

WALTER JACOBELIS JUNIOR

**ESTROBILURINAS E CARBOXAMIDAS NA FISIOLOGIA E NO MANEJO DE
PINTA PRETA EM TOMATEIRO**

Botucatu

2020

WALTER JACOBELIS JUNIOR

**ESTROBILURINAS E CARBOXAMIDAS NA FISIOLOGIA E NO MANEJO DE
PINTA PRETA EM TOMATEIRO**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp, Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia: Horticultura.

Orientador: Prof. Dr. João Domingos
Rodrigues

Botucatu

2020

J15e

Jacobelis Junior, Walter

Estrobilurinas e carboxamidas na fisiologia e no manejo de pinta preta em tomateiro / Walter Jacobelis Junior. -- Botucatu, 2020

77 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: João Domingos Rodrigues

1. Fotossíntese. 2. Enzimas. 3. Tomate. 4. Fungicidas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTROBILURINAS E CARBOXAMIDAS NA FISIOLOGIA E NO MANEJO DE PINTA PRETA EM TOMATEIRO

AUTOR: WALTER JACOBELIS JÚNIOR

ORIENTADOR: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Prof.^a Dr.^a ELIZABETH ORIKA ONO
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Prof.^a Dr.^a CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO
Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. ÁTILA FRANCISCO MÓGOR
Fitotecnia e Fitossanidade / Universidade Federal do Paraná

Prof.^a Dr.^a CACILDA MÁRCIA DUARTE RIOS FARIA
Agronomia / Universidade Estadual do Centro Oeste

Botucatu, 26 de junho de 2020

Aos meus pais, filhos e esposa,

Amor infinito,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradecer à DEUS, sempre e por tudo.

Agradeço aos amores de minha vida: Fernanda, Neto e Cadu. Tenho o privilégio de dividir minha vida com vocês. Nunca me esquecerei de nossas colheitas juntos e, mesmo quando precisei ser internado, não perdemos as datas de coletas e colheita dos experimentos para que eu pudesse concretizar este sonho.

Agradeço aos meus pais: Walter e Rosângela, por ser minha referência, pelo amor dedicado, e a minha irmã Giovanna (e família) por toda oração para que tudo ocorresse bem. Aos meus sogros, Antônio Carlos e Dilma, e meus “novos” irmãos e suas famílias, sobrinhos e sobrinhas, principalmente pelo amor, carinho e orgulho que sinto.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Domingos Rodrigues, por todo ensinamento e amizade, assim como a Profa. Dra. Elizabeth Orika Ono e a Profa. Dra. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria. Agradeço também aos amigos Kim, Eduardo, Ronald e Vander, e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu realizasse este trabalho.

Agradeço também à FCA/UNESP, Campus de Botucatu/SP, em nome de todas as pessoas que me possibilitaram a realização deste sonho.

“Portanto, vós orareis assim:

Pai nosso, que estás nos céus, santificado seja o teu nome;

Venha o teu reino, seja feita a tua vontade, assim na terra como no céu;

O pão nosso de cada dia nos dá hoje;

E perdoa-nos as nossas dívidas,

assim como nós perdoamos aos nossos devedores;

E não nos conduzas à tentação; mas livra-nos do mal;

porque teu é o reino, e o poder, e a glória, para sempre. Amém”

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito da aplicação de fungicidas à base de estrobilurinas e carboxamidas na fisiologia e produção de frutos de tomateiro em ambiente protegido. Foram realizados dois experimentos em Salto-SP em 2018 e 2019. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com sete tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos avaliados foram: testemunha inoculada (aplicação de água e inóculo), testemunha absoluta (aplicação de água), azoxistrobina 50 g ha⁻¹, boscalida 50 g ha⁻¹, azoxistrobina 50 g ha⁻¹ + boscalida 50 g ha⁻¹, piraclostrobina 100 g ha⁻¹ e piraclostrobina 100 g ha⁻¹ + boscalida 50 g ha⁻¹. Foram realizadas oito aplicações dos tratamentos, quinzenalmente, a partir dos 15 dias após o transplântio (DAT). Para verificar a eficiência fotossintética das plantas foi realizada a avaliação da fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas determinando-se a taxa de assimilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*), concentração interna de carbono (*C_i*) e foram calculadas a eficiência do uso da água (*A/E*) e a eficiência de carboxilação (*A/C_i*), em diferentes datas após o transplântio. Foram avaliados os teores de pigmentos fotossintéticos: clorofilas *a* e *b* e carotenoides. E também o teor de antocianinas. Foi avaliada também a atividade das enzimas antioxidantes das plantas pela quantificação da atividade das enzimas SOD, CAT e POD, antes da aplicação dos tratamentos e 12, 24, 96 h e 7 dias após a aplicação dos tratamentos. Verificou-se também a severidade da doença (%) e, por fim, a partir da soma das colheitas realizadas no decorrer do ciclo, calculou-se a produção total e comercial de frutos. A partir dos resultados obtidos pode-se verificar que a aplicação dos fungicidas testados promoveu respostas fisiológicas positivas nas plantas de tomateiro, ativando o sistema antioxidativo e controlando a doença pinta preta. As aplicações dos fungicidas boscalida 50 g ha⁻¹ e azoxistrobina 50 g ha⁻¹ + boscalida 50 g ha⁻¹ foram aqueles que proporcionaram de forma significativa as maiores respostas fisiológicas, enzimáticas e produtivas do tomateiro em ambiente protegido.

Palavras-chave: Fotossíntese. Enzimas. Tomate. Fungicidas. Produção.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the application of fungicides based on strobirulins and carboxamides on the physiology and production of tomato fruits in a protected environment. Two experiments were carried out in Salto-SP in 2018 and 2019. The experimental design used was in randomized blocks, with seven treatments and five repetitions. The evaluated treatments were: inoculated control (application of water and inoculum), absolute control (application of water), azoxystrobin 50 g ha⁻¹, boscalide 50 g ha⁻¹, azoxystrobin 50 g ha⁻¹ + boscalide 50 g ha⁻¹, pyraclostrobin 100 g ha⁻¹ and pyraclostrobin 100 g ha⁻¹ + boscalide 50 g ha⁻¹. Eight treatments were applied, fortnightly, from 15 days after transplantation (DAT). To verify the photosynthetic efficiency of the plants, the fluorescence assessment of chlorophyll *a* and gas exchange was performed by determining the CO₂ assimilation rate (*A*), stomatal conductance (*g_s*), transpiration (*E*), internal carbon concentration (*C_i*) and water use efficiency (*WUE*) and carboxylation efficiency (*A/C_i*) were calculated at different dates after transplanting. The levels of photosynthetic pigments were evaluated: chlorophylls *a* and *b* and carotenoids. And also the anthocyanin content. The activity of antioxidant enzymes in plants was also evaluated by quantifying the activity of the enzymes SOD, CAT and POD, before the application of treatments and 12, 24, 96 h and 7 days after application of treatments. The severity of the disease was also verified (%) and, finally, from the sum of the harvests carried out during the cycle, the total and commercial production of fruits was calculated. From the results obtained, it can be seen that the application of the tested fungicides promoted positive physiological responses in tomato plants, activating the antioxidative system and controlling the black spot disease. The applications of the fungicides boscalide 50 g ha⁻¹ and azoxystrobin 50 g ha⁻¹ + boscalide 50 g ha⁻¹ were those that significantly provided the highest physiological, enzymatic and productive responses of tomatoes in a protected environment.

Keywords: Photosynthesis. Enzymes. Tomato. Fungicides. Production.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	CULTIVO DO TOMATEIRO.....	17
2.3	PINTA PRETA (<i>ALTERNARIA SP.</i>).....	18
2.4	EFEITOS FISIOLÓGICOS DAS ESTROBILURINAS E CARBOXAMIDAS.....	20
2.5	FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A E TROCAS GASOSAS.....	22
2.6	ESTRESSE OXIDATIVO.....	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
6	CONCLUSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	69

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), pertencente à família *Solanaceae*, originária dos Andes, é considerado uma hortaliça de relevância econômica e social em todo o mundo (FONTENELLE et al., 2011), sendo seu cultivo amplamente reconhecido como poderosa fonte geradora de emprego e renda em todos os segmentos de sua cadeia produtiva (GRIGOLLI et al., 2011). Todavia, a produção dessa hortaliça tem custos elevados devido à alta necessidade de insumos, irrigações e fertirrigações, monitoramento e controle semanal de pragas e doenças, além do uso intensivo de mão-de-obra para a condução da cultura. Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), a produção nacional de tomate foi de 3.737.925 t, sendo a região Sudeste a maior produtora com 1.799.478 t de frutos (os maiores produtores são os estados de São Paulo e Minas Gerais) e em segundo e terceiro lugar despontam as regiões Centro-Oeste e Nordeste, respectivamente.

Nas últimas décadas, ocorreu crescente expansão do cultivo e, conseqüentemente, surgiram vários problemas fitossanitários com destaques a várias doenças causadas por fungos, sendo uma das principais a pinta preta causada pelo patógeno *Alternaria* sp.. É uma doença de ocorrência mundial e por ser altamente agressiva, provoca danos severos na cultura do tomateiro (DOMINGUES et al., 2009; SONG et al., 2011).

