

## Fosfito de potássio como indutor de resistência em mutantes de tomateiro contra *Phytophthora infestans*

### *Potassium phosphite as a resistance inducer in tomato mutants against *Phytophthora infestans**

Carla Dias Tunes<sup>1</sup>, Vanessa Pinto Gonçalves<sup>1</sup>, Daniele Brandstetter Rodrigues<sup>2</sup>, Andréia da Silva Almeida<sup>2</sup>, Jacqueline Barcelos da Silva<sup>1</sup>, Mariana Salbego Franco<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutorandas no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul. carladtunes@gmail.com, vanessapg83@hotmail.com, jackelinecnj@hotmail.com. <sup>2</sup>Pós-doutorandas no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas. ufpelbrandstetter@hotmail.com, andreiasalmeida@yahoo.com.br. <sup>3</sup>Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas. mariana\_salbego@hotmail.com.

#### ARTIGO

Recebido: 19/11/2018  
 Aprovado: 25/03/2019

#### Palavras-chave:

*Solanum lycopersicum*  
 Micro-Tom  
 Requeima

#### Key words:

*Solanum lycopersicum*  
 Micro-Tom  
 Reek

#### RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito do fosfito de potássio como indutor de resistência no manejo de *Phytophthora infestans*, agente causal da requeima, em mutantes de tomateiro para tricomas e hormônios, para identificar seu modo de ação e as possíveis vias de sinalização envolvidas. Foram utilizados onze genótipos mutantes (hair absent, Wooly, hairless, Galapagos, notabilis, Never ripe, epinastic, procera, curl3, 35S::nahG e dgt, Nr), que estão no mesmo *background* genético que o parental selvagem, cultivar Micro-Tom. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema bifatorial, com quatro repetições. O fator A correspondeu aos genótipos utilizados e o fator B a aplicação ou não do indutor. As variáveis analisadas foram: período de incubação (PI), tamanho final da lesão (TFL) e taxa de expansão da lesão (*r*). Para todas as variáveis houve interação significativa entre os genótipos e a aplicação do fosfito de potássio. Nas plantas tratadas com fosfito de potássio, o PI no genótipo Galapagos foi significativamente menor de 52 até 70% em relação aos genótipos mutantes, exceto Never ripe e 35S::nahG. A aplicação do fosfito de potássio aumentou significativamente em 63, 53, e 70% o TFL para os genótipos Wooly, hairless e procera, respectivamente. A *r* no genótipo Procera foi significativamente menor em 76% à observada no Micro-Tom, e de 50 até 76% em relação aos genótipos mutantes, quando as plantas não foram tratadas com fosfito de potássio. A rota de sinalização mais provável para indução de resistência por fosfito de potássio é a do ácido salicílico.

#### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of potassium phosphite as a resistance inducer in the management of *Phytophthora infestans*, causal agent of the reek, in tomato mutants for trichomes and hormones, to identify their mode of action and the possible signaling pathways involved. Eleven mutant genotypes (hair absent, Wooly, hairless, Galapagos, notabilis, Never ripe, epinastic, procera, curl3, 35S::nahG and dgt, Nr) which are in the same genetic background as the wild parental, cultivate Micro-Tom. The experiment was carried out in a completely randomized design, in a two - factorial scheme, with four replications. The factor A corresponded to the genotypes used and the factor B applied or not of the inducer. The variables analyzed were: incubation period (PI), final lesion size (TFL) and lesion expansion rate (*r*). For all variables there was a significant interaction between the genotypes and the application of potassium phosphite. In plants treated with potassium phosphite, the PI in the Galapagos genotype was significantly lower from 52 to 70% relative to the mutant genotypes except Never ripe and 35S::nahG. The application of potassium phosphite increased significantly in 63, 53, and 70% TFL for the Wooly, hairless and procera genotypes, respectively. The *r* in the genotype procera was significantly lower in 76% of that observed in the Micro Tom, and 50 to 76% in relation to the mutant genotypes when the plants were not treated with potassium phosphite. The most likely signaling pathway for resistance induction by potassium phosphite is that of salicylic acid.

