62 ^{NS}	32,08 ^{NS}	0,15 ^{NS}	0,0029 ^{NS}	0,25 ^{NS}
Pbz*NAp	1	0,91 ^{NS}	25,60 ^{NS}	0,002 ^{NS}	0,0006 ^{NS}	0,02 ^{NS}
Bloco	3	16,54 ^{NS}	10,28 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0,0061*	0,41*
Resíduo	33	7,72	19,81	0,06	0,001	0,10
CV (%)		20,23	14,82	27,66	5,22	14,62
Ensaio 2						
Pbz	1	4,42 ^{NS}	79,83*	0,06 ^{NS}	0,000004 ^{NS}	0,077 ^{NS}
NAp	1	0,41 ^{NS}	2,92 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,000072 ^{NS}	0,002 ^{NS}
Pbz*NAp	1	1,65 ^{NS}	0,89 ^{NS}	0,000008 ^{NS}	0,000048 ^{NS}	0,025 ^{NS}

Bloco	3	3,56 ^{NS}	3,88 ^{NS}	0,0084 ^{NS}	0,000372 ^{NS}	0,007 ^{NS}
Resíduo	33	1,43 ^{NS}	12,69 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,000231 ^{NS}	0,030 ^{NS}
CV (%)		6,14	10,37	11,15	1,76	9,98

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Tabela 2. Valores médios de fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 1, Ensaios 1 e 2).

Pbz	Ensaio 1		Ensaio 2	
	Fotossíntese	WUE	Fotossíntese	WUE
PP	32,01a	2,35a	35,76a	1,80a
PA	28,16b	2,14b	32,94b	1,72a

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre linhas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Na segunda avaliação, não foi observado efeito em nenhuma das características avaliadas para nenhum dos fatores. O comportamento foi o mesmo em ambos os ensaios (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância de aplicações de ASM e Pbz na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relação entre concentração a interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 2, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	E	A	gs	C_i/C_a	WUE
Pbz	1	6,85 ^{NS}	28,78 ^{NS}	0,028 ^{NS}	0,000001 ^{NS}	0,009 ^{NS}
NAp	4	3,15 ^{NS}	8,09 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,0019 ^{NS}	0,231 ^{NS}
Pbz*NAp	4	4,31 ^{NS}	13,48 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,0010 ^{NS}	0,130 ^{NS}
Bloco	3	17,73 ^{NS}	18,93 ^{NS}	0,11 ^{NS}	0,002 ^{NS}	0,720 ^{NS}
Resíduo	27	3,59	37,05	0,03	0,001	0,195
CV (%)		17,40	20,75	25,64	4,88	16,16
Ensaio 2						
Pbz	1	0,69 ^{NS}	24,14 ^{NS}	0,00004 ^{NS}	0,0034 ^{NS}	0,35 ^{NS}
NAp	4	24,29 ^{NS}	80,76 ^{NS}	0,150 ^{NS}	0,0016 ^{NS}	0,10 ^{NS}
Pbz*NAp	4	7,33 ^{NS}	41,53 ^{NS}	0,031 ^{NS}	0,0049 ^{NS}	0,81 ^{NS}
Bloco	3	7,55 ^{NS}	8,66 ^{NS}	0,36 ^{NS}	0,0040 ^{NS}	0,54 ^{NS}

Resíduo	27	7,78 ^{NS}	36,28 ^{NS}	0,40 ^{NS}	0,0027 ^{NS}	0,30 ^{NS}
CV (%)		34,74	32,15	40,68	6,69	22,68

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Conforme apresentado na Tabela 4, na terceira avaliação, foi detectado efeito significativo da aplicação de Pbz para fotossíntese em ambos os ensaios e também do fator ASM no primeiro ensaio. No segundo ensaio, houve também significância para condutância estomática e para eficiência do uso da água. Não foram detectados efeitos da interação entre os fatores Pbz e Nap.

Tabela 4. Resumo da análise de variância de aplicações de ASM e Pbz na transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relação entre concentração a interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) de folhas de tomate para processamento industrial (Avaliação 3, Ensaios 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	E	A	g_s	C_i/C_a	WUE
Pbz	1	10,68 ^{NS}	212,93*	0,026 ^{NS}	0,00007 ^{NS}	1,61 ^{NS}
Nap	4	1,04 ^{NS}	137,35*	0,004 ^{NS}	0,00767 ^{NS}	2,94 ^{NS}
Pbz*Nap	4	10,17 ^{NS}	44,84 ^{NS}	0,042 ^{NS}	0,00457 ^{NS}	11,76 ^{NS}
Bloco	3	6,24 ^{NS}	24,77 ^{NS}	0,030 ^{NS}	0,00571 ^{NS}	2,38 ^{NS}
Resíduo	27	17,96	49,75	0,065	0,00402	7,41
CV (%)		62,36	36,86	68,42	9,03	69,31
Ensaio 2						
Pbz	1	45,41*	430,35*	0,14*	0,001 ^{NS}	1,02*
Nap	4	3,78 ^{NS}	43,53 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,002 ^{NS}	0,20 ^{NS}
Pbz*Nap	4	3,38 ^{NS}	44,77 ^{NS}	0,009 ^{NS}	0,004 ^{NS}	0,70 ^{NS}
Bloco	3	1,22 ^{NS}	0,33 ^{NS}	0,006 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,39 ^{NS}
Resíduo	27	7,03	41,27	0,02	0,001	0,19
CV (%)		52,13	48,97	63,69	5,82	17,32

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Em ambos os ensaios, as médias de fotossíntese das plantas tratadas com Pbz foram maiores. No segundo ensaio, a condutância estomática e a eficiência do uso da água também foi maior nas plantas tratadas com Pbz (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) (Avaliação 3).

Pbz	Ensaio 1				Ensaio 2			
	E	A	g_s	WUE	E	A	g_s	WUE
PP	7,31a	21,441a	0,40a	3,72a	6,15a	16,39a	0,32a	2,73a
PA	6,27a	16,83b	0,39a	4,12a	4,02b	9,83b	0,20b	2,41b

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre linhas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A análise de regressão para o fator ASM (Ensaio 1, Avaliação 3) revelou redução na taxa fotossintética das plantas estimada a partir de sete aplicações de ASM (Figura 4).