Entre os métodos de controle utilizados, a aplicação de fungicidas é a mais frequente (FREITAS FILHO et al., 2008). Estes produtos químicos protegem a planta contra o ataque do patógeno (REIS et al., 2007), podendo apresentar ação protetora ou sistêmica. Entre os fungicidas sistêmicos registrados para o controle da pinta preta em tomateiro, encontram-se fungicidas dos grupos das estrobilurinas e carboxamidas. Entretanto, estas substâncias, além da ação fungitóxica, também podem proporcionar efeitos fisiológicos positivos nas plantas.

Entre os principais resultados observados no uso destas moléculas destacam-se maiores acúmulos de biomassa e produtividade, incremento fotossintético, aumento da atividade da enzima nitrato redutase, maiores teores de pigmentos fotossintéticos e redução do estresse oxidativo. Este efeito na fisiologia das plantas tem sido estudado em diferentes culturas como soja, feijão, milho, banana, tomate,

pepino, alface, melão e videira (LIMA et al., 2012; CARRIJO, 2014; MANSANO, 2014; MAREK, 2016; AMARO et al., 2018;). Outros estudos também demonstram melhoras na qualidade pós-colheita de frutos de tomate e melão (RAMOS et al., 2013; MACEDO et al., 2017).

Estes efeitos fisiológicos evidenciados nestes estudos resultaram em melhorias no crescimento, desenvolvimento e metabolismo fotossintético da planta, culminando em maior produtividade. Além disso, estes efeitos também são observados no sistema antioxidativo da planta, podendo estimular possíveis ações nas respostas de defesa da planta, pois a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), tem função essencial nos mecanismos de defesa do vegetal, além de atuar como sinalizador no processo de indução de resistência (LEHMANN et al., 2015).

As aplicações de fungicidas formulados à base de estrobilurinas e carboxamidas, além de controlarem doenças e proporcionarem os efeitos fisiológicos já descritos, também podem ativar respostas de defesa em plantas de tomateiro. Isto possibilitaria maior controle do patógeno e de outros possíveis agentes estressores, pois a resistência apresenta sistematicidade (HAMMERSCHMIDT et al., 2001). O uso destes produtos se torna importante ferramenta para o produtor no manejo de controle de pinta preta em tomateiro, pois controlam diretamente o fungo causador da doença inibindo seu desenvolvimento, mas também auxiliam na melhora do metabolismo das plantas incrementando a produtividade, além de ativar o arsenal de defesa da planta. Esta proteção não se limita apenas às partes da planta que receberam o tratamento, mas se estende para aquelas não tratadas, além de agir de forma não específica, podendo atuar sobre um ou vários patógenos.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de carboxamidas e estrobilurinas no metabolismo e produção de plantas de tomateiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultivo do tomateiro

A região dos Andes na América do Sul é o centro de origem do tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.), sendo o México o local de domesticação dessa hortaliça (ALVARENGA, 2013) com posterior difusão pelos espanhóis e portugueses. Também segundo esse autor, no Brasil, a introdução do tomateiro deveu-se a imigrantes europeus no final do século XIX.

O tomateiro pertence à família botânica Solanaceae e ao gênero *Solanum*, cujo nome científico é *Solanum lycopersicon*, nomenclatura proposta por Linnaeus em 1753, que inclui outras espécies conhecidas, como a batata, o tabaco, as pimentas e a berinjela (NAIKA et al., 2006). É uma planta perene, de porte arbustivo, cultivada anualmente. Desenvolve-se bem em diferentes latitudes, tipos de solo, temperaturas e métodos de cultivos (ALVARENGA, 2013). Para o cultivo do tomateiro encontram-se disponíveis cultivares ou híbridos com características de hábito de crescimento indeterminado ou determinado, caracterizados pelos segmentos de mesa e de indústria. As cultivares de hábito de crescimento indeterminado, se destacam para a produção de frutos de mesa (consumo *in natura*) e seu manejo inclui o tutoramento e podas, podendo também ser realizado o raleio de frutos (NAIKA et al., 2006).

Quanto ao fotoperíodo as plantas se desenvolvem bem entre nove e quinze horas de luminosidade diária. A cultura é muito exigente em água nas fases de desenvolvimento e produção. A umidade relativa do ar tem efeitos indiretos, principalmente, no que diz respeito à multiplicação de fungos e bactérias fitopatogênicas (NAIKA et al., 2006).

Frutos com melhor aparência visual influenciam na escolha do consumidor, quanto ao tamanho, formato e defeitos externos (HEINE et al., 2015). A produtividade e a qualidade pós-colheita são reflexos do manejo adotado durante todo o ciclo da cultura.

2.2 Importância econômica

Mundialmente o fruto do tomateiro, o tomate, é a principal hortaliça consumida *in natura* em volume (HACHMANN et al., 2014). Em 2017, a produção mundial foi de 180.301,395 toneladas, sendo a China o maior produtor (32,64%), seguida pela Índia, Turquia, Estados Unidos, Egito, Irã, Itália, Espanha, México e Brasil (FAOSTAT, 2018).

O tomateiro é a segunda solanácea mais cultivada no mundo, sendo a produção brasileira em 2017 de 3,8 milhões de toneladas, em aproximadamente 65 mil hectares (IBGE, 2018), o estado de Goiás é o maior produtor do país, seguido pelo Estado de São Paulo.

A produção do tomateiro ocorre em todas as regiões do país e em diferentes épocas do ano; para melhorar a distribuição dessa hortaliça e diminuir as perdas pós-colheita é necessário o controle do processo de amadurecimento dos frutos de tomateiro, aumentando seu tempo de comercialização. As estimativas de perdas pós-colheita do tomateiro são superiores a 30%, especialmente por deterioração fisiológica, desenvolvimento de doenças e danos mecânicos (LUENGO et al., 2001).

A cultura do tomateiro possui inúmeras doenças fitossanitárias, que podem acometer a planta ao longo do ciclo, o que a torna uma hortaliça de elevado nível de risco econômico (ALVARENGA, 2013).

2.3 Pinta preta (*Alternaria sp.*)

Grande parte das doenças do tomateiro são controladas eficientemente a partir de um adequado programa de manejo, integrando o uso de variedades resistentes e a adoção de medidas de exclusão, erradicação e proteção da planta contra agentes fitopatogênicos (KUROZAWA, 2005), sendo uma das principais doenças a pinta preta, com ocorrência em todas as regiões onde o tomateiro é cultivado.

O agente etiológico da pinta preta, os fungos da espécie de *Alternaria sp.*, foi descrito pela primeira vez em folhas de beterraba, em New Jersey, em 1882, e sua patogenicidade comprovada por volta de 1896. Este agente patológico pertence ao grupo dos fungos da classe Deuteromicetos (VALE et al., 2000), também chamados fungos anamórficos ou imperfeitos, pois não se conhece ainda seu ciclo sexuado.

O fungo se caracteriza por possuir micélio septado e ramificado. Os conidióforos são multicelulares com septos transversais e longitudinais, clavados com uma das extremidades pontiagudas, com ou sem apêndice (KUROZAWA, 2005). A infecção por *A. solani* ocorre, principalmente, em condições de temperatura e umidade elevadas (FILGUEIRA, 2005), com lesões tornando-se visíveis sob condições favoráveis entre 48 a 120 horas após a inoculação. Segundo o mesmo autor, se observa maior incidência de pinta preta a partir da quarta semana após o transplante, tanto em tomateiros em sistema de cultivo rasteiro como no tutorado, acentuando-se gradativamente em algumas cultivares.

A doença apresenta alto potencial destrutivo, causando danos em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Toda a parte aérea da planta pode apresentar sintomas da doença, independentemente da idade, mas há maior tendência de as lesões aparecerem com maior frequência nas folhas mais velhas (KUROZAWA, 2005). Segundo Töfoli e Domingues (2005) o aumento de suscetibilidade à pinta preta está associado aos tecidos maduros, sendo mais frequente durante a fase de frutificação.

A doença caracteriza-se pela presença de manchas pequenas de cor marrom escura, circundadas ou não de um halo amarelado. À medida que a lesão cresce, formam-se anéis concêntricos, bastante característicos desta doença (FREITAS FILHO et al., 2008). Quando não é controlada adequadamente há severa destruição da área foliar e, nos frutos, verifica-se podridão deprimida, circular, próxima ao pedúnculo, coberta por mofo preto (ALVARENGA, 2013).

Devido à alta agressividade com que se desenvolve, a pinta preta provoca perdas diretas por infectar os frutos e indiretas pela redução do vigor da planta, reduzindo o crescimento devido ao decréscimo da fotossíntese, pelos danos à área fotossinteticamente ativa, além da ocorrência da desfolha em estádios mais avançados da doença (ALVARENGA, 2013).

