



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
CURSO DE CIÊNCIAS RURAIS**

PATRÍCIA GRAOSQUE ULGUIM ZÜGE

**ESTUDO DO PAPEL DOS HORMÔNIOS VEGETAIS NA
SUSCETIBILIDADE DO FRUTO DE TOMATEIRO ÀS
PODRIDÕES PÓS-COLHEITA.**

CURITIBANOS

Novembro/2014

Patrícia Graosque Ulguim Züge

Estudo do Papel dos Hormônios Vegetais na Suscetibilidade do Fruto de
Tomateiro às Podridões Pós-Colheita.

Projeto apresentado como exigência da
disciplina de Projetos em Ciências Rurais,
do curso de Ciências Rurais, ministrado
pela Universidade Federal de Santa
Catarina sob orientação do Professor Ivan
Sestari.

CURITIBANOS

Novembro/2014

RESUMO

As podridões que ocorrem no período de pós-colheita, são responsáveis por elevado percentual de perdas, ocasionando redução na qualidade e conseqüentemente causando prejuízos econômicos na comercialização de frutos. Entre as várias podridões que ocorrem na pós-colheita, a chamada “olho de boi” causada pelo fungo *Cryptosporipsis perennans*, ocorre principalmente em frutos de maçã (*Malus domestica*) durante o período de armazenamento. Vários estudos demonstram que alguns hormônios vegetais como o etileno e o ácido jasmônico podem ser benéficos para as plantas contra o ataque de insetos e patógenos. Este projeto propõe a utilização de um modelo de estudo com base em mutantes hormonais em tomateiro para estudar o papel do etileno e do ácido jasmônico na suscetibilidade dos frutos ao fungo *Cryptosporipsis perennans*. Além disso, este estudo propõe a geração de duplos mutantes hormonais (etileno x ácido jasmônico), a fim de verificar se há interação entre estas classes hormonais na defesa do fruto contra o referido fungo. Para tal, quatro repetições de 20 frutos da cv. Micro-Tom, dos mutantes Never ripe, epinastic e jasmonic acid insensitive-1 e da combinação de duplos mutantes serão inoculados com o fungo *C. perennans*. Após a inoculação, o desenvolvimento do fungo nas lesões será avaliado diariamente, quanto à incidência e severidade. A verificação da normalidade dos dados obtidos se dará pelo teste de Shapiro-Wilk. Através deste estudo espera-se como resultado aprofundar o conhecimento acerca do papel desempenhado pelo etileno e o ácido jasmônico na suscetibilidade de frutos de tomateiro ao fungo. Em função dos resultados obtidos tratamentos pós-colheita com os referidos hormônios poderão ser desenvolvidos para reduzir os danos ocasionados por este fungo em pós-colheita da maçã.

Palavras-chave: interação hormonal; fungo biotrófico; Micro-Tom; etileno; ácido jasmônico; duplo mutante.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. JUSTIFICATIVA.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Podridões em Pós-colheita.....	6
3.2. Influência dos Hormônios Vegetais: Ácido Jasmônico e Etileno.....	6
3.3. Micro-Tom como Modelo de Estudo.....	8
4. HIPÓTESE.....	9
5. OBJETIVOS.....	9
6. METODOLOGIA	9
6.1. Material vegetal e Condições de Cultivo	9
6.2. Cruzamento e Geração de Duplos mutantes na Cultivar Micro Tom.....	10
6.3. Inoculação dos Frutos e Teste de Suscetibilidade ao Fungo	11
7. RESULTADOS ESPERADOS	12
8. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DAS ATIVIDADES.....	13
9. ORÇAMENTO DETALHADO DO PROJETO	14
10. REFERÊNCIAS.....	15

1. INTRODUÇÃO

As perdas de frutos ocasionadas por podridões ocorrem em alguns casos no pomar, mas se intensificam no período de pós-colheita. Isto ocorre principalmente porque os frutos como por exemplo a maçã ficam armazenados em atmosfera controlada por vários meses após a colheita. Yu et al (2009) citam que doenças em pós-colheita são responsáveis por perdas substanciais de vegetais e frutas, pois elas são hospedeiros naturais de fungos patógenos que ocasionam podridões.

Dentre as podridões que ocorrem no período de pós-colheita, a podridão conhecida como olho de boi , onde, o agente causal é *Cryptosporipsis perennans* vem causando grandes prejuízos para empresas e produtor, reduzindo a qualidade de frutos de maçã (SANHUEZA et al., 2006).