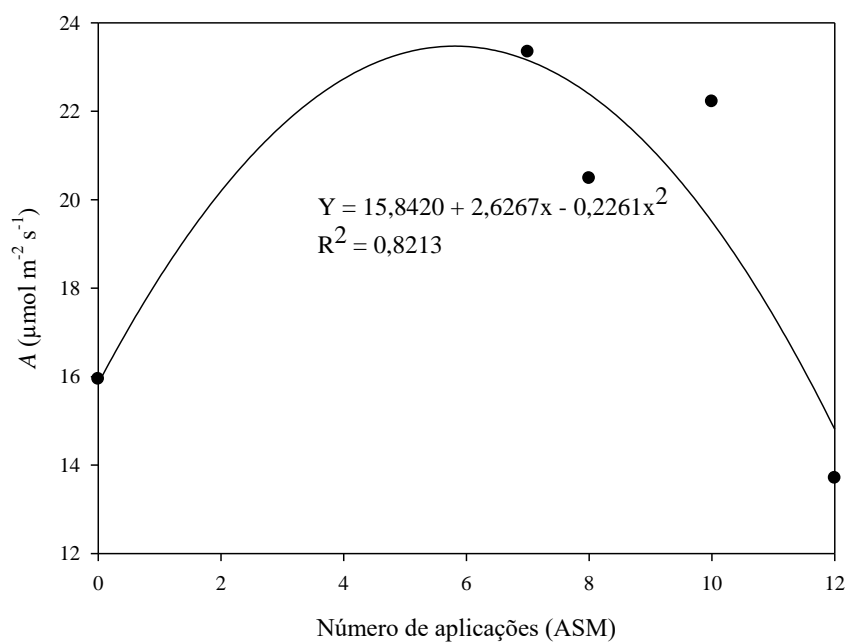


Figura 4. Efeitos do número de aplicações de ASM (0, 7, 8, 9, 10 e 12) na fotossíntese líquida de plantas de tomate para processamento industrial (Ensaio 1, Avaliação 3).

4.3.2 Fluorescência da clorofila *a*

Na terceira avaliação do segundo ensaio, é possível observar efeito significativo da aplicação de Pbz para todas as variáveis analisadas. Nas demais avaliações em ambos os ensaios, não houve efeito significativo para nenhuma das características avaliadas (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância de aplicações de ASM e Pbz na taxa de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência quântica do fotossistema II (ΦPSII) e quenching fotoquímico (qP) (Ensaio 1 e 2).

Quadrados Médios							
Causas da Variação	Ensaio 1				Ensaio 2		
	Avaliação 1						
	GL	ETR	ΦPSII	qP	ETR	ΦPSII	qP
Pbz	1	2336,80 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,0027 ^{NS}	1323,78 ^{NS}	0,00049 ^{NS}	0,00119 ^{NS}
NAp	1	1397,62 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,0012 ^{NS}	137,59 ^{NS}	0,00059 ^{NS}	0,00098 ^{NS}
Pbz*NAp	1	155,54 ^{NS}	0,0002 ^{NS}	0,0022 ^{NS}	172,39 ^{NS}	0,00002 ^{NS}	0,00007 ^{NS}
Bloco	3	216,67 ^{NS}	0,0003 ^{NS}	0,0018 ^{NS}	506,23 ^{NS}	0,00112 ^{NS}	0,00220 ^{NS}
Resíduo	33	692,57	0,0009	0,0017	617,11	0,00099	0,00248
CV (%)		11,93	11,93	8,62	13,54	14,74	12,92
Avaliação 2							
Pbz	1	216,78 ^{NS}	0,0003 ^{NS}	0,0016 ^{NS}	1341,52 ^{NS}	0,0018 ^{NS}	0,0087 ^{NS}
NAp	4	553,19 ^{NS}	0,0007 ^{NS}	0,0036 ^{NS}	891,34 ^{NS}	0,0012 ^{NS}	0,0030 ^{NS}
Pbz*NAp	4	212,41 ^{NS}	0,0003 ^{NS}	0,0009 ^{NS}	1407,15 ^{NS}	0,0019 ^{NS}	0,0095 ^{NS}
Bloco	3	27,81 ^{NS}	0,0004 ^{NS}	0,0001 ^{NS}	1377,59 ^{NS}	0,0019 ^{NS}	0,0091 ^{NS}
Resíduo	27	1779,05	0,0025	0,006	1361,54	0,0019	0,0083
CV (%)		22,21	22,21	19,25	31,33	31,33	32,86
Avaliação 3							
Pbz	1	5769,12 ^{NS}	0,008 ^{NS}	0,020 ^{NS}	19819*	0,027*	0,11*
NAp	4	4896,56 ^{NS}	0,006 ^{NS}	0,016 ^{NS}	2667 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,01 ^{NS}
Pbz*NAp	4	364,04 ^{NS}	0,005 ^{NS}	0,013 ^{NS}	2671 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,01 ^{NS}
Bloco	3	1332,31 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,010 ^{NS}	250 ^{NS}	0,003 ^{NS}	0,001 ^{NS}
Resíduo	27	2768,30	0,003	0,019	1595	0,002	0,008
CV (%)		37,91	37,90	59,17	38,35	38,35	37,09

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

4.3.3 Severidade da doença

No primeiro ensaio, houve efeito apenas para número de aplicações de ASM na Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Já no segundo ensaio, não foi observado efeito para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 7).

Tabela 7. Resumo da análise de variância de aplicações de ASM e Pbz na Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (Ensaio 1 e 2).

		Quadrados Médios	
		Ensaio 1	Ensaio2
Avaliação	GL	AACPD	AACPD
Pbz	1	1925,15 ^{NS}	2496,40 ^{NS}
NAp	4	2202,22*	1515,14 ^{NS}
Pbz*NAp	4	1055,43 ^{NS}	1178,88 ^{NS}
Bloco	3	7255,52 ^{NS}	1627,24 ^{NS}
Resíduo	27	633,02	2346,53
CV (%)		31,46	25,25

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

O número de aplicações reduziu consideravelmente os valores obtidos da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (Figura 6).