## INTRODUÇÃO

Com a evolução das espécies, as plantas evoluíram suas estratégias de defesa contra estresses bióticos e abióticos (FROST et al., 2008). Em adição a barreira constitutiva, plantas atacadas por patógenos e insetos também são capazes de induzir mecanismos de resistência para sua proteção. Essa indução desencadeia um estado fisiológico na planta, a qual se prepara para responder mais rapidamente contra uma agressão futura, como uma condição de prontidão, denominada *priming* (CONRATH et al., 2006). Durante esta fase de sensibilidade da planta, ocorre o acúmulo de proteínas celulares inativas, que irão desempenhar um importante papel na amplificação do sinal celular. A ativação deste sinal tem como objetivo induzir respostas de defesa em locais distais da planta, que ainda não foram danificados, e pode ocorrer de forma tradicional pelo sistema vascular, com transporte de metabólitos, ou pelo ar, em alguns casos, devido à liberação de compostos voláteis no local atacado (HEIL; TON, 2008).

A sinalização pode ser ativada por padrões moleculares de microrganismos, efetores de patógenos, organismos benéficos, insetos, ferimentos e através de determinados tipos de tratamentos abióticos. A manifestação da resposta mediante um ataque pode se dar em forma de resistência do tipo sistêmica adquirida (SAR) ou sistêmica induzida (ISR) (HEIL; TON, 2008). SAR e ISR podem ser diferenciadas com base na natureza do eliciador e através das vias regulatórias envolvidas (CHOUDHARY; JOHRI, 2009). A SAR está associada a níveis elevados do ácido salicílico localmente, sistemicamente e com a codificação de proteínas relacionadas à patogênese, enquanto que a ISR está relacionada à sinalização envolvendo o ácido jasmônico e o etileno (YAN et al., 2002). Quanto a relação direta com o tipo de indutor para o desencadeamento de uma resistência adquirida ou induzida, normalmente a SAR é ativada por organismos não patogênicos, patógenos avirulentos ou patógenos virulentos, neste último caso, biotróficos, enquanto que a ISR é ativada por insetos, patógenos virulentos do tipo necrotróficos e por organismos benéficos, como as rizobactérias (CHOUDHARY; JOHRI, 2009).

Deste modo, a indução de resistência configura em aumento das capacidades de defesa da planta contra um amplo espectro de microrganismos, e pode ser ativada a partir de um agente indutor biótico ou abiótico (RIBEIRO JÚNIOR, 2008). Dentre os indutores químicos ou abióticos relatados pode-se destacar o INA (ácido 2,6 dicloroisonicotínico) e o BTH (benzotiadiazole), como análogos do ácido salicílico, e BABA (ácido  $\beta$ -aminobutírico) análogo do ácido abscísico (CONRATH et al., 2006). Além destes, o ASM (acibenzolar-s-metílico), também análogo do ácido salicílico, é registrado no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o controle da requeima em batata, e caracteriza-se por atuar no sistema de defesa das plantas (TÓFOLI, 2011).

Além destes, produtos disponíveis no mercado como fertilizantes podem propiciar a redução da severidade de muitas doenças, sendo chamados de indutores de resistência (NOJOSA et al., 2005). Formulações a base de fosfito (sal inorgânico de ácido fosforoso), utilizadas em adubação foliar, têm recebido atenção no controle de doenças, principalmente as causadas por oomicetos (MACHINANDIARENA et al., 2012).

O uso de fosfitos no controle de espécies de *Phytophthora* demonstra dois efeitos principais (DELIOPOULOS et al., 2010), um direto, pois têm ação sobre o patógeno, com inibição do crescimento micelial e da produção de esporos e redução ou alterações do metabolismo (KING et al., 2010), e outro indireto, com a estimulação das respostas de defesa do hospedeiro, como produção de fitoalexinas (LOBATO et al., 2010), espécies reativas de oxigênio, indução de proteínas relacionadas a patogênese e reforço da parede celular (ESHRAHGI et al., 2011).

Produtos à base de fosfito têm proporcionado bons resultados no controle de doenças causadas pelo gênero *Phytophthora*. Em citros (*Citrus* sp.) e faia (*Fagus sylvatica*) o fosfito de potássio controlou de maneira preventiva as doenças causadas por *P. nicotianae* e *P. plurivora*, nas respectivas culturas, alterando o metabolismo do hospedeiro auxiliando-o contra o ataque dos patógenos (REZENDE et al., 2014). Em diversas hortaliças, como tomate (TÓFOLI et al., 2012), batata (MACHINANDIARENA et al., 2012) e morango (REBOLLAR-ALVITER et al., 2010), o fosfito de potássio tem apresentado resultados positivos no controle de oomicetos. Ademais, alguns estudos apontam o potencial do uso de fosfito de potássio em mistura com mancozebe (fungicida de superfície do grupo dos ditiocarbamatos) para o manejo da requeima do tomateiro, como uma alternativa interessante em condições de baixa pressão da doença (TÓFOLI et al., 2012).