O etileno é um hormônio vegetal que regula vários aspectos do ciclo de vida da planta, dentre estes aspectos está a resposta para estresses bióticos como o ataque de patógenos (LIN, ZHONGE E GRIERSON , 2009).

A aplicação exógena do metil jasmonato (MeJA) ativa as defesas das plantas e previne contra distúrbios de pós-colheita (ROHWER; ERWIN, 2008). Segundo Ferrareze et al., (2013) os jasmonatos reduzem várias causas de doenças de fungos, bactérias e vírus patógenos e reduzindo doenças severas em vários casos e outras incidências de doenças.

A interação entre o etileno e o ácido jasmônico pode ser benéfica para o fruto, uma vez que vários trabalhos citam que estes hormônios vegetais são benéficos contra o desenvolvimento de doenças ocasionadas por patógenos.

Para realização do estudo da interação entre o etileno e metil jasmonato na defesa do fruto e da planta contra desenvolvimento da podridão olho de boi, pode ser empregado a utilização dos mutantes de tomate, por ser uma das melhores formas de estudar a influência dos hormônios vegetais nestes mecanismos de defesa.

2. JUSTIFICATIVA

As perdas de frutos no período de pós-colheita causam prejuízos econômicos para as empresas e produtores. O estudo da interação dos hormônios vegetais (etileno e ácido jasmônico) no desenvolvimento de podridões, é de grande importância uma vez que estudos sugerem que a este hormônio está envolvido no controle de determinados

tipos de fungos , especialmente os biotróficos, que se desenvolvem no período pós-colheita.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Podridões em Pós-colheita

Durante o armazenamento dos frutos no período de pós-colheita, pode ocorrer o desenvolvimento de várias podridões, dentre elas a chamada podridão olho de boi, que é causada pelo fungo *Cryptosporipsis perennans*, resultando em diversas perdas de frutos. Os trabalhos encontrados relatam a ocorrência deste fungo em pomáceas, principalmente a maçã, sendo um grande problema e causando prejuízos para as indústrias e produtores.

A infecção dos frutos pelo fungo *C. perennans* pode ocorrer durante todo o ciclo, principalmente quando o fruto está próximo da maturação, este patógeno não precisa de ferimentos para iniciar a infecção, mas o processo é facilitado por lesões causadas por insetos, granizo, durante a manipulação na colheita e pós-colheita (SANHUEZA et al., 2002).

As perdas ocasionadas pela podridão olho de boi ocorrem durante e após a frigorificação, ou seja, mesmo no armazenamento em atmosfera controlada e em temperaturas baixas que variam de 0° C a 1° C, pode ocorrer o desenvolvimento da podridão (SANHUEZA et al., 2006).

O etileno desempenha um decisivo papel durante o armazenamento, uma vez que este hormônio estimula o amadurecimento dos frutos (SAQUET E STREIF, 2002). A redução do etileno pode influenciar no processo de desenvolvimento de podridões durante o período de armazenagem, uma vez que vários autores citam que o etileno pode ser benéfico contra patógenos.

3.2. Influência dos Hormônios Vegetais: Ácido Jasmônico e Etileno

As plantas empregam estratégias de defesa que as protege contra diversos ataques de pragas e doenças. Vários estudos tem mostrado que os jasmonatos auxiliam na defesa das plantas (ROHWER; ERWIN, 2008; THALER; OWEN e HIGGINS, 2004). Níveis de resistência de plantas são geralmente influenciados por sistema de sinalização mediado por hormônios (SEILANANTZ; GRANT; JONES, 2013).

Os jasmonatos são reguladores de crescimento em plantas, e também induzem a expressão de diversos genes relacionados à defesa contra estresses (SOARES; MACHADO, 2007).

Algumas respostas de defesa das plantas são controladas por mecanismos dependentes do etileno e/ou jasmonato. A indução da expressão de alguns genes requer tanto o etileno como o ácido jasmônico, enquanto que a expressão de outros genes requer apenas um destes hormônios (GLAZEBROOK, 2005).