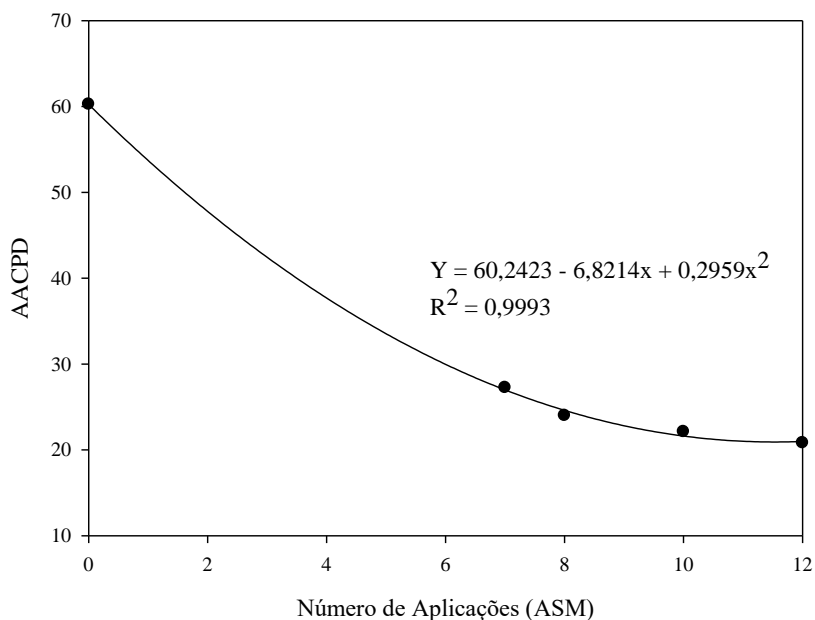


Figura 6. Efeitos do número de aplicações de ASM (0, 7, 8, 9, 10 e 12) na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Ensaio 1).

4.3.4 Produtividade e Qualidade pós-colheita dos frutos

No primeiro ensaio, foi observado efeito significativo da aplicação de Pbz e ASM e da sua interação apenas para teor de sólidos solúveis (SS). No segundo ensaio, houve efeito significativo do Pbz no SS e do número de aplicações de ASM no comprimento dos frutos (CF) (Tabela 8).

Tabela 8. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz no pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), diâmetro dos frutos (DF) e comprimento de frutos (CF). (Ensaio 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios					
	Ensaio 1					
	GL	pH	SS	AT	DF	CF
Pbz	1	0,001 ^{NS}	1,89 ^{**}	1,76 [*]	0,01 ^{NS}	1,06 ^{NS}
Nap	4	0,014 ^{NS}	0,26 ^{**}	0,36 ^{NS}	5,84 ^{NS}	11,20 ^{NS}
Pbz*Nap	4	0,014 ^{NS}	0,29 ^{**}	0,019 ^{NS}	1,74 ^{NS}	3,85 ^{NS}
Bloco	3	0,032 ^{NS}	0,12 ^{NS}	2,53 ^{NS}	24,42 [*]	68,87 ^{NS}
Resíduo	27	0,010	0,06	0,35	5,74	7,98
CV (%)		2,34	5,81	12,53	5,23	5,22
Ensaio 2						
Pbz	1	0,020 ^{NS}	2,16 [*]	0,02 ^{NS}	9,53 ^{NS}	6,04 ^{NS}
Nap	4	0,021 ^{NS}	0,08 ^{NS}	0,10 ^{NS}	6,39 ^{NS}	18,99 [*]
Pbz*Nap	4	0,019 ^{NS}	0,64 ^{NS}	0,07 ^{NS}	10,75 ^{NS}	6,73 ^{NS}
Bloco	3	0,058 ^{NS}	0,24 ^{NS}	0,41 ^{NS}	13,40 ^{NS}	19,27 ^{NS}
Resíduo	27	0,016	0,29	0,12	4,69	6,68
CV (%)		2,76	17,23	11,10	4,70	4,79

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

No primeiro ensaio, os frutos tratados com Pbz apresentaram aumento significativo nos valores de SS. Os valores de acidez titulável foram menores nas plantas tratadas com Pbz. No entanto, no segundo ensaio, o SS das plantas tratadas com Pbz foi menor (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios no desdobramento dos fatores para as variáveis sólidos solúveis e acidez titulável de frutos de tomate para processamento industrial (Ensaio 1 e 2).

Característica avaliada	Número de aplicações de ASM						Média
	Ensaio 1						
	Pbz	0	7	8	10	12	
Sólidos solúveis	PP	4,02a	4,50b	4,45a	4,47b	5,02b	4,49
	PA	3,95a	4,10a	4,25a	4,05a	3,95a	4,06
DMS: 0,36 CV: 5,58%	Média:	3,98	4,30	4,35	4,26	4,48	4,27
Acidez titulável	PP	4,57	4,27	4,75	4,50	4,75	4,57b
	PA	5,32	4,55	4,80	5,25	5,02	4,99a
DMS: 0,38 CV: 12,53%	Média:	4,95	4,12	4,77	4,87	4,88	4,78
Ensaio 2							
Sólidos solúveis	PP	2,35	2,85	3,07	3,12	3,20	2,92b
	PA	3,67	3,60	3,25	3,07	3,35	3,85a
DMS: 0,35 CV: 17,23%	Média:	3,01	3,22	3,15	3,10	3,27	3,15

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F. DMS - Diferença Mínima Significativa; CV - Coeficiente de Variação

No primeiro ensaio, foram significativos os efeitos do PBz para número de cachos (NC), porcentagem de frutos bons (FB) e porcentagem de frutos descoloridos (FD) e da interação Pbz vs Nap para porcentagem de frutos verdes (PV). Para o fator número de aplicações de ASM, foram significativos o efeito do número de frutos, a porcentagem de frutos bons e a porcentagem de frutos podres. No segundo ensaio, houve apenas significância para o fator Nap e para as variáveis FB e FP (Tabela 10).

Tabela 10. Resumo da Análise de Variância de aplicações de ASM e Pbz no número de cachos (NC), número de frutos (NF), produtividade (PDT), porcentagem de frutos bons (FB), porcentagem de frutos descolorados (FD), porcentagem de frutos verdes (PV) e porcentagem de frutos podres (FP). (Ensaio 1 e 2).