O modo de ação dos fosfitos, principalmente de forma indireta com a indução dos mecanismos de defesa da planta, ainda está sendo bastante investigado (MASSOUD et al., 2012), por meio de muitas pesquisas. Lim et al. (2013) demonstrou que o atraso no desenvolvimento da requeima em folhas de batata pela aplicação do fosfito foi associado a expressão diferenciada de proteínas relacionadas com vias de defesa mediadas pelo ácido salicílico.

Outras investigações sobre o efeito do fosfito de potássio na indução de respostas de defesa em plantas de batata contra *P. infestans* indicam aumento da expressão de moléculas de defesa, como por exemplo, no reforço da parede celular, que seriam igualmente induzidas de outro modo em casos de estresse, contudo, mais tardiamente e em menor intensidade. Os resultados destes estudos apoiam a hipótese de que a indução de resistência por fosfito de potássio poderia estar sendo mediada pelo ácido salicílico, sugerindo que estudos com plantas mutantes onde a via do ácido salicílico é prejudicada deveriam ser realizados para confirmar esta hipótese (MACHINANDIARENA et al., 2012).

Deste modo, e diante do atual paradigma ecológico da agricultura sustentável, com o presente estudo objetivou-se avaliar o efeito do fosfito de potássio como indutor de resistência no manejo de *Phytophthora infestans* em mutantes de tomateiro para tricomas e hormônios, com o intuito de identificar seu modo de ação e as possíveis vias de sinalização envolvidas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Interação Planta-Patógeno (LIPP) e em casa de vegetação, pertencentes ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL).

Os genótipos utilizados neste estudo (Tabela 1) estão no mesmo *background* genético que o parental selvagem, cultivar Micro-Tom, exceto a mutação, e foram disponibilizados pelo Laboratory of Hormonal Control of

Plant Development (HCPD-Lab) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP).

**Tabela 1.** Mutações em tricomas e hormônios introgridas na cultivar Micro-Tom empregadas neste trabalho.

Genótipos	Classe	Descrição
hair absent (h)	Tricomas	Tricomas deformados e escassos.
Wooly (Wo)	Tricomas	Aumento de tricomas em todas as partes vegetativas.
hairless (hl)	Tricomas	Ausência de tricomas, exceto no hipocótilo e pontos de crescimento.
Galapagos enhanced trichomes (Get)	Tricomas	Grande número de tricomas glandulares.
notabilis (not)	Hormônios	Plantas apresentam baixa concentração de ácido abscísico.
Never ripe (Nr)	Hormônios	Portadores do alelo mutado têm baixa sensibilidade ao etileno.
epinastic (epi)	Hormônios	Plantas têm superprodução de etileno.
procera (pro)	Hormônios	Plantas apresentam resposta constitutiva de giberelinas.
curl3 (cu3)	Hormônios	Plantas que carregam o alelo mutado são insensíveis aos brassinosteróides.
35S::nahG	Hormônios	Plantas com níveis reduzidos de ácido salicílico.
dgt, Nr	Hormônios	Mutação dupla onde as plantas têm baixa sensibilidade à auxina e ao etileno.

Para cultivo das plantas, foi utilizada a mistura de substrato orgânico inerte (S-10B), vermiculita média na proporção 1:1. Nesta mistura, adicionou-se 1 g L<sup>-1</sup> de fertilizante químico NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) 10.10.10 por litro de substrato (PINO-NUNES et al., 2010). Foram semeadas 12 sementes de cada genótipo a 5 mm de profundidade em vasos de 250 mL de capacidade, mantendo-se o substrato umedecido. O transplantio foi realizado 18 dias após sementeira, quando as plântulas já apresentavam um par de folhas completamente expandidas. As plântulas foram transferidas individualmente, carregando ao máximo de substrato possível aderido as raízes, para copos de plásticos de 150 mL, perfurados no fundo, os quais foram devidamente identificados com número correspondente a cada repetição do genótipo. Para evitar a formação de bolsões de ar entorno das raízes, o volume de substrato foi completo com água. O transplantio foi realizado no início da manhã, evitando o estresse da planta por altas temperaturas.