2.4 Efeitos fisiológicos das estrobilurinas e carboxamidas

O uso de produtos com ação fungicida apenas como agente de controle de fitopatógenos tem mudado. Segundo Venancio et al. (2003) o lançamento das estrobilurinas mudou o conceito de controle de doenças, sobretudo pelas vantagens obtidas com a ação destes produtos no metabolismo vegetal, promovendo efeitos fisiológicos positivos nas plantas.

São produtos de efeitos fisiológicos aqueles que alteram a fisiologia da planta, podendo promover aumento de produtividade e/ou qualidade na produção final. Cada cultura tem sua condição ideal para atingir o máximo em produção e isso depende da adubação, qualidade de semente, qualidade e nutrição do solo, controle de pragas e doenças, irrigação, luminosidade, temperatura, etc. (RAMOS, 2013). Estes produtos com ação fungicida ou inseticida podem ter como resultado o aumento da fotossíntese líquida (RAMOS, 2013).

A fotossíntese líquida é um indicador de produtividade (POPOV et al., 2003) e, assim, torna-se cada vez mais importante estudar a fisiologia das plantas e uma maneira de estudá-la é por meio das medidas de trocas gasosas. Fungicidas do grupo das estrobilurinas atuam na inibição da respiração mitocondrial, que bloqueia a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, interferindo na produção de adenosina trifosfato-ATP e na síntese de energia do patógeno (KANUNGO; JOSHI, 2014; MATOS et al., 2016). Diaz-Espejo et al. (2012) sugerem que há possível evidência de que a inibição do transporte de elétrons, que somente ocorreria a nível mitocondrial, também possa ocorrer em cloroplastos, após a aplicação de estrobilurinas em plantas, podendo ocorrer bloqueio “transitório” no transporte de elétrons dos cloroplastos e mitocôndrias. Ocorre então uma pequena alteração no ponto de compensação de CO₂ das plantas por conta do aumento transitório na rota alternativa da respiração (AOX), o que pode sobrepor a redução esperada da emissão de CO₂ devido à inibição da respiração mitocondrial (KÖEHLE et al., 1994). Grossmann e Retzlaff (1997) relatam que as alterações no ponto de compensação de CO₂ ocasionam aumento na taxa de fotossíntese líquida. Pois isso

contribui para a absorção de CO₂, desfavorecendo a sua liberação pela transpiração, de forma que há aumento da capacidade fotossintética das plantas.

Em estudos visando ganhos de produtividade é importante buscar informações sobre a assimilação de CO₂, bem como a eficiência do uso da água durante essa assimilação e a eficiência de carboxilação (BRANDÃO FILHO et al., 2003). Trabalhos realizados indicam aumento da taxa de assimilação de CO₂ de plantas de tomateiro tratadas com boscalida (RAMOS et al., 2015), como também em plantas de pepino não enxertadas (AMARO et al., 2018).

Existem também autores que relatam efeito bioquímico nas plantas a partir da aplicação desses fungicidas, incremento na atividade das enzimas SOD, CAT e POD em folhas de plantas de pepino enxertadas e submetidas à aplicação de azoxistrobina, piraclostrobina e boscalida (AMARO et al., 2018), como também aumento da ação da enzima nitrato redutase em plantas de pepino tratadas com boscalida (SIRTOLI et al., 2011). O aumento da atividade da enzima nitrato redutase, por sua vez, pode melhorar o balanço hormonal da planta e, assim, aumentar as concentrações de IAA (ácido indol-3-acético), I₆-ADE (isopentenil adenina) e IBA (ácido indol-3-butírico) e reduzindo a produção de etileno (KÖEHLE et al., 1994; YPEMA; GOLD, 1999).

Outro efeito importante causado pela aplicação de estrobilurinas e carboxamidas é a redução na produção de etileno, que retarda a senescência das folhas, aumentando o período que a planta permanece com a fotossíntese ativa, também chamado de 'efeito verde' (VENANCIO et al., 2003; TÖFOLI; DOMINGUES, 2007; FAGAN et al., 2010).

Ou seja, além da ação fungicida, estas moléculas atuam de forma positiva sobre a fisiologia das plantas, por meio de aumentos da atividade da enzima nitrato redutase e níveis de clorofila e da redução da produção de etileno. Tais efeitos contribuem diretamente para que as plantas sofram menor estresse no campo, assegurando maior qualidade e rendimento das colheitas. Estas moléculas apresentam ainda, ação residual prolongada, considerável tenacidade e perfil toxicológico favorável (TÖFOLI, 2004), além de efeitos fisiológicos positivos no rendimento das culturas (KÖEHLE et al., 1994). Elas proporcionam maior produtividade, folhas mais verdes, com mais clorofila, com ação na regulação

hormonal e assimilação de carbono e nitrogênio pela planta (VENÂNCIO et al., 2003).

2.5 Fluorescência da clorofila a e trocas gasosas

As plantas realizam fotossíntese durante algumas horas por dia e respiram durante as 24 horas, consumindo considerável parte dos compostos que produziram durante o período de fotossíntese (MAREK et al., 2018). Desta forma, para a obtenção de maior produção de frutos em uma planta é necessário aumentar a fotossíntese líquida através do aumento da fotossíntese bruta e redução da respiração (KLUGE et al., 2014).

A fotossíntese líquida (fotossíntese bruta menos a respiração e fotorrespiração) é um indicador da eficiência fotossintética das plantas em assimilar o CO_2 e converter em compostos orgânicos. Os fotoassimilados constituem aproximadamente 90% da massa seca da planta. Uma parte desses assimilados é utilizada durante o crescimento da planta, convertendo-se em biomassa; a outra parte é oxidada na respiração e serve como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (POPOV et al., 2003).

A produtividade é influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como dreno. Toda a produção da biomassa depende da atividade fotossintética da fonte, mas a assimilação do CO_2 é apenas um dos fatores que influenciam o desenvolvimento vegetal (FOYER; GALTIER, 1996).

A fotossíntese é um processo essencial à sobrevivência das plantas e, para que sejam ainda mais eficientes, elas desenvolveram vários mecanismos de fotorresposta, como, por exemplo, a abertura dos estômatos para absorver CO_2 (KAWAI et al., 2003). Os poros estomáticos permitem a perda de vapor de água para a atmosfera durante a transpiração e a entrada de CO_2 , através da redução fotossintética do carbono (VAVASSEUR; RAGHAVENDRA, 2005).

A abertura estomática é essencial, porém ocorre sob rígido controle, para que não ocorra perda excessiva de água pela planta, ou que ela fique privada de CO₂. Esse controle é atingido através de refinada sensibilidade das células-guarda para enorme quantidade de sinais ambientais e endógenos, incluindo luz, temperatura, umidade, CO₂ e quantidade de água na planta (ASSMANN; SHIMAZAKI, 1999).

Para que ocorra a síntese dos compostos orgânicos é necessário primeiramente a produção de ATP e NADPH+H⁺ formados durante o transporte de elétrons entre o fotossistema II (PSII) e o fotossistema I (PSI). Justamente neste processo, que os pigmentos fotossintéticos atuam eficientemente, convertendo a energia solar em energia química nos centros de reação (YEOM et al., 2014). No entanto, plantas quando submetidas a condições de estresse abiótico ou biótico, sofrem alterações no equilíbrio das reações fotossintéticas que acabam causando danos ao aparelho fotossintético. A planta reflete este dano por meio da concentração de pigmentos ou pela maior emissão de fluorescência da clorofila a (ZIVCAK, 2013).

Assim como ocorre na avaliação de trocas gasosas, outra técnica não destrutiva importante é a avaliação da fluorescência da clorofila a, permitindo a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo aparelho fotossintético, revelando em especial a 'saúde' e eficiência dos fotossistemas I e II (KRAUSE, 1991), além de permitir avaliar a taxa de transporte de elétrons (ETR) entre os centros de reação. Desta forma, fica evidenciada a eficiência fotossintética, refletindo no *status* da planta naquele momento, identificados pelos parâmetros avaliados (ZIVCAK, 2013).

2.6 Estresse oxidativo

Estresses ambientais como seca, salinidade, radiação ultravioleta, ozônio e infecções patogênicas, temperaturas elevadas ou baixas, são potencialmente prejudiciais às plantas (VAN BREUSEGEM et al., 2001). Em consequência destas alterações bruscas do ambiente podem ser formadas as espécies reativas de oxigênio (ERO), também conhecidas como "*reactive oxygen species*" (ROS). As ERO são formadas pelos radicais livres como o radical superóxido O₂[•], o radical

hidroxila $^{\circ}\text{OH}$ e por outros, que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são muito reativos devido à sua instabilidade, como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Quando essas ERO são produzidas em excesso, superando a ação do sistema antioxidativo ocorre o estresse oxidativo (SCANDALIOS, 2005).

Na célula, todos os seus componentes são suscetíveis à ação das ERO, porém, a membrana é um dos locais mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica é o processo através do qual as ERO, produzidas em excesso, atacam os ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolípidios das membranas celulares, desintegrando-as e permitindo a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares, além de alterarem a funcionalidade das membranas. Isso tudo leva à perda da seletividade na troca iônica e extravasamento iônico, culminando com a morte celular (BLOKHINA et al., 2003).