O metil jasmonato (MeJA) é o principal derivado do ácido jasmônico (Figura 1) e é conhecido por ter um papel fundamental nas respostas de defesa que regulam e induzem a resistência a fungos patogênicos (YU et al., 2009). Há uma infinidade de respostas da planta quanto a síntese e presença do MeJA, onde a aplicação do mesmo como gás pode ativar defesas e prevenir contra distúrbios de pós-colheita (ROHWER E ERWIN, 2008). As Plantas respondem a ataques de patógenos ou insetos com a produção de uma combinação específica de sinais de alarme, dentro destes alarmes está o ácido jasmônico e o etileno, que variam em quantidade, composição e tempo (KOORNNEEF e PIETERSE, 2008).

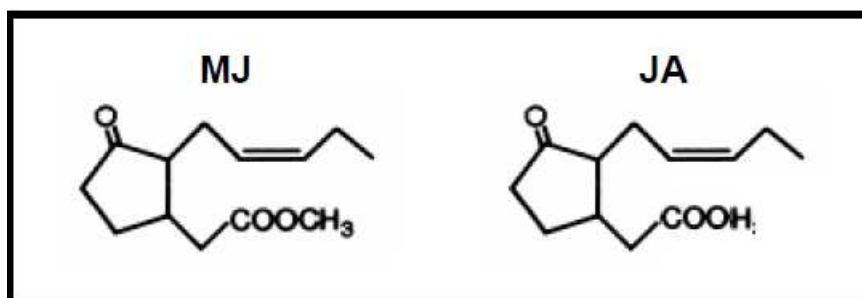


Figura 1- Estrutura química do metil jasmonato (MeJA ou MJ) e do ácido jasmônico (JA).

O etileno (Figura 2) regula vários aspectos do ciclo de vida da planta, incluindo a germinação da semente, iniciação da raiz, desenvolvimento das raízes secundárias, desenvolvimento da flor, determinação do sexo, amadurecimento do fruto, senescência, e resposta para estresses bióticos e abiótico (ferimentos, hipóxia e *chilling*) (LIN; ZHONG E GRIERSON, 2009). O etileno juntamente com o MeJa, atua na expressão de proteínas de defesa na planta (SOARES; MACHADO, 2007).

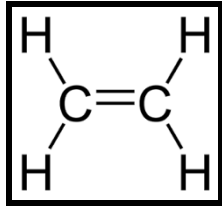


Figura 2- Estrutura química do etileno.

3.3. Micro-Tom como Modelo de Estudo

A cultivar Micro-Tom foi proposta como um modelo para estudos genéticos por Meissner et al. (1997). Uma das vantagens do uso desta cultivar como modelo é que de 70 à 90 dias as plantas produzem frutos maduros e sementes, com isso pode-se obter resultados de estudos em pouco tempo. O uso de mutantes no tomateiro tem demonstrado ser uma ferramenta importantíssima para estudos que envolvem fisiologia e genética, visando estudar a função dos hormônios durante as diversas fases do desenvolvimento de uma planta (FUJINO et al., 1988; PINO-NUNES, 2005).

Organismos mutantes são ferramentas utilizadas em estudos biológicos, com isso é possível estudar as funções dos genes e compostos orgânicos envolvidos em aspectos específicos da vida de organismos (CAMPOS et al., 2009).

Os mutantes de tomate são utilizados em particular como sistemas para examinar o papel dos hormônios durante o desenvolvimento da planta (FUGINO et al., 1988).

Mutantes de etileno tem sido ferramentas poderosas em pesquisa genética e bioquímica para elucidar a modulação de etileno durante o estresse (MONTEIRO et al., 2010).

Com uma ampla coleção de mutantes hormonais, torna-se bastante interessante a utilização destes mutantes para investigar a interação entre o etileno e do ácido jasmônico na suscetibilidade do fruto do tomateiro ao fungo *C. perennas*.

O mutante *jai-1* produz ácido jasmônico, mas não é responsivo a ele. Este mutante tem fêmea estéril por isso é utilizado como doador de pólen, apresenta desenvolvimento falho de sementes e frutos, possui heteroestilia e senescência retardada (CAMPOS, 2009).

O mutante *epi* tem alta produção de etileno e sua função gênica é desconhecida (FUJINO et al., 1988). O *Nr* tem baixa sensibilidade ao etileno, tem amadurecimento retardado e é defectivo para o gene homólogo ETR1 que é um receptor de etileno em *Arabidopsis* (WILKINSON et al., 1995).

Estes mutantes serão utilizados para analisar os efeitos isolados dos respectivos hormônios e também a interação entre as classes hormonais.

4. HIPÓTESE

A suscetibilidade de frutos as podridões que se desenvolvem no período pós-colheita é controlada pela interação entre diferentes classes hormonais.