Os vasos, tanto durante período germinativo quanto após transplante, foram dispostos em bandejas com lâmina de água constante para a manutenção da disponibilidade de água.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema bifatorial (12×2) com quatro repetições. O fator A correspondeu aos genótipos utilizados (hair absent, Wooly, hairless, Galapagos enhanced trichomes, notabilis, Never ripe, epinastic, procera, curl3, 35S::nahG, dgt,Nr e Micro-Tom) e o fator B a indução (com e sem aplicação do indutor). Cada repetição foi composta por uma planta.

O fosfito de potássio (Phytosol<sup>PK</sup>), constituído de 30% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + 20% K<sub>2</sub>O, foi aplicado 72 horas antes da inoculação do patógeno por aspersão de solução na concentração de 2,5 mL do produto L<sup>-1</sup> de água, com auxílio de um borrifador manual (TECBLAS<sup>®</sup> 45 mL). A aplicação foi realizada pelo período da manhã e à sombra.

O isolado de *Phytophthora infestans* foi obtido da coleção de microrganismos do Departamento de Fitossanidade- FAEM/UFPel, preservado pelo método de Castellani. A suspensão de esporângios de *P. infestans* foi preparada a partir do cultivo do oomiceto em frutos imaturos de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.). Para tal, os frutos foram desinfestados superficialmente e em seguida inoculados com discos (1 cm de diâmetro) de micélio de *P. infestans*. Cinco

dias após a inoculação, quando era visível no fruto intensa esporulação do patógeno, foi realizada a coleta dos esporângios, por meio da sua remoção utilizando-se água destilada estéril e pincel macio. Em seguida, a suspensão foi filtrada e a concentração ajustada para 1×10<sup>5</sup> esporângios mL<sup>-1</sup> com auxílio de câmara de Neubauer.

A inoculação foi realizada por meio de microgotas de 15 µL da suspensão de esporângios, sendo dispostas na superfície das três folhas mais jovens de cada planta dos dois grupos de genótipos, com e sem aplicação do indutor, em estágio reprodutivo (floração). Após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 h, para fornecer condições favoráveis à infecção do patógeno, em seguida as plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de ± 25 °C para realização das avaliações.

As variáveis analisadas foram o período de incubação (PI), tamanho final da lesão (TFL) e taxa de expansão da lesão (*r*). Para avaliação do PI, as plantas foram avaliadas a cada 6 h desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas, sendo estabelecido como o tempo médio para que pelo menos duas plantas por tratamento apresentassem sintomas característicos da doença. O tamanho final da lesão foi mensurado em milímetros às 198 h, para o grupo de plantas sem indutor, e às 222 h, para o grupo de plantas com indutor, após a inoculação (hai) com o uso de um paquímetro digital. A taxa de expansão da lesão, que indica a velocidade de colonização dos tecidos do hospedeiro pelo patógeno, foi calculada a partir das mensurações de uma lesão em uma folha de cada planta a cada 24 h por sete dias após o PI, e com os resultados das mensurações, foi calculada a *r* com base nos valores de expansão das lesões (mm) em função dos períodos de avaliação, pela determinação da inclinação da reta obtida por regressão linear, conforme procedimentos descritos por Jesus Júnior et al. (2004).

Os valores atípicos (*outliers*) foram identificados com a plotagem dos resíduos estudentizados externamente (*RStudent*) versus valores preditos (variável *Y*). A partir do *RStudent*, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e a independência dos resíduos por análise gráfica.

Para a variável PI foi necessária a transformação  $\sqrt{x+1}$ . Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ) e, quando comprovada a significância, os efeitos dos genótipos foram comparados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e, da indução pelo teste “t” de Student ( $p \leq 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas no software SAS (SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todas as variáveis houve interação significativa entre os genótipos de tomateiro e a aplicação do fosfito de potássio. Nas plantas não tratadas e nas tratadas com fosfito de potássio não houve variação significativa no PI observado nos genótipos mutantes em relação ao Micro-Tom.

Por outro lado, quando aplicado o fosfito de potássio, o PI no genótipo Galapagos foi significativamente menor de 52 até 70% em relação aos genótipos mutantes, exceto Never ripe e 35S::nahG (Tabela 2). A aplicação do fosfito de potássio prolongou o PI em 38% no genótipo notabilis, em comparação as plantas não tratadas com o indutor (Tabela 2).