Causas da Variação	Quadrados Médios							
	Ensaio 1							
	GL	NC	NF	PDT	FB	FD	PV	FP
Pbz	1	123,66*	409,6 ^{NS}	3,19 ^{NS}	1438,32**	490,60*	38,89 ^{NS}	90,99 ^{NS}
Nap	4	35,95 ^{NS}	14978,46**	9,61 ^{NS}	341,23*	49,51 ^{NS}	35,19 ^{NS}	413,59**
Pbz*Nap	4	11,84 ^{NS}	2070,53 ^{NS}	1,35 ^{NS}	97,64 ^{NS}	26,78 ^{NS}	74,54**	194,98*
Bloco	3	203,77**	2182,96 ^{NS}	2,18 ^{NS}	770,03**	103,34 ^{NS}	66,32**	155,03*
Resíduo	27	24,72	1552,09	5,12	83,87	60,51	14,00	52,34
CV (%)		26,18	22,40	44,99	25,66	21,26	51,95	35,26
Ensaio 2								

Pbz	1	0,54 ^{NS}	115,60 ^{NS}	0,03 ^{NS}	82,42 ^{NS}	0,74 ^{NS}	0,15 ^{NS}	91,19 ^{NS}
Nap	4	2,59 ^{NS}	297,31 ^{NS}	2,52 ^{NS}	408,16 ^{**}	66,45 ^{NS}	23,41 ^{NS}	187,23 [*]
Pbz*Nap	4	5,45 ^{NS}	412,28 ^{NS}	1,20 ^{NS}	18,42 ^{NS}	22,83 ^{NS}	8,32 ^{NS}	17,98 ^{NS}
Bloco	3	24,15 ^{NS}	1612,86 ^{NS}	8,96 [*]	66,90 ^{NS}	58,82 ^{NS}	145,79 [*]	316,22 ^{NS}
Resíduo	27	8,41	1075,01	2,04	56,84	45,95	16,32	50,98
CV (%)		19,49	18,42	21,14	20,25	15,59	52,70	61,45

CV – Coeficiente de variação; GL - Graus de Liberdade; NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F.

Houve redução no número de cachos no primeiro ensaio em plantas tratadas com Pbz. Foram observados também maior porcentagem de frutos bons e menor de frutos descoloridos. Analisando o desdobramento entre os fatores Nap e Pbz, observa-se que as plantas com 10 aplicações tratadas com Pbz apresentaram redução no número de frutos verdes e podres (Tabela 11).

Tabela 11. Variáveis de qualidade pós-colheita de frutos de tomate para processamento industrial (Ensaio 1).

Característica avaliada	Número de aplicações de ASM						Média
	Pbz	0	7	8	10	12	
Número de cachos	PP	13,25	18,50	18,58	18,33	17,50	17,23b
	PA	17,83	22,49	20,16	19,00	24,25	20,74a
DMS: 3,22 CV: 26,18%	Média:	15,54	20,49	19,37	18,66	20,87	18,99 ^{NS}
Frutos bons (%)	PP	34,64	42,70	43,10	50,06	37,93	41,68a
	PA	14,66	37,18	32,54	31,49	32,59	29,69b
DMS: 5,94 CV: 25,66%	Média:	24,65	39,94	37,82	40,78	35,26	35,69 [*]
Frutos descolorados (%)	PP	35,78	33,61	31,18	29,35	35,46	33,08a
	PA	38,78	36,72	41,68	38,05	45,17	40,08b
DMS: 5,04 CV: 21,26%	Média:	37,28	35,17	36,43	33,70	40,31	36,58 ^{NS}
Frutos verdes (%)	PP	5,97a	6,61a	7,55a	3,50a	7,43a	6,21
	PA	4,03a	3,37a	8,47a	15,74b	9,32a	8,18
DMS: 5,42 CV: 51,95%	Média:	5,00	4,99	8,01	9,62	8,37	7,20
Frutos podres (%)	PP	23,59a	17,06a	18,15a	17,07a	19,17a	19,01
	PA	42,51b	22,71a	17,29a	14,70a	12,91a	22,02
DMS: 10,49 CV: 35,26%	Média:	33,05	19,88	17,72	15,89	16,04	20,50

Para cada característica avaliada, letras diferentes entre colunas em cada ensaio indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). NS - Não significativo; ** - Significativo ao nível a 1%; * - Significativo a 5% pelo teste F. DMS - Diferença Mínima Significativa; CV - Coeficiente de Variação

No primeiro ensaio, o número de frutos, a porcentagem de frutos bons e verdes e o teor de sólidos solúveis dos frutos aumentaram em função do número de aplicações. A porcentagem de frutos podres foi consideravelmente reduzida em função do número de aplicações de ASM (Figura 7).