5. OBJETIVOS

5.1. Geral

O objetivo deste trabalho será estudar a interação do etileno com o ácido jasmônico na suscetibilidade do fruto do tomateiro ao fungo *Cryptosporopsis perennans*.

5.2. Específico

- 1) Obter duplos mutantes entre o etileno e o ácido jasmônico em mutantes da cultivar Micro Tom de tomateiro como *background* genético.
- 2) Avaliar a suscetibilidade de frutos do tomateiro as podridões em mutantes insensíveis ao etileno e ao ácido jasmônico e em combinações de duplos mutantes entre as duas classes hormonais.

6. METODOLOGIA

6.1. Material vegetal e condições de cultivo

As atividades de pesquisa relacionadas ao projeto serão desenvolvidas no Laboratório de Ecologia e Morfofisiologia Vegetal da UFSC, Campus Curitibanos. O cultivo dos genótipos de tomateiro para obtenção de frutos será realizado em uma casa de vegetação com temperatura controlada e a irrigação das plantas será realizada manualmente. Os genótipos utilizados no trabalho serão a cultivar Micro Tom (MT) e os mutantes *Never ripe (Nr)*, *epinastic (epi)* e *jasmonic acid insensitive-1 (jai-1)*, que já foram obtidos em trabalhos anteriores (CARVALHO et al., 2011) (Tabela 1).

Para o cultivo das plantas utilizadas nos experimentos (MT-*Nr*, MT-*epi* e MT-*jai-1*), suas sementes serão semeadas em vasos de 250 mL contendo substrato comercial (Plantmax HT, Eucatex) com vermiculita expandida na proporção de 1:1. Para cada litro de substrato será adicionado 4 g de calcário e 1 g de adubo NPK 10-10-

10. Aproximadamente duas semanas após a semeadura, quando as plântulas exibirem o primeiro par de folhas verdadeiras, será realizado o transplante para vasos do tipo jardineira com capacidade para 8 litros contendo a mesma proporção de substrato comercial e vermiculita, conforme descrito anteriormente. Detalhamentos adicionais a respeito da descrição dos genótipos, protocolos de cultivo e do controle fitossanitário a serem utilizados podem ser obtidos no site da ESALQ (ESALQ, 2014).

6.2. Cruzamentos e geração de duplos mutantes na cultivar Micro Tom

Os procedimentos de emasculação, coleta de pólen e cruzamento de tomateiro seguirão métodos tradicionais (SACKS et al., 1997). Ilustrações didáticas de tais procedimentos, bem como maiores explicações sobre o processo de introgressão e criação de linhagens quase isogênicas será de acordo com ESALQ (2014).

Para geração dos duplos mutantes *Nr/jai-1* e *epi/jai-1* os mutantes homocigotos simples (*Nr*, *jai-1* e *epi*) (Tabela 1) serão cruzados e fenotipicamente triados na geração F2 (Tabela 2). Em todos os cruzamentos o mutante *jai-1* será o genitor masculino.

Tabela 1. Mutantes hormonais que serão avaliados neste projeto.

Mutante/Transgênico	Hormônio	Descrição / Função gênica	Referência
<i>Never ripe (Nr)</i>	Etileno	Baixa sensibilidade ao etileno. Defectivo para gene homólogo a <i>ETR1</i> de <i>Arabidopsis</i> , um receptor de etileno. Amadurecimento retardado.	Wilkinson et al. (1995)
<i>epinastic (epi)</i>	Etileno	Alta produção de etileno. Função gênica desconhecida.	Fujino et al., 1988
<i>jasmonic acid insensitive-1 (jai-1)</i>	ácido jasmônico	Baixa sensibilidade ao ácido jasmônico. Defectivo para um gene homólogo a <i>COI</i> de <i>Arabidopsis</i> .	Li et al. (2004); Campos et al. (2009)

Tabela 2- Cruzamento entre os mutantes e geração dos duplos mutantes.