Visando evitar o acúmulo das ERO e minimizar seus efeitos deletérios, os organismos aeróbicos desenvolveram sistemas antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos. As defesas não enzimáticas incluem as vitaminas C e E, glutathione (GSH), β -caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas. Já o sistema defensivo enzimático, envolve superóxidos dismutases (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) e glutathione S transferase (GST) (BLOKHINA et al., 2003; SCANDALIOS, 2005). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância da planta, devido à redução dos efeitos causados pelas ERO.

Outro alvo biológico dos radicais livres e das ERO são as proteínas, cuja oxidação conduz à perda de função ou à degradação prematura nos proteossomos; os lípidios, cuja oxidação altera as propriedades físicas das membranas celulares e, conseqüentemente, a sua função; o DNA, cuja oxidação pode conduzir a mutações gênicas, à síntese proteica anormal, à alteração na expressão gênica e à morte celular (SORG, 2004).

No entanto, as ERO também possuem função sinalizadora nas células para os genes de proteção celular e participam do sistema de defesa contra infecções através do efeito tóxico direto ao patógeno, formação de precursores de polímeros

de lignina e da SAR - resistência sistêmica adquirida (RESENDE et al., 2003). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância da planta, devido à redução dos efeitos causados pelas ERO.

A enzima superóxido dismutase (SOD) atua na primeira linha de defesa contra as ERO, dismutando o superóxido ($O_2^{\bullet-}$) à peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A enzima SOD é classificada de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (GILL; TUTEJA, 2010). Geralmente as plantas contêm uma Mn-SOD localizada na matriz mitocondrial e uma Cu/Zn-SOD citossólica, com Fe-SOD e/ou Cu/Zn-SOD presentes no estroma do cloroplasto (SCANDALIOS, 2005).

Os níveis intracelulares do H_2O_2 são regulados por uma variedade de enzimas, mas as mais importantes são as catalases e peroxidases, as quais estão localizadas em quase todas as partes das plantas (BLOKHINA et al., 2003). A catalase é comumente encontrada nos peroxissomos e glioxissomas, podendo também ser encontrada nas mitocôndrias. Ela converte duas moléculas de H_2O_2 à H_2O e oxigênio molecular (DUBEY, 2011).

As catalases são separadas em três classes: as catalases da classe I as quais são responsáveis por remover o H_2O_2 produzido durante a fotorrespiração; as catalases da classe II, as quais participam do processo de lignificação e estão localizadas nos tecidos vasculares e as catalases da classe III, as quais estão presentes nas sementes e plantas jovens e também participam da degradação do H_2O_2 , mas aquele produzido durante a degradação dos ácidos no glioxissoma (RESENDE et al., 2003).

As peroxidases desempenham importante papel na biossíntese da parede celular, podendo ajudar na defesa ao ataque de patógenos aumentando as barreiras mecânicas, tornando mais lenta a penetração do patógeno, estando também envolvidas nas respostas ao estresse. São encontradas em diversas isoformas, que usam diferentes redutores e estão localizadas em diversos compartimentos celulares (CAMPA, 1991). As peroxidases, além da sua função principal na eliminação do H_2O_2 , também podem catalisar a formação de $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 através da complexa

reação na qual o NADH é oxidado usando traços de H_2O_2 , produzido primeiramente pela partição não enzimática de NADH (BLOKHINA et al., 2003).

A catalase (CAT), juntamente com a SOD, é considerada a mais eficiente entre as enzimas antioxidantes. Ambas apresentam função combinada, de modo que a CAT converte o H_2O_2 , originado em função da atividade da SOD, em H_2O e O_2 (SCANDALIOS, 2005). As CAT são as principais enzimas na eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação dos ácidos graxos (DUBEY, 2011).

As ERO têm funções biológicas definidas quando estão em concentrações fisiológicas adequadas, atuando como mensageiros e/ou sinalizadores. Porém, como são moléculas altamente reativas devem ser evitadas altas concentrações pela planta, considerando que sua reatividade causará danos oxidativos em proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, caracterizando o estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2014).

O uso de elicitores bióticos ou abióticos, ou a presença de patógeno, também pode causar estresse oxidativo à planta, levando a formação de altas concentrações de ERO e a ocorrência de peroxidação de lipídios (KEPPLER, 1989). A peroxidação de lipídios também atua como precursora para a síntese de ácido jasmônico, por intermédio das enzimas lipoxigenases. O ácido jasmônico ativa a expressão de vários genes relacionados à defesa durante as reações de hipersensibilidade na planta (KEPPLER, 1989).

As ERO também são importantes sinalizadoras para indução de resposta da planta ao ataque de patógenos, durante a interação planta-patógeno ocorre a produção de ERO, que se inicia com uma explosão oxidativa primária, seguida de micro explosões secundárias, culminando no acionamento dos mecanismos de defesa antioxidante e atuando na sinalização intracelular de respostas fisiológicas e biológicas. Além disso, o contato entre um eliciador e os tecidos da planta também desencadeia a síntese destas substâncias, que agem como sinais bioquímicos (BHATTACHARJEE, 2010).

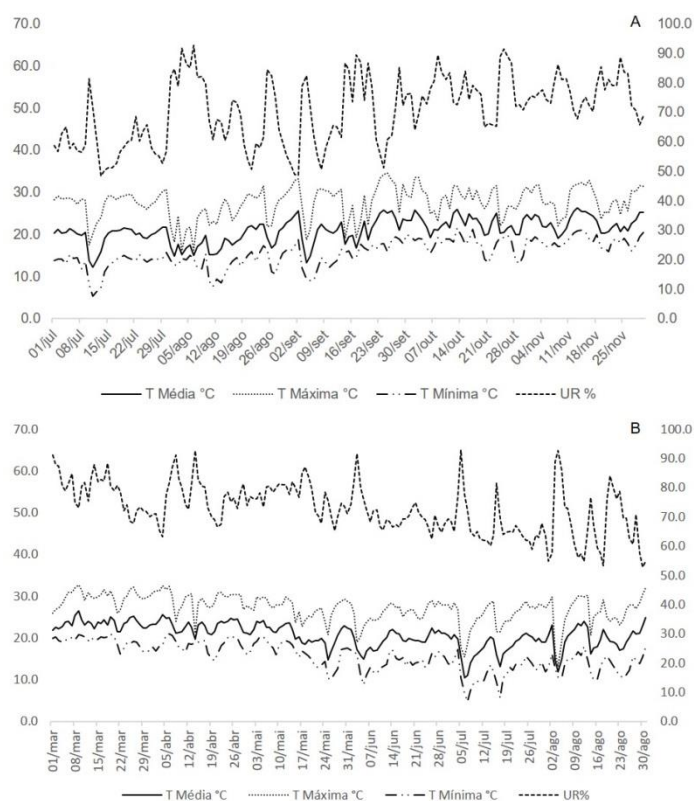
Entre as ERO, o H_2O_2 tem papel essencial nos mecanismos de defesa da planta, pois este agente oxidante tem efeito tóxico, agindo diretamente sobre as estruturas do patógeno, além de se acumular no sítio de infecção, restringindo o

desenvolvimento da lesão (resposta de hipersensibilidade – HR). O H_2O_2 também atua como sinalizador, aumentando a atividade da enzima benzoico 2-hidrolase, precursora na síntese do ácido salicílico (hormônio vegetal crucial na sinalização da Resistência Sistêmica Adquirida-RSA) (LEHMANN et al., 2015).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos: o primeiro no ano de 2018 e o segundo no ano de 2019, ambos em ambiente protegido na Fazenda Ituaú, estrada Velha de Salto – Capivari, km 07, Bairro Chapada no município de Salto, SP, latitude S 23° 12' 03" e longitude W 47° 17' 13". A altitude da região é de 550 m e o seu clima é classificado como Cfa, de acordo com a classificação de Köppen. Durante os experimentos foram monitoradas as características microclimáticas no interior do ambiente: temperaturas (°C) máxima, média e mínima e umidade relativa do ar (UR, %), esses dados estão dispostos na figura 1.

Figura 1- Dados microclimáticos de temperatura média (Temp Med °C), temperatura mínima (Temp Min °C), temperatura máxima (Temp Max °C) e umidade relativa do ar (UR %), do interior das estufas no experimento de 2018 (A) e de 2019 (B). Salto (SP).



Os experimentos foram conduzidos em ambiente protegido coberto com filme de polietileno de baixa densidade de 150 μm aditivado e fechado nas laterais com tela, o primeiro no período de julho a novembro de 2018 e o segundo, de março a agosto de 2019. Foram utilizadas mudas do híbrido de tomateiro Colt[®], fornecido pela empresa HM Clause[®], tipo Saladete, de crescimento indeterminado, indicado para semeadura e transplante em qualquer época do ano, com resistência ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raças 1, 2 e 3; *Fulvia fulva* raças A,B,C,D e E; *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*; *Meloidogyne arenaria*; *Meloidogyne incógnita*; *Meloidogyne javanica*; *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*; *Stemphylium solani*; *Tomato Mosaic Virus*; *Tomato Torrado Virus*; *Tomato Spotted Wilt Virus*; *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*; *Verticillium albo-atrum* e *Verticillium dahliae*.