**Tabela 2.** Período de incubação (PI) da requeima em genótipos de tomate com e sem aplicação de fosfito de potássio (FP).

Genótipos	PI (horas)	
	Sem FP	Com FP
Micro-Tom	45,00±1,73 a <sup>ns</sup>	48,00±2,44 ab <sup>1/</sup>
hair absent	48,00±2,44 a <sup>ns</sup>	62,00±8,00 a
Wooly	55,50±5,67 a <sup>ns</sup>	58,50±6,65 a
hairless	58,50±6,65 a <sup>ns</sup>	54,00±3,46 a
Galapagos	46,50±2,87 a <sup>ns</sup>	27,00±27,00 b
Never ripe	51,00±1,73 a <sup>ns</sup>	51,00±1,73 ab
epinastic	60,00±6,00 a <sup>ns</sup>	84,00±12,00 a
procera	51,00±3,00 a <sup>ns</sup>	60,00±6,00 a
curl3	54,00±0,01 a <sup>ns</sup>	86,00±15,62 a
35S::nahG	48,00±0,01 a <sup>ns</sup>	50,00±2,00 ab
notabilis	55,50±1,50 a*	90,00±12,00 a
dgt, Nr	45,00±2,00 a <sup>ns</sup>	54,00±31,17 a

<sup>1/</sup>Médias (de quatro determinações ± erro padrão) acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos dentro de cada aplicação de FP. \* - ns Significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando a aplicação do FP em cada genótipo.

Nesta análise, portanto, destacou-se o genótipo notabilis como único a prolongar o período de incubação pela aplicação do fosfito de potássio. O mutante notabilis tem baixa produção ao ácido abscísico, que parece interagir com a via do etileno regulando sua produção excessiva. A senescência acelerada na planta, causada pela superprodução do etileno, desfavorece microrganismos que requerem tecido vegetal vivo para estabelecer a infecção (GLAZEBROOK et al., 2005). Em combinação com o ácido jasmônico, o etileno é necessário para o desencadeamento de diversos genes de defesa nas plantas, principalmente relacionados ao ataque de insetos e patógenos necrotróficos, atuando de forma sinérgica, e ao contrário, parece não desempenhar um papel relevante nas defesas relacionadas a patógenos biotróficos, agindo de forma antagonista ao ácido salicílico (GLAZEBROOK et al., 2005). Quando aplicado o fosfito de potássio, notabilis apresentou um PI 38% maior que quando não aplicado, o que sugere que a via do ácido salicílico, inibida pelo sinergismo de etileno e ácido jasmônico, estaria sendo potencializada,

conferindo menor susceptibilidade ao patógeno hemibiotrófico e corroborando com os resultados de Machinandiarena et al. (2012) e Lim et al. (2013), que sugerem a via do ácido salicílico como mediadora da sinalização desencadeada por fosfitos. Além disto, o fosfito de potássio pode atuar diretamente sobre alguns oomicetos, e também induzir a produção de fitoalexinas em algumas culturas (TÓFOLI et al., 2013). Estudos relatando a maior produção de gliceolina (fitoalexina relacionada às defesas induzidas da planta) em cotilédones de soja tratada com fosfito de potássio (CASTANHO et al., 2014), reforçam o que está exposto nos estudos de Yoshikawa et al. (1978), que relataram a gliceolina como responsável pela cessação do crescimento fúngico em hipocótilos de soja resistentes à *Phytophthora megasperma* var. *sojae*.

Para o TFL, nas plantas não tratadas com fosfito de potássio, não houve variação significativa (Tabela 3). Nas plantas tratadas com fosfito de potássio, o maior TFL foi observado no genótipo Wooly, sendo neste, 60% maior que o observado no Micro-Tom, e significativamente maior que todos os genótipos mutantes, exceto o curl3, com 4 vezes o TFL observado no genótipo mutante Galapagos (Tabela 3). A aplicação do fosfito de potássio aumentou significativamente em 63, 53, e 70% o TFL para os genótipos Wooly, hairless e procera, respectivamente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Tamanho final da lesão (TFL) da requeima em genótipos de tomate com e sem aplicação de fosfito de potássio (FP).