Genótipos	Cruzamentos	F2 (Duplo Mutante)
<i>Nr</i>	<i>jai-1</i> (♂)X <i>Nr</i> (♀)	<i>jai-1/Nr</i>
<i>Epi</i>		
<i>jai-1</i>	<i>jai-1</i> (♂)X <i>epi</i> (♀)	<i>jai-1/epi</i>

6.3. Inoculação dos frutos e teste de suscetibilidade ao fungo

Após a colheita, os frutos provenientes de cada genótipo (MT, *Nr*, *jai-1*, *epi*, *Nr/jai-1* e *epi/jai-1*) serão selecionados quanto ao tamanho, ausência de injúrias mecânicas e estágio de maturação de modo a se obter lotes homogêneos de frutos. Após a remoção do cálice, os frutos serão imersos em solução 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de hipoclorito de sódio por 5 minutos para desinfecção da superfície e, após este período, serão expostos à temperatura ambiente para secar. A seguir, serão realizadas quatro lesões na região equatorial de cada fruto. Nestas lesões, será adicionado 50 μL de uma solução contendo o fungo *Cryptosporiopsis perennans* na concentração de 10^5 conídios mL^{-1} . Os frutos serão armazenados em B.O.D a 20°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) com umidade relativa do ar de 80% ($\pm 5\%$), durante 30 dias. Após a inoculação, avaliaremos a incidência (percentual de frutos com sintoma de podridão) e a severidade (percentual de lesões afetadas por fruto) das lesões ocasionadas pelo referido fungo em intervalos de três dias. Os dados obtidos serão expressos em percentual.

6.4. Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental será o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos que serão os genótipos *Nr*, *epi*, *jai-1*, *Nr/jai-1*, *epi/jai-1* e a cultivar Micro Tom como controle. Para cada um dos tratamentos serão realizadas 4 repetições com 20 frutos cada. A verificação da distribuição normal dos dados obtidos se dará pelo teste de Shapiro-Wilk. Caso verificada a distribuição normal, médias e desvios padrões serão mensurados para posterior análise de variância, com médias diferenciadas segundo o teste LSD (*Least Significant Difference*) a 5% de probabilidade de erro.

7. RESULTADOS ESPERADOS

Através deste estudo espera-se aprofundar o conhecimento acerca do papel desempenhado pelo etileno e o ácido jasmônico na suscetibilidade de frutos do tomateiro ao fungo. Independente da resposta obtida, a obtenção e caracterização dos duplos mutantes gerados trará resultados relevantes, pois através da sua fenotipagem esperamos identificar se há interação entre as duas classes hormonais e se afeta outros aspectos ligados a produção e qualidade dos frutos.

8. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DAS ATIVIDADES.

Atividades	2014					2015					
	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J
Cultivo dos mutantes	X	X									
Obtenção de duplos mutantes			X		X						
Coleta dos frutos				X	X	X	X				
Seleção e homogeneização dos frutos											
Inoculação dos frutos					X	X					
Avaliações laboratoriais						X	X				
Coleta e tabulação de dados						X	X	X			
Análise estatística dos dados								X	X		
Análise dos resultados, redação do relatório e artigo científico										X	X

9. ORÇAMENTO DETALHADO DO PROJETO

Descrição	Qtdade. (un.)	Valor Unitário (R\$)	Valor total (R\$)
MATERIAL PERMANENTE			
Micropipeta	1	256,60	256,60
B.O.D	1	3.900,00	3.900,00
Subtotal			4.156,60
MATERIAL DE CONSUMO			
Vermiculita expandida	10 sacos (20 L)	40,00	400,00
Substrato comercial	10 sacos (25 Kg)	25,00	250,00
Adubo formulado NPK (10-10-10)	2 Kg	15,00	30,00
Calcário agrícola	1 saco (50 Kg)	30,00	30,00
Inseticida, acaricida e fungicida	-	-	957,00
Contentores, vasos plásticos para cultivo e plaquinhas para identificação	-	-	475,00
Luvas descartáveis	1 caixa	130,00	130,00
Material de consumo para laboratório: papel alumínio, ponteiros, tubos eppendorfs e tubos falcon.	-	-	1250,00
Subtotal			3.522,00
TOTAL GERAL			7.678,60

10. REFERÊNCIAS

BRACKMANN, A.; WEBER, A.; PINTO, Z. A. V.; NEUWALD, D. A.; STEFFENS, C. A. Manutenção da qualidade pós-colheita de maçãs ‘Royal Gala’ e ‘Galaxy’ sob armazenamento em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 38, n. 9, p. 2478-2484, dez. 2008.