As mudas foram transplantadas em solo com as seguintes características químicas: pH (CaCl_2) = 6,9; M.O (g/dm^3)= 35,0 ; P resina (mg/dm^3)= 248; H+Al ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 8,0 ; K ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 1,9; Ca ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 156; Mg ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 22; SB ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 180; CTC ($\text{mmol}_c/\text{dm}^3$)= 188; V(%)= 96; B (mg/dm^3)= 0,25; Cu (mg/dm^3)= 20,2; Fe (mg/dm^3)= 170; Mn (mg/dm^3)= 32,6; Zn (mg/dm^3)= 30,2. De acordo com o boletim 215 do IAC (TRANI et al., 2015) foi realizada adubação de base nas seguintes dosagens: N= 60 kg.ha^{-1} ; P_2O_5 = 200 kg.ha^{-1} ; K_2O = 150 kg.ha^{-1} ; B= 2,50 kg.ha^{-1} ; Cu= 0,5 kg.ha^{-1} ; Mn= 2,0 kg.ha^{-1} ; Zn= 1,0 kg.ha^{-1} . Ainda de acordo com a recomendação do boletim, não foi necessária a realização de calagem.

O transplante ocorreu nos dias 25 de julho de 2018 e 22 de março de 2019, para o primeiro e segundo experimentos, respectivamente. Foram realizados dois experimentos com o intuito de confirmação dos dados obtidos no primeiro ciclo.

As plantas foram conduzidas com espaçamento de 1,0 m entre linhas e 0,5 m entre plantas, com duas plantas por m^2 que corresponderia a 20.000 plantas por hectare. O sistema de condução foi em haste única durante todo o ciclo e tutoradas verticalmente com a utilização de fitilho. A desbrota foi realizada semanalmente, quando os brotos apresentavam entre 3-5 cm de comprimento. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente e o de pragas conforme recomendado para a cultura do tomateiro (ALVARENGA, 2013).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com sete tratamentos e cinco blocos, sendo a parcela experimental composta por quatro

plantas úteis. A primeira aplicação dos tratamentos foi realizada aos 15 dias após o transplântio (DAT) e os demais quinzenalmente, totalizando oito aplicações. As aplicações foram realizadas via foliar, na planta toda, com o uso de pulverizador manual de CO₂ pressurizado, com 0,3 kgf/cm², bico cônico aberto, utilizando-se cortina plástica entre os tratamentos para evitar deriva. Para cada aplicação dos tratamentos foi realizada a calibração do volume de calda, aplicando apenas água nas testemunhas até alcançar o ponto de escorrimento nas folhas. O volume de calda foi crescente, usando 100 L de água ha⁻¹ nas primeiras aplicações e 1.000 L de água ha⁻¹ nas pulverizações das plantas após a poda apical.

Os tratamentos utilizados nos dois experimentos foram: T1- testemunha inoculada (T INC); T2- testemunha absoluta (T ABS); T3- azoxistrobina 50 g.ha⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.) (AZO); T4- boscalida 50 g.ha⁻¹ do i.a. (BOS); T5- boscalida 50 g.ha⁻¹ do i.a. + azoxistrobina 50 g.ha⁻¹ (BOS+AZO); T6- piraclostrobina 100 g.ha⁻¹ do i.a. (PIR); T7- boscalida 50 g.ha⁻¹ do i.a. + piraclostrobina 100 g.ha⁻¹ do i.a. (BOS+PIR).

Para a testemunha inoculada foi aplicada água e o isolado de *Alternaria sp.*, e na testemunha absoluta somente água. Os produtos utilizados nos tratamentos foram: Amistar® contendo 500 g.kg⁻¹ do i.a. de azoxistrobina (grupo das estrobilurinas) fabricado pela Syngenta; para boscalida (grupo das carboxamidas) o produto Cantus® contendo 500 g.kg⁻¹ do i.a. fabricado pela BASF e para piraclostrobina (grupo das estrobilurinas) foi utilizado o produto Comet® contendo 250 g.L⁻¹ do i.a. fabricado pela BASF.

O isolado de *Alternaria sp.* inoculado foi obtido a partir de lesões de folhas de plantas de tomateiro na região de Guarapuava/PR. Para a manutenção destes isolados, os fungos foram cultivados em meio BDA (batata, ágar, dextrose) e incubados em BOD a 25°C (± 2°C) em fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, por 10 dias. Após esse período, foram guardados discos destas culturas em microtubos Eppendorf (2 mL) contendo água destilada esterilizada e conservados em BOD, nas mesmas condições de cultivo.

Quanto às características avaliadas, a fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas foram realizadas medições aos 23, 50, 66, 79 e 95 DAT no Experimento II (2018) e aos 120 DAT no Experimento III (2019). Foram selecionadas folhas

completamente expandidas no terço médio da planta, sendo estas cobertas com papel alumínio durante vinte minutos (para que todos os centros de reação estivessem abertos, com capacidade de receber elétrons) e, então, realizou-se as leituras entre 8:00 e 11:00 horas da manhã, utilizando equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha ("*Infra Red Gas Analyser – IRGA*", modelo LI-6400, LI-COR), acoplado com fluorômetro, também da empresa LI-COR. Obtendo-se assim, as seguintes características: fluorescência basal (*F0*) e fluorescência máxima (*Fm*), a partir dos quais foram calculadas a fluorescência variável (*Fv*) e rendimento quântico máximo do PSII (*Fv/Fm*). Também foram obtidas as respostas de rendimento quântico fotoquímico efetivo do PSII, *Y(II)* e taxa de transferência relativa de elétrons (*ETR*). Também foram medidas utilizando IRGA a taxa de assimilação de CO₂ (*A*, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (*E*, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (*g_s*, $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (*Ci*, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), além da eficiência do uso da água (*EUA*, $\mu\text{molCO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O}^{-1})$) determinada através da relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração e a eficiência instantânea de carboxilação (*A/Ci*) determinada através da relação entre taxa de assimilação de CO₂ e concentração interna de CO₂ na folha.

A partir da segunda aplicação dos fungicidas no Experimento III em 2019, foram coletadas amostras de folhas para as análises bioquímicas antes da aplicação dos tratamentos (0 horas), 12, 24, 96 horas e 7 dias após aplicação. Todas as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -70°C do laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, Botucatu (SP).

A extração enzimática foi realizada segundo metodologia proposta por Kar e Mishra (1976). Foram utilizadas 300 mg de folhas frescas congeladas, as quais foram colocadas em almofariz e trituradas em nitrogênio líquido. Em seguida, homogeneizou-se o material vegetal em 4mL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 6,8) gelado que foi centrifugado a 10000 x g por 10 minutos a 4°C. O extrato obtido foi separado em microtubos e armazenado a -20°C para posterior determinação.

A quantificação das proteínas totais no extrato foi determinada de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976). O sistema de reação foi composto por 100 μL de extrato enzimático e 5000 μL de reativo de Bradford. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 15 minutos e a leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm. Foi utilizada solução de caseína para confecção da curva padrão.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Beauchamp e Fridovich (1971). O sistema de reação foi preparado ao abrigo da luz e foi composto por 50 μL de extrato enzimático e 2950 μL de solução tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} , pH 7,8) + metionina (13 mmol L^{-1}) + cloreto de azul de p-nitrotetrazólio (NBT, 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$) + riboflavina (2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) + EDTA (100 nmol L^{-1}), totalizando um volume final de 3000 μL . A reação foi conduzida à temperatura ambiente sob iluminação por 5 minutos. A inibição na redução fotoquímica do NBT foi avaliada em espectrofotômetro a 560 nm. Na presença de luz, o NBT é convertido em formazan por ação dos radicais superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), que são o substrato da SOD. Desta forma, quanto maior a absorbância, maior a concentração de formazan, o que refere maior concentração de radicais $\text{O}_2^{\cdot-}$, indicando menor atividade da SOD em eliminá-los. Uma unidade de SOD (U) é definida como a quantidade de enzima necessária para inibir, em 50%, a fotorredução do NBT. A atividade específica da enzima foi expressa em U mg^{-1} de proteína.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Peixoto et al. (1999). O sistema de reação foi composto por 100 μL de extrato enzimático e 1900 μL de solução tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} , pH 7,0) suplementado com peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 12,5 mmol L^{-1}), totalizando um volume final de 2000 μL . A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 80 segundos. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 240 nm aos 0 e 80 segundos, a fim de verificar o quanto ocorreu de decréscimo na absorbância. Para calcular a atividade específica da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 (39,4 $\text{mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade foi expressa em $\text{nmol de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$.