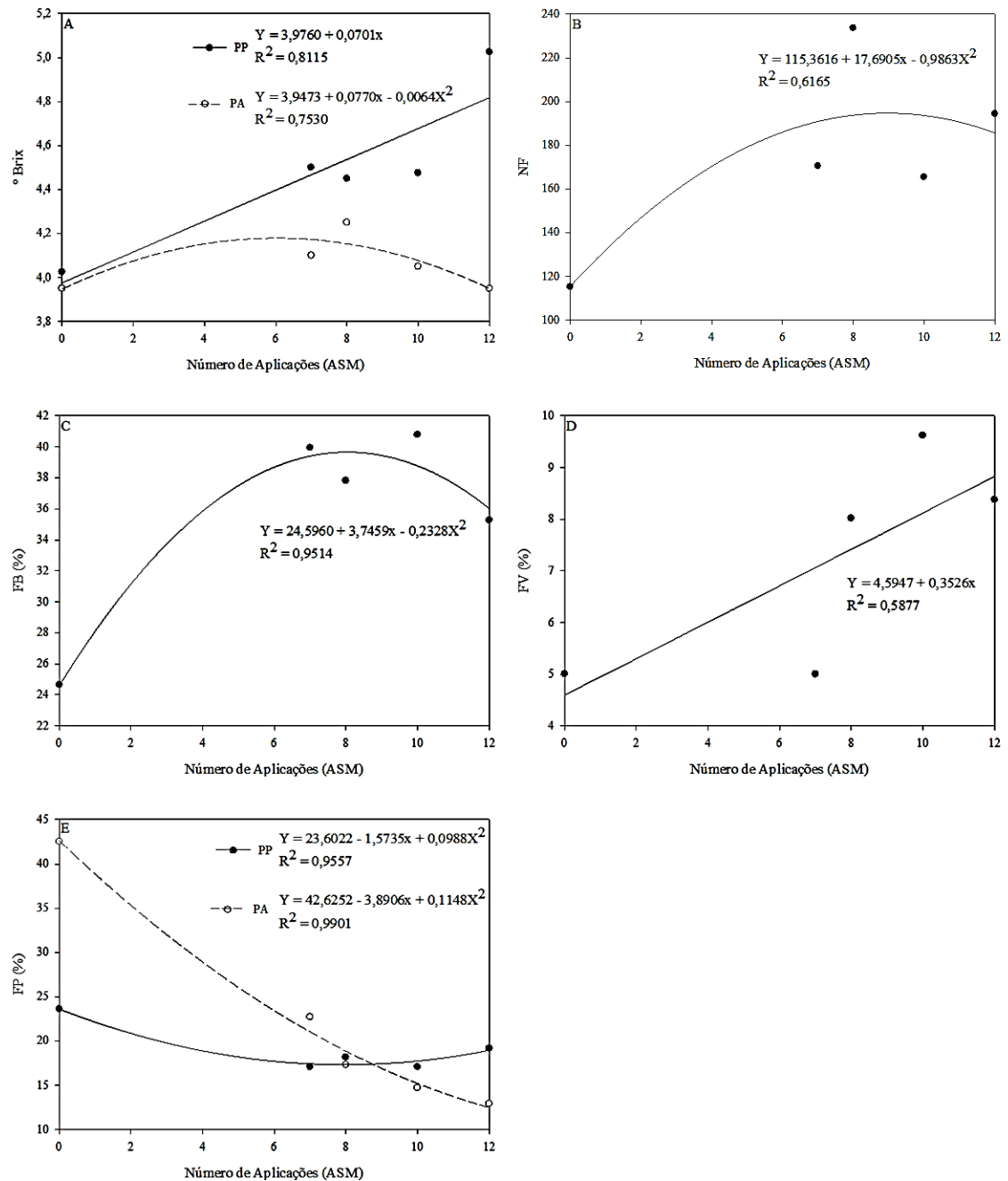


Figura 7. Efeitos do número de aplicações de ASM (0, 7, 8, 9, 10 e 12) e Pbz (com Pbz PP e sem Pbz PA) no teor de sólidos solúveis (A), número de frutos (B), porcentagem de frutos bons (C), porcentagem de frutos verdes (D) e porcentagem de frutos podres (E) (Ensaio 1).

No ensaio 2, o número de aplicações de ASM também aumentou o comprimento dos frutos produzidos. Foram observados aumento no SS e na porcentagem de frutos bons também bem como redução na porcentagem de frutos podres em função de doses (Figura 8)

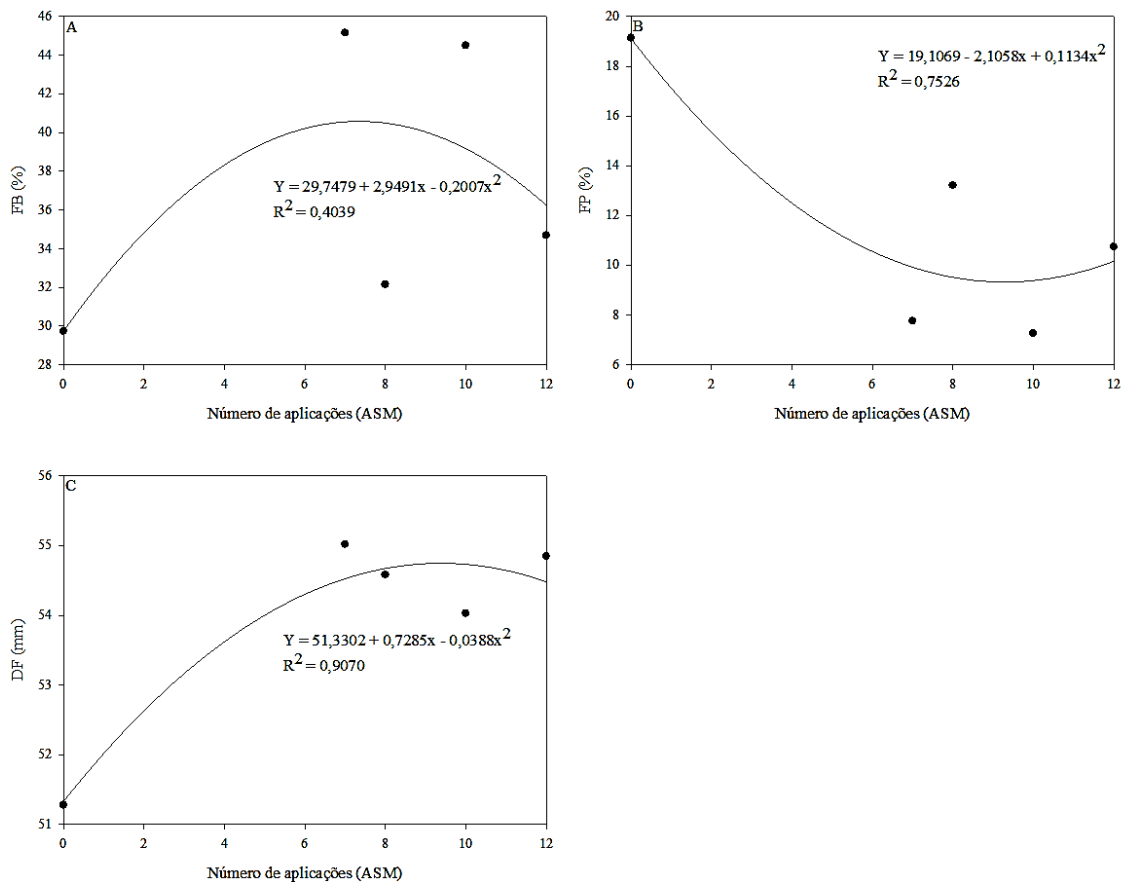


Figura 8. Efeitos do número de aplicações de ASM (0, 7, 8, 9, 10 e 12) na porcentagem de frutos bons (A), porcentagem de frutos podres (B) e comprimento do fruto (C) (Ensaio 2).