CAMPOS, M. L. **Controle Hormonal da Defesa à Herbivoria em Tomateiro**. 2009. Dissertação (mestrado em Fisiologia e Bioquímica de plantas)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

CAMPOS, M. L.; ALMEIDA, M.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P.; LITHOLDO JUNIOR, C. G.; FIGUEIRA, A.; RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T.; VENDRAMIM, J. D.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. Brassinosteroids interact negatively with jasmonates in the formation of anti-herbivory traits in tomato. **Journal of Experimental Botany**, v.60, p.4347-4361, 2009.

CARVALHO, R. F.; CAMPOS, M. L.; PINO, L. E.; CRESTANA, S. L.; ZSÖGÖN, A.; LIMA, J. E.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: Micro-Tom as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, p. 18, 2011.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ. **Protocolos**. Disponível em: < <http://www.esalq.usp.br/tomato>>. Acesso em: 2 outubro 2014.

FERRAREZE, J. P.; FUGATE, K. K.; BALTAN, M.D.; DECKARD, E. L.; CAMPBELL, L. G.; FINGER, F. L. Jasmonic acid does not increase oxidative defense mechanisms or common defense-related enzymes in postharvest sugarbeet roots. **Postharvest Biology and Technology**. v. 77. p. 11-18, 2012.

FUJINO, D. W.; BURGER, D. W.; YANG, S. F.; BRADFORD, K. J. Characterization of an ethylene overproducing mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar VFN8). **Plant Physiology**. v.88. p. 774-779, 1988.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**. v. 43, p. 205-227, 2005.

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

LI, L.; ZHAO, Y.; MCCAIG, B.C.; WINGERD, B.A.; WANG, J.; MARK, E.W.; PICHERSKY, E., HOWE, G.A.; The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. **The Plant Cell**. 16, 126-143, 2004.

LIN, Z.; ZHONG, S.; GRIERSON, D. Recent advances in ethylene research. **Jornal of Experimental Botany**. v. 60, n. 12, p. 3311-3336, Jun, 2009.

PINO-NUNES, L. E. **Obtenção e uso de Mutantes com Alterações no Balanço Auxina/Citocinina no Estudo da Competência Organogênica em Micro-Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* CV Micro-Tom)**. 2005. Dissertação (mestrado em Fisiologia e Bioquímica de plantas)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

ROHER, C. L.; ERWIN, J. E. Horticultural applications of jasmonato: a review. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**. v. 83. n. 3. p. 284-304, 2008.

SACKS, E.J.; GERHARDT, L.M.; GRAHAM, E.B.; JACOBS, J.; THORRUP, T.A.; CLAIR, D.A. St. Variation among 41 genotypes of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) for crossability to *L. peruvianum* (L.) Mill. **Annals of Botany**, v.80, p.469-477, 1997.

SANHUEZA, R. M. V.; BECKER, W.; BONETI, J. J. S.; KATSURAYAMA, Y.; CZERMAINSKI, A. B. C. Manejo das doenças de verão na produção integrada de maçã. **Circular Técnica 36-EMBRAPA**. Bento Gonçalves-RS, Jun, 2002.

SANHUEZA, R. M. V.; MAFFIOLETT, M.; COMPARIM, C. C.; KRASNIAK, J.; BOGO, A.; ARCARI, R. Características e controle da podridão “olho de boi” nas maçãs do Sul do Brasil. **Circular Técnica 66-EMBRAPA**, dez, 2006.

SAQUET, A. A.; BRACKMANN, A.; STORCK, L. Armazenamento de maçã ‘Gala’ sob diferentes temperaturas e concentrações de oxigênio e gás carbônico. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 27, n. 3, p. 399-405, 1997.

SAQUET, A. A.; STREIF, J. Respiração e produção de etileno de maçãs armazenadas em diversas concentrações de oxigênio. **Revista Brasileira Agrociência**, v.8, n.1, p. 71-75, Jan/Abr, 2002.

SEILANIANZ, A. R.; GRANT, M.; JONES, J. D. G. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just JASMONATE-SALICYLATE antagonisms. **Annual Review of Phytopathology**. v. 49, p. 317-343, 2011.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica- Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 9-18, 2007.

WILKINSON, J.Q.; LANAHAN, M.B; YEN H.C; GIOVANNONI J.J; KLEE H.J. An ethylene-inducible component of signal transduction encoded by Never-ripe. **Science**, 270: 1807-1809, 1995.

YU, M.; SHEN, L.; FAN, B.; ZHAO, D.; ZHENG, Y.; SHENG, J. The effect of MeJA on ethylene biosynthesis and induced disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato. **Postharvest Biology and Technology**. v.54. p. 153-158, 2009.