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Teisseire e Guy (2000). O sistema de reação foi composto por 30 μL de extrato enzimático, 500 μL de tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} , pH 6,5), 250 μL de pirogalol (1,2,3-benzenotriol 20 mmol L^{-1}) e 220 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 5 mmol L^{-1} , totalizando um volume final de 1000 μL . A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro a 430 nm. Para calcular a atividade específica da enzima foi utilizado o seu coeficiente de extinção molar ($2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade foi expressa em μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

A peroxidação lipídica (MDA) foi determinada de acordo com técnica descrita por Rama Devi e Prasad (1998), após a 5^a, 6^a e 7^a aplicação dos tratamentos a 0, 12, 24, 96 horas e 7 dias após a aplicação dos tratamentos. Foram utilizadas 200 a 400 mg de folhas frescas congeladas, as quais foram colocadas em almofariz e trituradas em nitrogênio líquido. Em seguida, homogeneizou-se o material vegetal em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) a 10%. A solução extraída foi incubada em banho-maria a 90°C por 60 minutos. Após o resfriamento, a solução foi centrifugada a $10000 \times g$ por 15 minutos, à temperatura ambiente (25°C). Em seguida, o sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido a leituras de absorbância em espectrofotômetro a 560 e 600 nm. Para os cálculos, utilizou-se o coeficiente de extinção molar do malondialdeído ($155 \text{ mmol L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Para a quantificação dos teores de clorofilas *a* e *b*, carotenoides e antocianinas foram realizadas quatro coletas de folhas no Experimento III (2019), aos 30, 60, 90 e 120 DAT, estas foram embrulhadas em papel alumínio e congeladas em nitrogênio líquido. A metodologia foi a descrita por Sims e Gamon (2002) em almofariz com 0,030 g de folhas frescas congeladas, as quais foram trituradas em nitrogênio líquido. Esse material foi homogeneizado em 3 mL de solução de acetona/tampão Tris-HCl (80:20, v/v, pH 7,8, 0,2M). A suspensão resultante foi transferida para tubos Falcon 50 (capacidade de 15 mL) e mantida em freezer a -20°C por 1 hora. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a $10000 \times g$ durante 5 minutos a 4°C . Para as leituras de absorbância no espectrofotômetro foram utilizados 1000 μL do sobrenadante utilizando-se 663 nm (A_{663}), 647 nm

(A_{647}), 537 nm (A_{530}) e 470 nm (A_{470}). A concentração de cada um dos pigmentos foi determinada pelas seguintes fórmulas:

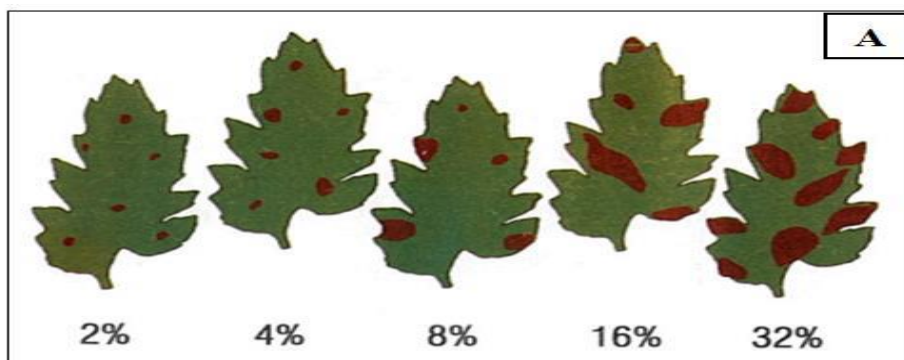
- Clorofila *a* ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) = $12,21 A_{663} - 2,81 A_{646}$
- Clorofila *b* ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) = $20,13 A_{646} - 5,03 A_{663}$
- Carotenoides ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) = $(1000 \cdot A_{470} - \text{Clorofila } a \cdot 2,86) / 245$
- Antocianinas ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) = $A_{537} - 0,24 A_{663}$

Os teores de clorofilas *a* e *b*, carotenoides e antocianinas foram expressos em $\mu\text{g.100g}$ de massa fresca⁻¹.

A colheita dos frutos do primeiro experimento (2018) iniciou-se em 21 de outubro e em 18 de junho para o segundo experimento (2019), sendo colhidas cinco ráquis para ambos os experimentos. Os frutos colhidos foram classificados de acordo com as Normas de Classificação do Tomate (CQH/CEAGESP, 2003) e posteriormente pesados, dessa maneira computou-se a produção total e comercial em kg.m^{-2} , através da soma das massas dos frutos de todas as ráquis colhidas.

Avaliou-se também a severidade da doença (%) a partir do surgimento dos primeiros sintomas, que ocorreu cinco dias após a inoculação. As avaliações foram realizadas em cinco folíolos previamente identificados, em 10 plantas por tratamento, por três avaliadores, em intervalos de 7 dias. Foram realizadas 8 avaliações de severidade, nos dois experimentos. Para a avaliação dessa característica foi utilizada a escala diagramática de Azevedo (1997) (Figura 2):

Figura 2- Escala diagramática para avaliação de *Alternaria solani* em tomateiro expressa em proporção de área foliar lesionada



Para a análise estatística os dados foram previamente submetidos ao teste de homogeneidade de Anderson Darling pelo programa Minitab; verificada a normalidade dos dados procedeu-se a análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa AGROESTAT[®]. Para as variáveis analisadas ao longo do tempo e que apresentaram efeito significativo para os tratamentos aplicados foram construídos gráficos através do programa SIGMAPLOT versão 12.5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as avaliações da fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas, realizadas aos 23, 50, 66, 79 e 95 DAT no experimento de 2018 (tabela 1) foram observadas diferenças significativas para algumas variáveis. Na primeira avaliação, aos 23 DAT, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para taxa de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e eficiência no uso da água (EUA , $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$). O mesmo foi observado, aos 50 DAT, para EUA e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR). A análise aos 79 DAT demonstrou efeito para A , condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), E , eficiência de carboxilação (A/C_i) e ETR . Aos 95 dias DAT, as variáveis eficiência quântica da antena (F_v'/F_m'), coeficiente de extinção fotoquímico (qP), coeficiente de extinção não-fotoquímico (qNP) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) e A , g_s , E , A/C_i , apresentaram diferenças significativas.

Tabela 1- Análise de variância da fluorescência da clorofila a e de trocas gasosas de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas, em diferentes períodos de avaliação, Salto-SP (2018). *Fv/Fm*- eficiência quântica potencial do Fotossistema II; *Fv’/Fm’*- eficiência quântica da antena; *qP*- coeficiente de extinção fotoquímico; *qNP*- coeficiente de extinção não-fotoquímico; *ETR*- taxa aparente de transporte de elétrons; *A*- taxa de assimilação de CO₂; *g_s*- condutância estomática; *Ci*- concentração interna de CO₂; *E*- transpiração; *EUA*- eficiência do uso da água e *A/Ci*- eficiência de carboxilação.

FV	F										
	<i>Fv/Fm</i>	<i>Fv’/Fm’</i>	<i>qP</i>	<i>qNP</i>	<i>ETR</i>	<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>Ci</i>	<i>E</i>	<i>EUA</i>	<i>A/Ci</i>
23 DAT											
Trats	0,73 ^{ns}	2,08 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,68 ^{ns}	1,47 ^{ns}	15,2**	0,50 ^{ns}	2,6 ^{ns}	3,07**	20,3**	2,76 ^{ns}
bloco	0,75 ^{ns}	1,55 ^{ns}	2,03 ^{ns}	0,49 ^{ns}	1,28 ^{ns}	0,76 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,4 ^{ns}	7,22**	7,6**	0,27 ^{ns}
CV (%)	4,01	3,27	15,69	8,66	17,24	10,11	14,86	6,24	9,85	8,46	22,15
50 DAT											
Trats	0,26 ^{ns}	0,76 ^{ns}	6,30**	0,83 ^{ns}	6,77**	2,00 ^{ns}	0,51 ^{ns}	1,7 ^{ns}	1,57 ^{ns}	3,2**	2,91 ^{ns}
bloco	0,12 ^{ns}	0,97 ^{ns}	13,0**	1,32 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,6 ^{ns}	1,59 ^{ns}	2,7**	1,99 ^{ns}
CV (%)	1,78	3,49	9,65	9,09	8,04	10,73	10,03	3,59	8,32	16,02	15,06
66 DAT											
Trats	0,99 ^{ns}	1,80 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1,34 ^{ns}	0,71 ^{ns}	1,58 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,4 ^{ns}	1,33 ^{ns}	0,6 ^{ns}	0,38 ^{ns}
bloco	0,52 ^{ns}	2,11 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,71 ^{ns}	1,34 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,63 ^{ns}	1,9 ^{ns}	1,93 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,10 ^{ns}
CV (%)	3,45	3,18	11,89	10,74	10,70	12,10	12,05	4,58	10,98	10,55	18,38
79 DAT											
Trats	0,29 ^{ns}	1,53 ^{ns}	1,54 ^{ns}	1,28 ^{ns}	42,1**	18,6**	24,9**	1,4 ^{ns}	6,51**	0,7 ^{ns}	11,7**
bloco	0,32 ^{ns}	0,83 ^{ns}	1,41 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,36 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,51 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,60 ^{ns}
CV (%)	2,32	7,28	16,87	10,89	9,73	18,44	17,35	11,49	22,88	26,26	24,44
95 DAT											
Trats	0,82 ^{ns}	6,13**	7,9 **	10,7 **	12,6 **	24,7**	12,3**	2,1 ^{ns}	15,4**	2,5 ^{ns}	37,3**
bloco	2,22 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,70 ^{ns}	0,13 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,28 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,6 ^{ns}	0,74 ^{ns}	1,8 ^{ns}	1,93 ^{ns}
CV (%)	1,83	8,04	17,98	7,27	16,98	23,05	24,02	9,08	21,04	19,23	18,94

^{ns}- não significativo, ** significativo a 5% de probabilidade.