Genótipos	TFL (mm)	
	Sem FP	Com FP
Micro-Tom	4,35±0,51 a <sup>ns</sup>	4,10±0,59 bc <sup>1/</sup>
hair absent	3,43±0,80 a <sup>ns</sup>	3,96±0,55 bc
Wooly	3,75±0,47 a*	10,25±2,82 a
hairless	2,67±0,34 a*	5,73±1,00 bc
Galapagos	3,36±0,39 a <sup>ns</sup>	1,68±1,68 c
Never ripe	3,25±0,16 a <sup>ns</sup>	2,93±0,22 bc
epinastic	2,97±0,43 a <sup>ns</sup>	4,67±1,41 bc
procera	1,00±0,58 a*	3,35±0,60 bc
curl3	3,93±2,27 a <sup>ns</sup>	6,79±0,04 ab
35S::nahG	3,07±0,29 a <sup>ns</sup>	3,68±0,37 bc
notabilis	2,71±0,12 a <sup>ns</sup>	3,22±0,41 bc
dgt, Nr	4,51±0,77 a <sup>ns</sup>	3,29±1,87 bc

<sup>1/</sup>Médias (de quatro determinações ± erro padrão) acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos dentro de cada aplicação de FP. \* - ns Significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando a aplicação do FP em cada genótipo.

Em relação à *r*, no genótipo procera esta foi significativamente menor em 76% à observada no Micro-Tom, e de 50 até 76% em relação aos genótipos mutantes, quando as plantas não foram tratadas com fosfito de potássio (Tabela 4). Nas plantas tratadas com fosfito de potássio, não houve variação significativa dos genótipos mutantes com o Micro-Tom, porém, a maior *r* foi observada no genótipo Wooly sendo significativamente superior de 58 até 67% à *r* observada nos genótipos Galapagos, Never ripe, procera e notabilis (Tabela 4). No genótipo Wooly, a aplicação do fosfito de potássio aumentou a *r* em 42% comparado as plantas não tratadas do mesmo genótipo (Tabela 4).

**Tabela 4.** Taxa de expansão da lesão (*r*) da requeima em genótipos de tomate com e sem aplicação de fosfito de potássio (FP).

Genótipos	<i>r</i>	
	Sem FP	Com FP
Micro-Tom	0,17±0,02 a <sup>ns</sup>	0,15±0,01 ab <sup>L</sup>
hair absent	0,11±0,01 ab <sup>ns</sup>	0,14±0,02 ab
Wooly	0,14±0,01 ab <sup>*</sup>	0,24±0,03 a
hairless	0,13±0,02 ab <sup>ns</sup>	0,17±0,01 ab
Galapagos	0,14±0,02 ab <sup>ns</sup>	0,09±0,04 b
Never ripe	0,13±0,01 ab <sup>ns</sup>	0,08±0,02 b
epinastic	0,08±0,03 ab <sup>ns</sup>	0,13±0,01 ab
procera	0,04±0,02 b <sup>ns</sup>	0,09±0,03 b
curl3	0,09±0,05 ab <sup>ns</sup>	0,18±0,03 ab
35S::nahG	0,13±0,01 ab <sup>ns</sup>	0,13±0,01 ab
notabilis	0,13±0,02 ab <sup>ns</sup>	0,10±0,01 b
dgt, Nr	0,17±0,03 a <sup>ns</sup>	0,12±0,06 ab

<sup>L</sup>Médias (de quatro determinações ± erro padrão) acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando os genótipos dentro de cada aplicação de FP. \*<sup>ns</sup> Significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando a aplicação do FP em cada genótipo.