4.4 Discussão

4.4.1 As alterações nas trocas gasosas estão relacionadas com mudanças morfológicas

O aumento da fotossíntese em plantas tratadas com Pbz está diretamente relacionado com mudanças morfológicas causadas pela inibição da síntese de giberelinas (GAs). Mutantes de plantas de tomate deficientes na síntese de GAs têm taxas fotossintéticas elevadas, mesmo comportamento observado em plantas normais tratadas com Pbz (Martins *et al.*, 2019). Esse aumento já foi relatado em plantas de tomate crescendo em condições normais e em condições de restrição hídrica, tendo sido

observado também em outras espécies (Berova & Zlatev, 2000; Kuai *et al.*, 2015; Pal *et al.*, 2016).

Na última avaliação, a manutenção de taxas superiores de fotossíntese de plantas tratadas com Pbz pode estar relacionada com a regulação do ciclo do ácido cítrico (TCA), o qual compõe o metabolismo central das plantas. O Pbz altera o metabolismo de plantas submetidas a condições de estresse, aumentando a atividade do ciclo do TCA, garantindo um melhor funcionamento das plantas. Pal *et al.* (2016) sugerem que essa regulação esteja associada com o ciclo GSH-ASC, que metaboliza espécies reativas de oxigênio com maior eficiência. A redução na fotossíntese, tendo em vista as 8 aplicações de ASM, está em consonância com a afirmação de Walters & Fountaine (2009) de que a SAR pode causar perturbações na fotossíntese.

Na segunda avaliação do segundo ensaio, o Pbz aumentou a condutância estomática. O aumento da condutância estomática de plantas tratadas com Pbz, independentemente das condições de seu crescimento, já foi reportado por outros autores e pode ser explicado pelo aumento dos níveis de citocinina (Rivero, 2009; Pal *et al.*, 2016).

4.4.2 O aumento da ETR é explicado pelo aumento do *queeching* fotoquímico

O aumento da ETR das plantas de tomate tratadas com Pbz confirma as observações de Pal *et al.* (2016). Este aumento parece não depender das condições em que as plantas crescem, parecendo estar relacionado com alterações no balanço de citocinina (Rivero, 2009; Pal *et al.*, 2016). O aumento da ETR está relacionado ao aumento da eficiência quântica efetiva do PSII. A eficiência quântica do PSII indica que a proporção de luz absorvida é utilizada na fotoquímica, que, por sua vez, está relacionada à proporção de centros de reação do PSII que estão abertos (*qP*) (Genty *et al.*, 1989; Maxwell & Jonson, 2000). Uma maior proporção de centros de reação do PSII abertos leva a uma maior eficiência quântica efetiva do PSII e, conseqüentemente, a uma maior quantidade de energia utilizada na fotoquímica. Isso explica o aumento observado na taxa de transporte de elétrons (Maxwell & Jonson, 2000).

4.4.3 A redução na severidade pode ser explicada pelo aumento da eficiência do sistema antioxidante das plantas

A severidade da doença se reduziu consideravelmente em função do número de aplicações de ASM. A eficiência do ASM no controle da mancha bacteriana causada por diferentes espécies de *Xanthomonas* em plantas de tomate já foi reportada por diversos autores e evidencia a capacidade da SAR no controle da mancha bacteriana (Huang *et al.* 2012; Pontes *et al.*, 2016; Pontes *et al.*, 2017; Huang & Vallad, 2018). A eficácia da aplicação de ASM em outros patossistemas evidencia também tanto a eficácia em ativar a SAR quanto a eficácia da SAR contra diferentes patógenos (Graham & Myers 2011, 2013; Johnson & Temple 2016, 2017).

No primeiro ensaio, a severidade nas plantas tratadas com Pbz foi menor quando comparado às não tratadas. Essa redução na severidade possivelmente está associada com a eliminação das EROS produzidas em condições de estresse (Pal *et al.*, 2016). Essa eliminação previne o estresse oxidativo, um expressivo inibidor do metabolismo central das plantas (Baxter *et al.*, 2007; Pal *et al.*, 2016). Os resultados, no entanto, são inconclusivos, uma vez que não houve efeito do Pbz nas condições testadas no segundo ensaio, sugerindo que os efeitos do Pbz para redução da severidade da doença em campo podem sofrer influência de uma complexidade de fatores, que podem ser externos e se relacionarem entre si, como, por exemplo, condições de temperatura, nebulosidade, disponibilidade de água. Esses efeitos devem ser mais bem investigados futuramente.

4.4.4 Alterações na qualidade pós-colheita dos frutos é um alvo interessante para estudos futuros

O aumento no teor de SS em plantas tratadas com ASM observado neste ensaio já foi observado também em maracujá e em laranja (Junqueira *et al.*, 2011; Kirinus *et al.*, 2018). O aumento em função do número de aplicações pode ainda estar relacionado com a redução na severidade da doença, mantendo a fotossíntese em taxas normais, possibilitando maior produção de fotoassimilados. No primeiro ensaio, o aumento foi ainda maior nas plantas tratadas com Pbz. O aumento do SS em frutos de plantas tratadas com Pbz já foi reportado em laranja e em banana (Rehman *et al.*, 2018; Luo *et al.*, 2018). Trabalhando com tomate industrial, Ferreira *et al.* (2017) não encontraram diferença no SS.

A redução na acidez titulável dos frutos das plantas tratadas com Pbz confirma os dados obtidos por Luo *et al.* (2018) e Rehman *et al.*, (2018). Apesar de variações na acidez titulável muitas vezes resultarem em variações no pH, em alguns vegetais, não são observadas variações no pH (Alvarenga *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2019).

No entanto, os resultados são inconclusivos, uma vez que, no segundo ensaio, foi observada redução do teor de SS em frutos de plantas tratadas com Pbz. Além disso, não houve efeito do número de aplicações de ASM. Essa inconsistência nos resultados em estudos com Pbz já foi observada anteriormente (Rehman *et al.*, 2018). De modo geral, o Pbz parece não reduzir a qualidade dos frutos, assim como o ASM. No entanto, os mecanismos relacionados às alterações causadas ainda precisam ser mais bem investigados (Yao, 2012; Rehman *et al.*, 2018).

A redução do número de cachos no ensaio 1 pode estar relacionada com a inibição da síntese de GAs pelo Pbz. A inibição do florescimento e a redução do número de cachos podem ter contribuído para um aumento da porcentagem de frutos bons e redução no número de frutos descoloridos. O florescimento do tomateiro se estende por um longo período, fazendo com que maturação dos frutos não seja uniforme (Luz *et al.*, 2016). A inibição da síntese de GAs reduziu esse período e fez com que o florescimento acontecesse por um período menor. A necrose foliar causada pela mancha bacteriana expõe os frutos ao sol, que acabam se deteriorando muito rapidamente. A redução da severidade da doença resultou em redução da porcentagem de frutos podres produzidos e também contribuiu para o aumento da porcentagem de frutos bons.