Como forma de complementar os dados de fluorescência da clorofila a e trocas gasosas, avaliados nos anos de 2018, no segundo experimento em 2019, na mesma localidade, realizou-se a avaliação aos 120 DAT (tabela 2) onde houve

diferença significativa para: Fv/Fm , Fv'/Fm' , qP , qNP , ETR e A , g_s , E , EUA e A/Ci . De maneira geral, as avaliações feitas com mais tempo de cultivo e, consequentemente, maior número de aplicações, resultaram no aumento de variáveis da fluorescência e trocas gasosas que responderam às aplicações dos fungicidas testados.

Tabela 2- Análise de variância de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a de plantas de tomateiro 'Colt' submetidas à aplicação de fungicidas aos 120 DAT, Salto-SP (2019). Fv/Fm - eficiência quântica potencial do Fotossistema II; Fv'/Fm' - eficiência quântica da antena; qP - coeficiente de extinção fotoquímico; qNP - coeficiente de extinção não-fotoquímico; ETR - taxa aparente de transporte de elétrons; A - taxa de assimilação de CO_2 ; g_s - condutância estomática; Ci - concentração interna de CO_2 ; E - transpiração; EUA - eficiência do uso da água e A/Ci - eficiência de carboxilação.

FV	F										
	Fv/Fm	$Fv'FFm'$	qP	qNP	ETR	A	g_s	Ci	E	EUA	A/Ci
120 DAT											
Trats	4,45**	5,57**	3,84**	6,16**	3,97**	10,8**	32,7**	2,10 ^{ns}	7,73**	7,05**	10,7**
bloco	0,73 ^{ns}	1,66 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,23 ^{ns}	1,12 ^{ns}	1,42 ^{ns}	0,3 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,09 ^{ns}
CV (%)	1,89	4,97	11,29	15,65	25,01	16,44	19,57	14,05	25,50	12,58	18,89

^{ns}- não significativo, ** significativo a 5% de probabilidade.

Para as avaliações aos 23 e 79 DAT (Tabela 3), os maiores valores de taxa de assimilação de CO_2 (A) foram observados nas plantas da testemunha inoculada e naquelas em que foram aplicadas BOS, AZO+BOS e PIR aos 23 DAT. Embora as plantas tratadas com os fungicidas tenham apresentado menores índices de severidade da doença (Figura 4), aos 23 DAT, a quantidade e número de aplicações, ainda não foi suficiente para promover os efeitos fisiológicos nas plantas de tomateiro, sendo o mesmo observado para os valores médios de A aos 79 DAT. Tanto para avaliação de fluorescência e pigmentos fotossintéticos clorofilas a e b (Figura 3) não foi observado efeito significativo aos 23 e 30 DAT, respectivamente. Incrementos nos teores de clorofilas elevam o processo fotoquímico da fotossíntese (BAKER; ROSENQVIST, 2004). O aumento nos teores de clorofilas a e b resulta em maior absorção da luz, a qual ocorre nos PSI e PSII, que são constituídos de pigmentos fotossintéticos (clorofila a e b , e carotenoides) (CASIERRA-POSADA;

PEÑA-OLMOS, 2015). Dessa maneira, para essa avaliação os fungicidas aplicados não foram eficientes na síntese de pigmentos fotossintéticos que elevariam valores de F_v/F_m e F_v'/F_m' , quando comparados às testemunhas.

Tabela 3- Valores médios de taxa de assimilação de CO₂ (*A*- $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$); condutância estomática (*g_s*- $\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (*E*- $\text{mmol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), eficiência do uso da água (*EUA*- $\mu\text{molCO}_2 (\text{mmol.H}_2\text{O}^{-1})$, eficiência de carboxilação (*A/Ci*), coeficiente de extinção fotoquímico (*qP*) e taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*) de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico aos 23, 50 e 79 DAT, Salto-SP (2018).

23 DAT						
Tratamentos		<i>A</i>		<i>E</i>	<i>EUA</i>	
T INC		22,78 a		7,38 a	3,09 a	
T ABS		16,50 b		7,38 a	2,24 c	
AZO		15,51 b		5,86 b	2,67 b	
BOS		20,58 a		6,02 b	3,45 a	
BOS+AZO		23,95 a		6,07 b	3,27 a	
PIR		22,60 a		6,17 b	3,68 a	
BOS+PIR		12,53 b		6,35 b	1,97 c	
50 DAT						
Tratamentos		<i>qP</i>		<i>ETR</i>	<i>EUA</i>	
T INC		0,30 b		110,44 b	2,18 b	
T ABS		0,38 b		119,92 b	2,83 b	
AZO		0,36 b		116,66 b	2,78 b	
BOS		0,34 b		107,45 b	2,48 b	
BOS+AZO		0,41 a		131,08 a	3,44 a	
PIR		0,44 a		145,85 a	3,43 a	
BOS+PIR		0,45 a		141,61 a	3,50 a	
79 DAT						
Tratamentos		<i>ETR</i>	<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>E</i>	<i>A/Ci</i>
T INC		122,87 a	15,09 a	0,31 a	6,85 a	0,055 a
T ABS		114,04 a	15,01 a	0,27 a	7,67 a	0,053 a
AZO		63,25 b	1,19 b	0,01 c	3,02 b	0,003 b
BOS		62,35 b	3,79 b	0,05 c	3,01 b	0,019 b
BOS+AZO		141,23 a	19,41 a	0,36 a	8,37 a	0,079 a
PIR		128,57 a	14,93 a	0,18 b	5,69 a	0,059 a
BOS+PIR		57,82 b	5,50 b	0,06 c	2,04 b	0,022 b

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna dentro de cada período de avaliação, não diferem significativamente entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Na avaliação realizada aos 95 DAT (Tabela 4), o efeito benéfico na fisiologia das plantas submetidas à aplicação de fungicidas foi observada em virtude do maior número de variáveis de fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas que apresentaram efeito significativo.

Para F_v'/F_m' , observou-se maiores valores para as plantas tratadas com BOS, BOS+AZO e PIR, 0,554, 0,506 e 0,497, respectivamente. As plantas tratadas com BOS, despontaram com maiores valores dessa eficiência, possivelmente, ao fato de apresentarem também maiores valores de clorofila *b* aos 60 DAT e também aos 90 DAT, esse último sem diferir estatisticamente dos demais. Para Sousa et al. (2015) o efeito não significativo observado para F_v/F_m e F_v'/F_m' pode ser devido a estabilidade nos teores de clorofila e carotenoides, dessa maneira, quando ocorre a síntese ou a não degradação desses pigmentos pode ocorrer gerar também uma maior captura de energia luminosa que é utilizada nas reações fotossintéticas, como observado nas plantas tratadas com BOS aos 95 DAT.

Tabela 4- Valores médios de eficiência quântica da antena (F_v'/F_m'), coeficiente de extinção fotoquímico (qP) e taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), taxa de assimilação de CO_2 (A - $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$); condutância estomática (g_s - $\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E - $\text{mmol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), e eficiência de carboxilação (A/C_i) em plantas de tomateiro 'Colt' submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico aos 95 DAT, Salto-SP (2018).

95 DAT (2018)								
Tratamentos	F_v'/F_m'	qP	qNP	ETR	A	g_s	E	A/C_i
T INC	0,446 b	0,149 b	1,93 a	39,88 b	1,84 c	0,034 b	0,95 c	0,0064 c
T ABS	0,445 b	0,175 b	1,94 a	47,14 b	1,53 c	0,022 b	0,81 c	0,0062 c
AZO	0,448 b	0,183 b	2,01 a	61,49 b	6,09 b	0,076 b	2,33 c	0,0250 b
BOS	0,554 a	0,156 b	1,37 c	53,18 b	7,65 b	0,170 a	4,80 a	0,0260 b
BOS+AZO	0,506 a	0,270 a	1,69 b	84,09 a	9,08 a	0,138 a	3,15 b	0,0345 a
PIR	0,497 a	0,280 a	1,72 b	84,84 a	10,40 a	0,225 a	5,28 a	0,0356 a
BOS+PIR	0,387 b	0,140 b	2,12 a	34,30 b	1,65 c	0,025 b	0,88 c	0,0061 c

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

A análise de fluorescência da clorofila *a* é capaz de descrever o estado fisiológico da planta quanto à dissipação de energia através do transporte de

elétrons, além de relacionar estresses e os danos causados no aparato fotossintético das plantas através dos resultados dessa avaliação.