Nestes casos, os mutantes de tricomas Wooly e hairless, juntamente com o mutante hormonal procera, apresentaram maior suscetibilidade ao patógeno *P. infestans* quando aplicado o fosfito de potássio, demonstrado pelos resultados de tamanho final da lesão. Wooly foi o genótipo mais prejudicado pela aplicação de fosfito, visto que o aumento final das lesões chegaram a 64% quando comparadas plantas não tratadas e tratadas, indicando a via de sinalização desencadeada pela aplicação de fosfito de potássio desfavorável a produção de tricomas, provável causa da queda de resistência do genótipo. Como visto, em Wooly também foi verificado o aumento na *r* pela aplicação do fosfito de potássio. Poucos estudos relatam a relação hormonal com a defesa constitutiva da planta, ainda assim alguns tratam o ácido salicílico como um componente da redução da densidade de tricomas. Observações de Bowling et al. (1997) mostram que o mutante *cpr* de *Arabidopsis*, que superexpressa o ácido salicílico, reduziu as densidades de tricomas nas plantas, fato este confirmado mais adiante por estudos que relatam ainda a participação do ácido jasmônico de forma favorável a constituição de defesas físicas, pois parece promover o aumento no número e densidade de tricomas, com base em experimentos de aplicação exógena deste hormônio (TRAW; BERGELSON, 2003). Estes relatos podem justificar, até certo nível, a não proteção das plantas mutantes de tricomas tratadas por fosfito, que podem ter ocorrido devido uma provável redução na produção de seus tricomas por indução da via do ácido salicílico. Outro genótipo desfavorecido pela aplicação de fosfito de potássio, como indicado pelo maior tamanho da lesão foi procera. A mutação em procera causa expressão constitutiva de giberelina pela perda de função na proteína DELLA (BESSEL et al., 2008), o que provoca um aumento de ácido jasmônico na planta quando esta sofre algum tipo de estresse (DEGANELLO, 2012), além disso, o sinergismo entre giberelina e ácido jasmônico é relatado na literatura em trabalhos relativos a produção de tricomas, que confirmam ainda o antagonismo com ácido salicílico (TRAW; BERGELSON, 2003), de modo que a provável expressão acentuada de ácido salicílico em procera, devido a mutação e ao tratamento com fosfito de potássio, possa estar afetando as

defesas constitutivas da planta, visto que o ácido salicílico atua negativamente na produção de tricomas (TRAW; BERGELSON, 2003).

A ação indireta de fosfitos pela indução de respostas de defesa das plantas tem sido muito relatada, no entanto, o entendimento dos mecanismos envolvidos na sinalização aos poucos vem sendo esclarecido. Juntamente com estudos de Machinandarena et al. (2012) e Lim et al. (2013), a utilização dos mutantes hormonais no presente trabalho, leva à indícios do provável envolvimento da via do ácido salicílico na cascata de sinalização pela aplicação do fosfito de potássio.

## CONCLUSÕES

A rota de sinalização mais provável para indução de resistência por fosfito de potássio é a do ácido salicílico.

O antagonismo entre as vias do ácido jasmônico e do ácido salicílico, provoca redução das defesas constitutivas nos genótipos Wooly e procera.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, D. R. Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de caféiro contra *Cercospora coffeicola*. Lavras: UFLA, 2008. 92p.
- BESSEL, G. W.; MULLEN, R. T.; BEWLEY, J. D. *procera* is a putative DELLA mutante in tomato (*Solanum lycopersicum*): effects on the seed vegetative plant. Journal of Experimental Botany, v.59, n.3, p.585-593, 2008. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm354>
- BOWLING, S. A.; CLARKE, J. D.; LIU, Y.; KLESSIG, D. F.; DONG, X. The *cpr5* mutant of *Arabidopsis* expresses both NPR1-dependent and NPR1-independent resistance. The Plant Cell, v.9, n.9, p.1573-1584, 1997. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.9.1573>
- CASTANHO, G.; SANTOS NETO, J.; SILVA, C. M.; ALVES, D. S.; ANDRADE, L. M. Fosfito de potássio como indutor de gliceolina em soja. Iniciação Científica Cesumar, v.16, n.2, p.131-137, 2014.
- CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N. Interactions of *Bacillus* spp. And plants - With special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiological Research, v.164, n.5, p.493-513, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>
- CONRATH, U.; BECKERS, G. J. M.; FLORS, V.; GARCIA-AGUSTIN, P.; JAKAB, G.; MAUCH, F.; NEWMAN, M. A.; PIETERSE, C. M.; POINSSOT, B.; POZO, M. J. Priming: getting ready for battle. Molecular Plant-Microbe Interactions, v.19, n.10, p.1062-1071, 2006. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1062>
- DEGANELLO, J. Avaliação da contribuição dos hormônios vegetais na interação *Moniliophthora perniciosa* x *Solanum lycopersicum*. Piracicaba: USP, 2012. 118p.
- DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P. S.; HARE, M. C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. Crop Protection, v.29, n.10, p.1059-1075, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>