Apesar de aumentos na fotossíntese, não houve aumentos na produtividade. Nem sempre é possível estabelecer uma relação direta entre produção ou produtividade e aumentos na taxa fotossintética (Foyer *et al.*, 2017). Nos últimos anos, houve aumento considerável na produtividade das culturas, sem aumentos expressivos na fotossíntese por unidade de área.

4.5 Conclusão

O Pbz aumenta a fotossíntese em plantas de tomate para processamento industrial, mas parece que esse aumento não se reflete na produtividade. De modo geral, o estudo baseado na fotossíntese das plantas ainda é promissor e pode ajudar a garantir suprimento adequado de alimentos no futuro. Nas condições testadas, não houve

interação entre Pbz e ASM na redução da severidade da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas perforans*. Os efeitos do Pbz na produção e na qualidade de tomate para processamento industrial ainda precisam ser mais bem investigados. O estudo dos efeitos de fitoreguladores com foco na eficiência fotossintética de plantas de tomate é também uma alternativa interessante e promissora.

4.6 Referências Bibliográficas

- A.M. Quezado-Duval, A.R. Nascimento, N.C. Pontes, A.W. Moita, A. Assunção, A. Golynski, A.K. Inoue-Nagata, R.T. Oliveira, Y.O. Castro, B.J. Melo, Desempenho de híbridos de tomate para processamento industrial em pressão de begomovirose e de mancha-bacteriana, *Hortic. Bras.* 32 (2014) 446–452. doi:10.1590/S0102-053620140000400012.
- A.M. Quezado-Duval, N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A.W. Moita. Metodologia de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Brasília: Embrapa. 24p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 73). 2011
- A.M. Quezado-Duval, R.P. Leite, D. Truffi, L.E.A. Camargo, Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in central-west Brazil, *Plant Dis.* 88 (2004) 157-161. doi:10.1094/PDIS.2004.88.2.157.
- A.O. Martins, R.P. Omena-Garcia, F.S. Oliveira, W.A. Silva, M.R. Hajirezaei, J.G. Vallarino, D.M. Ribeiro, A.R. Fernie, A. Nunes-Nesi, W.L. Araújo, Differential root and shoot responses in the metabolism of tomato plants exhibiting reduced levels of gibberellin, *Environ. Exp. Bot.* 157 (2019) 331–343. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.10.036.
- B. Genty, J.M. Briantais, N.R. Baker, The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 990 (1989) 87-92. doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
- C.A. Lopes, A.M. Quezado-Duval. Doenças bacterianas, In: C.A. Lopes, A.C. Ávila. Doenças do Tomateiro. Brasília, EMBRAPA-CNPq, Brasília, 2005, pp. 62-64.
- C.H. Foyer, A. V. Ruban, P.J. Nixon, Photosynthesis solutions to enhance productivity, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 372 (2017) 3–6. doi:10.1098/rstb.2016.0374.
- C.H. Huang, G.E. Vallad, Soil applications of acibenzolar-S-methyl induce defense gene expression in tomato plants against bacterial spot, *Eur. J. Plant Pathol.* 150 (2018) 971–981. doi:10.1007/s10658-017-1336-0.
- C.H. Huang, G.E. Vallad, S. Zhang, A. Wen, B. Balogh, J.F.L. Figueiredo, F. Behlau, J.B. Jones, M. Timur Momol, S.M. Olson, Effect of application frequency and reduced rates of Acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato, *Plant Dis.* 96 (2012) 221-227. doi:10.1094/PDIS-03-11-0183.
- C.J. Baxter, H. Redestig, N. Schauer, D. Repsilber, K.R. Patil, J. Nielsen, J. Selbig, J. Liu, A.R. Fernie, L.J. Sweetlove, The metabolic response of heterotrophic *Arabidopsis*

- cells to oxidative stress, *Plant Physiol.* 143 (2007) 312–325. doi:10.1104/pp.106.090431.
- D.R. Walters, J.M. Fountaine, Practical application of induced resistance to plant diseases: An appraisal of effectiveness under field conditions, *J. Agric. Sci.* (2009). doi:10.1017/S0021859609008806.
- D. Tripathi, G. Raikhy, D. Kumar, Chemical elicitors of systemic acquired resistance—Salicylic acid and its functional analogs, *Curr. Plant Biol.* 17 (2019) 48–59. doi:10.1016/j.cpb.2019.03.002.
- E.R. Araújo, J.R. Costa, M.A.S.V. Ferreira, A.M. Quezado-Duval, Widespread distribution of *Xanthomonas perforans* and limited presence of *X. gardneri* in Brazil, *Plant Pathol.* 66 (2017) 159–168. doi:10.1111/ppa.12543.
- J.B. Jones, G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall, N.W. Schaad, Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper, *Syst. Appl. Microbiol.* 27 (2004). 755–762 doi:10.1078/0723202042369884.
- J.D. Barak, T. Vancheva, P. Lefeuvre, J.B. Jones, S. Timilsina, G. V. Minsavage, G.E. Vallad, R. Koebnik, Whole-genome sequences of *Xanthomonas euvesicatoria* strains clarify taxonomy and reveal a stepwise erosion of type 3 effectors, *Front. Plant Sci.* 7 (2016). doi:10.3389/fpls.2016.01805.
- J.H. Graham, M.E. Myers, Soil application of SAR inducers imidacloprid, thiamethoxam, and acibenzolar-S-methyl for citrus canker control in young grapefruit trees, *Plant Dis.* 95 (2011) 725–728. doi:10.1094/PDIS-09-10-0653.
- J. Kuai, Y. Yang, Y. Sun, G. Zhou, Q. Zuo, J. Wu, X. Ling, Paclobutrazol increases canola seed yield by enhancing lodging and pod shatter resistance in *Brassica napus* L., *F. Crop. Res.* 180 (2015) 10–20. doi:10.1016/j.fcr.2015.05.004.
- J. Marengo, R. Torres, L. Alves. Drought in northeast Brazil—past, present, and future. *Theor Appl Climatol* 129 (2017) 1189–1200.
- K.B. Johnson, T.N. Temple, Comparison of Methods of Acibenzolar-S-Methyl Application for Post-Infection Fire Blight Suppression in Pear and Apple, *Plant Dis.* 100 (2016) 1125–1131. doi:10.1094/pdis-09-15-1062-re.
- K.B. Johnson, T.N. Temple, Induction of systemic acquired resistance aids restoration of tree health in field-grown pear and apple diseased with fire blight, *Plant Dis.* 101 (2017) 1263–1268. doi:10.1094/PDIS-12-16-1772-RE
- K.K. Upreti, Y.T.N. Reddy, S.R.S. Prasad, G. V. Bindu, H.L. Jayaram, S. Rajan, Hormonal changes in response to paclobutrazol induced early flowering in mango cv. Totapuri, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. (2013). doi:10.1016/j.scienta.2012.11.030.
- K. Maxwell, G.N. Johnson, Growth and chlorophyll a fluorescence in *Erythrina cristagalli* L.pdf, *J. Exp. Bot.* 51 (2000) 659–668. doi:10.1093/jxb/51.345.659.
- K.P. Junqueira, F.G. Faleiro, C.H. Uesugi, N.T.V. Junqueira, G. Bellon, E.C. dos Santos, L.N. Ramos, Desempenho agrônômico de maracujazeiros tratados com produtos alternativos e fertilizantes foliares, *Rev. Bras. Frutic.* 33 (2011) 40–47.