- ESHRAHGI, L.; ANDERSON, J.; ARYAMANESH, N.; SHEARER, B.; MCCOMB, J.; HARDY, G. E.; O'BRIEN, P. A. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, v.60, n.6, p.1086-1095, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02471.x>
- FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura – Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3.ed.Viçosa, 2008. 421p.
- FROST, C. J.; MESCHER, M. C.; CARLSON, J. E.; MORAES, C. M. Plant Defense Priming against Herbivores: Getting Ready for a Different Battle. *Plant Physiology*, v.146, n.3, p.818-824, 2008. <https://doi.org/10.1104/pp.107.113027>
- GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Phytopathology*, v.43, n.1, p.205-227, 2005. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- HEIL, M.; TON, J. Long-distance signalling in plant defence. *Trends in Plant Science*, v.13, n.6, p.264-272, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.03.005>
- KING, M.; REEVE, W.; VAN DER HOEK, M. B.; WILLIAMS, N.; MCCOMB, J.; O'BRIEN, P. A.; HARDY, G. E. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. *Mol Genet Genomics*, v.284, n.6, p.425-435, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00438-010-0579-7>
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (eds.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 1997. cap.64, p.690-719.
- LIM, S.; BORZA, TUDOR.; PETERS, R. D.; COFFIN, R. H.; AL-MUGHRABI, K. I.; PINTO D. M.; WANG-PRUSKI G. Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against *Phytophthora infestans*. *Journal of Proteomics*, v.93, n.1, p.207-223, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.03.010>
- LOBATO, M. C.; OLIVIERI, F. P.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v.117, n.3, p.102-109, 2010. <https://doi.org/10.1007/BF03356343>
- MACHINANDIARENA, M. F.; LOBATO, M. C.; FELDMAN, M. L.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology*, v.169, n.14, p.1417-1424, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.005>
- MASSOUD, K.; BARCHIETTO, T.; LE RUDULIER, T.; PALLANDRE, L.; DIDIERLAURENT, L.; GARMIER, M.; AMBARD-BRETTEVILLE, F.; SENG, J. M.; SAINDRENAN, P. Dissecting the phosphite-induced priming in *Arabidopsis* infected with *Hyaloperonospora arabidopsis*. *Plant Physiology*, v.159, n.1, p.286-298, 2012. <https://doi.org/10.1104/pp.112.194647>
- NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap.6, p.139-153.
- PINO-NUNES, L. E.; LATTARULO, M.; PERES, L. E. P. Manual do modelo vegetal Micro-Tom: Plantio, irrigação e adubação nas canaletas/vasos e cultivo no canteiro. [2010]. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/docentes/lazaropp/protocols.html>>. Acesso em 28 de set. de 2015.
- REBOLLAR-ALVITER, A.; WILSON, L. L.; MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A. A comparative evaluation of post-infection efficacy of mefenoxam and potassium phosphite with protectant efficacy of azoxystrobin and potassium phosphite for controlling leather rot of strawberry caused by *Phytophthora cactorum*. *Crop Protection*, v.29, n.4, p.349-353, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.12.009>
- REZENDE, D. C. Fosfito de potássio no controle de *Phytophthora* spp. em citros e faia e seu modo de ação. Piracicaba: USP, 2014. 109p.
- RIBEIRO JÚNIOR, P. M. Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*. Lavras: UFLA, 2008. 105p.
- TÖFOLI, J. G.; MELLO, P. C. T.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J. T. Controle da requeima e pinta preta da batata por fungicidas: conceitos, evolução e uso integrado. *Instituto Biológico*, v.75, n.1, p.41-52, 2013. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001172013>
- TÖFOLI, J. G.; MELLO, S. C.; DOMINGUES, R. J. Efeito do fosfito de potássio isolado e em mistura com fungicidas no controle da requeima do tomateiro. *Instituto Biológico*, v.79, n.2, p.201-208, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572012000200008>
- TÖFOLI, J. G. Ação de fungicidas e indutores de resistência no controle da requeima e pinta preta na cultura da batata. Piracicaba: USP, 2011. 175p.
- TRAW, M. B.; BERGELSON, J. Interactive effects of jasmonic acid, salicylic acid, and gibberellin on induction of trichomes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v.133, n.3, p.1367-1375, 2003. <https://doi.org/10.1104/pp.103.027086>
- YAN, Z.; REDDY, M. S.; RYU, C-M.; MCINROY, J. A.; WILSON, M.; KLOEPPER, J. W. Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, v.92, n.12, p.1329-1333, 2002. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.12.1329>
- YOSHIKAWA, M.; YAMAUCHI, K.; MASAGO, H. Glyceollin: its role in restricting fungal growth in resistant soybean hypocotyls infected with *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Physiological Plant Pathology*, v.12, n.1, p.73-82, 1978.