- K. Schwarz, J.T.V. Resende, A.P. Preczenhak, J.T. Paula, M.V. Faria, D.M. Dias. Desempenho agrônomo e qualidade físico-química de híbridos de tomateiro em cultivo rasteiro. *Horticultura Brasileira*, 31 (2013) 410-418.
- L.N. Luo, C.L. Li, F. Wu, S.P. Li, S.Q. Han, M.F. Li, Desuckering effect of KH₂PO₄ mixed with paclobutrazol and its influence on banana (*Musa paradisiaca* AA) mother plant growth, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 240 (2018) 484–491. doi:10.1016/j.scienta.2018.06.033.
- M. Berova, Z. Zlatev, Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.), *Plant Growth Regul.* 30 (2000) 117–123. doi:10.1023/A:1006300326975.
- M.B.M. Kirinus, C.F. Barreto, P.S. da Silva, R.P. de Oliveira, M.B. Malgarim, J.C. Fachinello, 'Navelina' oranges submitted to pre-harvest resistance inducers, *Acta Sci. Agron.* 40 (2018) 39465. doi:10.4025/actasciagron.v40i1.39465.
- M.B. Shine, X. Xiao, P. Kachroo, A. Kachroo, Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens, *Plant Sci.* 279 (2019) 81–86. doi:10.1016/j.plantsci.2018.01.001.
- M.F. Jorge, K.D.O. Do Nascimento, J.L. Barbosa Junior, L.D.B. Da Silva, M.I.M.J. Barbosa, Physicochemical Characteristics, Antioxidant Capacity and Phenolic Compounds of Tomatoes Fertigated With Different Nitrogen Rates, *Rev. Caatinga.* 30 (2017) 237–243. doi:10.1590/1983-21252017v30n126rc.
- M. Rehman, Z. Singh, T. Khurshid, Pre-harvest spray application of prohexadione-calcium and paclobutrazol improves rind colour and regulates fruit quality in M7 Navel oranges, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 234 (2018) 87–94. doi:10.1016/j.scienta.2018.02.018.
- M. Rodriguez-Salus, Y. Bektas, M. Schroeder, C. Knoth, T. Vu, P. Roberts, I. Kaloshian, T. Eulgem, The synthetic elicitor 2-(5-Bromo-2-Hydroxy-Phenyl)-thiazolidine-4-carboxylic acid links plant immunity to hormesis¹, *Plant Physiol.* 170 (2016) 444–458. doi:10.1104/pp.15.01058.
- M. Srivastav, A. Kishor, A. Dahuja, R.R. Sharma, Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.), *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 125 (2010) 785–788 doi:10.1016/j.scienta.2010.05.023.
- N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A. Golynski, L.A. Maffia, J.R. de Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Intervals and number of applications of Acibenzolar-S-Methyl for the control of bacterial spot on processing tomato, *Plant Dis.* 100 (2016) 2126–2133. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1286-RE>.
- N.C. Pontes, A.R. Nascimento, A. Golynski, A.W. Moita, L.A. Maffia, J.R. Oliveira, A.M. Quezado-Duval, Volume de aplicação e eficiência do controle químico da mancha bacteriana em tomateiro industrial, *Hortic. Bras.* 35 (2017) 371–376. doi:10.1590/S0102-053620170309.

- R. Borjas-Ventura, L.R. Alves, R. de Oliveira, C.A. Martínez, P.L. Gratão, Impacts of warming and water deficit on antioxidant responses in *Panicum maximum* Jacq, *Physiol. Plant.* 165 (2019) 413–426. doi:10.1111/pp1.12907.
- R.M. Rivero, V. Shulaev, E. Blumwald, Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit, *Plant Physiol.* 150 (2009) 1530–1540. doi:10.1104/pp.109.139378.
- S. Pal, J. Zhao, A. Khan, N.S. Yadav, A. Batushansky, S. Barak, B. Rewald, A. Fait, N. Lazarovitch, S. Rachmilevitch, Paclobutrazol induces tolerance in tomato to deficit irrigation through diversified effects on plant morphology, physiology and metabolism, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–13. doi:10.1038/srep39321.
- S. Timilsina, S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G. V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones, M.F. Le Saux, Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al.* 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al.* 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69 (2019) 343–349. doi:10.1099/ijsem.0.003104.
- Z. Peleg, E. Blumwald, Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants, *Curr. Opin. Plant Biol.* 14 (2011) 290–295. doi:10.1016/j.pbi.2011.02.001.

CONCLUSÃO GERAL

Em condições controladas, a aplicação de Pbz aumenta a fotossíntese das plantas e interage com o ASM, reduzindo a severidade da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas perforans*. Em campo, o Pbz aumenta a fotossíntese das plantas, porém sem reflexos na produtividade. Nas condições testadas, não houve interação entre Pbz e ASM na redução da severidade da mancha bacteriana. Os efeitos do Pbz na produção e na qualidade de tomate para processamento industrial ainda precisam ser melhor investigados.