A luz solar ao incidir sobre as plantas é absorvida pelas clorofilas que se tornam instáveis, isto é, excitadas, pois saem de seu estado basal para um estado de estímulo. No entanto, para manter a homeostase do metabolismo fotossintético as clorofilas precisam retornar ao estado basal, mas para isso é necessário que a energia absorvida seja dissipada (TAIZ; ZEIGER, 2013). A dissipação dessa energia pelas plantas pode ser fotoquímica ou fluorescência ou calor; em plantas sem índices de estresses a energia é direcionada para a fotossíntese, ocorrendo, dessa forma, incrementos na eficiência quântica potencial do fotossistema II (PSII, menor F_v/F_m), coeficiente de extinção fotoquímica (qP) e taxa de transporte de elétrons (ETR).

O estresse causado pela incidência de *Alternaria sp.* na fisiologia das plantas testemunha inoculada e absoluta pode ser observado a partir das variáveis F_v'/F_m' , qP , qNP e ETR (tabela 4). De maneira geral, esses tratamentos apresentaram menores valores para eficiência da captura de elétrons pelos centros de reação do PSII, coeficiente de extinção fotoquímica e taxa aparente de transporte de elétrons e maiores valores para coeficiente de extinção não-fotoquímico. A energia luminosa interceptada por essas plantas foi dissipada na forma não-fotoquímica e não foi convertida em produtos fotossintéticos. Essas perdas podem ter sido causadas pelos danos causados nas folhas das plantas com incidência da doença, pois as espécies do gênero *Alternaria* são produtoras de toxinas prolíficas, que facilitam a sua vida necrotrófica, provocando a morte da célula, causando danos ao tecido vegetal (LAWRENCE et al., 2008).

Já as plantas tratadas com AZO+BOS e PIR apresentaram valores superiores de qP e ETR , quando comparadas as demais plantas dos outros tratamentos. Isso indica que as plantas desses tratamentos utilizaram a energia incidente e aumentaram o transporte de elétrons entre os fotossistemas II e I; assim, é possível afirmar que nessas plantas ocorreu também maior formação de ATP e $NADPH+H^+$ utilizados para fixação de CO_2 atmosférico.

Quanto as trocas gasosas, o aumento na assimilação de CO_2 das plantas tratadas com AZO+BOS e PIR pode estar relacionada com a maior abertura estomática (g_s) também observada nesses tratamentos sem, contudo, diferirem da aplicação isolada de BOS. Contudo, as aplicações dos tratamentos AZO+BOS e PIR

possibilitaram à planta maior difusão de CO_2 para a câmara subestomática e esse, posteriormente, foi utilizado na assimilação de CO_2 . A abertura estomática está relacionada ao controle da perda de água pela planta, que reflete na assimilação de CO_2 e manutenção da taxa fotossintética (TAIZ; ZEIGER, 2013), razão pela qual, os tratamentos testemunha inoculada e absoluta apresentaram menores valores de A pois reduziram de forma acentuada a condutância estomática das plantas.

Analisando a transpiração (E) aos 95 DAT (Tabela 4) é possível observar maiores valores para os tratamentos BOS e PIR aplicados de forma isolada, podendo o aumento da transpiração resultar em menor eficiência no uso da água; entretanto, para essa variável não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Enquanto que, a eficiência de carboxilação (A/C_i) foi superior nos tratamentos AZO+BOS e PIR, onde a maior eficiência de carboxilação observada nestes tratamentos reflete o eficiente funcionamento da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco), enzima essencial na redução do CO_2 no processo fotossintético, relacionado com a maior abertura estomática e dos altos valores de assimilação de CO_2 .

Como forma complementar foi realizada a análise da fluorescência da clorofila a e trocas gasosas aos 120 DAT no experimento conduzido em 2019 (Tabela 5). Para as variáveis de fluorescência observa-se o mesmo comportamento das plantas da testemunha inoculada aos 95 DAT em 2018, maior valor de qNP quando comparado aos demais tratamentos, evidenciando que o avanço da doença promove estresse na planta e que os fungicidas, além de controlarem esse estresse, promovem incrementos na fisiologia das plantas tratadas.

Para essa data de avaliação o tratamento que se destacou dos demais foi a aplicação de BOS com maiores valores de A , g_s e A/C_i . A aplicação de boscalida em plantas de tomateiro cv. Giuliana também aumentou a taxa de assimilação de CO_2 (RAMOS et al., 2015), entretanto, reduziu também a condutância estomática e transpiração das plantas, incrementando a eficiência no uso da água, diferente do observado no presente trabalho. Mesmo com baixa eficiência no uso da água, provocada pelo aumento da transpiração, as plantas tratadas com boscalida apresentaram alta eficiência de carboxilação, evidenciando a atividade da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco), essencial para fixação de CO_2 , o que refletirá na produtividade das plantas.

Tabela 5- Valores médios de eficiência quântica potencial do Fotossistema II (F_v/F_m), eficiência quântica da antena (F_v'/F_m'), coeficiente de extinção fotoquímico (qP), coeficiente de extinção não-fotoquímico (qNP), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), taxa de assimilação de CO_2 (A - $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$); condutância estomática (g_s - $\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E - $\text{mmol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), eficiência do uso da água (EUA - μmolCO_2 ($\text{mmol H}_2\text{O}$) $^{-1}$) e eficiência de carboxilação (A/C_i) de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico aos 120 DAT, Salto-SP (2019).

120 DAT (2019)										
Tratamentos	F_v/F_m	F_v'/F_m'	qP	qNP	ETR	A	g_s	E	EUA	A/C_i
T INC	0,977 a	0,513 b	0,202 a	1,83 a	63,29 a	8,25 b	0,069 c	1,38 b	6,07 a	0,035 b
T ABS	0,969 b	0,602 a	0,139 b	1,18 b	50,28 a	9,36 b	0,141 b	4,43 a	2,42 b	0,033 b
AZO	0,979 a	0,596 a	0,128 b	1,12 b	47,05 a	8,78 b	0,161 b	3,43 a	2,77 b	0,028 c
BOS	0,971 b	0,548 b	0,205 a	1,34 b	66,74 a	12,71 a	0,338 a	5,06 a	2,56 b	0,045 a
BOS+AZO	0,967 b	0,581 a	0,076 b	1,31 b	27,06 b	4,12 c	0,059 c	1,65 b	2,45 b	0,013 d
PIR	0,971 b	0,604 a	0,091 b	1,10 b	33,76 b	7,72 b	0,107 b	3,41 a	2,26 b	0,023 c
BOS+PIR	0,965 b	0,631 a	0,138 b	1,06 b	53,76 a	7,63 b	0,134 b	2,40 b	3,31 b	0,022 c

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não se diferem significativamente entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Os parâmetros F_v/F_m e qNP possuem uma correlação com as alterações fisiológicas causadas nas plantas por estresses bióticos ou abióticos (MAXWELL E JOHNSON, 2000). Essas duas variáveis foram utilizadas para prever a severidade de *Hemileia vastatrix* em folhas de cafeeiro, antes dos sintomas visuais (HONORATO JUNIOR et al., 2015). Na avaliação aos 120 DAT não foi possível observar diminuição no F_v/F_m das plantas de tomateiro inoculadas com *Alternaria sp.*, mas o aumento no qNP mostrou o efeito deletério da doença no aparato fotossintético provocado principalmente pelo avanço das áreas necróticas nas folhas.

Quanto à taxa de assimilação de CO_2 - (A) foi observado maior valor para as plantas tratadas com BOS, as plantas do demais tratamentos apresentaram menores valores por conta da menor g_s observada. Sabe-se que a piraclostrobina aumenta a concentração dos níveis endógenos de abscisicácido (ABA) (GROSSMANN et al., 1999). O ABA por sua vez, inibe a abertura estomática,

principalmente quando as plantas estão em condição de estresse ambiental (GROSSMANN et al., 1999). Dessa maneira, é possível que a redução na g_s das plantas tratadas com estrobilurinas nessa data de avaliação, tenha acontecido pelo aumento na concentração de ABA provocada por uma redução brusca de temperatura conforme indica a figura 1.

A ação das estriburinas e carboxamidas é semelhante, entretanto ainda há falta de informações que expliquem a ação benéfica fisiológica das carboxamidas (AMARO et al., 2020). A aplicação das estrobilurinas, provoca alteração do ponto de compensação de CO_2 e diminuição da respiração que estes compostos proporcionam à planta, refletindo no incremento da taxa fotossintética (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997, BRYSON et al, 2000) como também observado em soja (FAGAN, 2010), café (RUELA et al., 2019). Para os 120 DAT, esse comportamento foi observado nas plantas tratadas com BOS (carboxamida),

Dessa forma, tanto as carboxamidas quanto as estrobilurinas podem provocar aumento no ponto de compensação de CO_2 , o que eleva a taxa de assimilação de CO_2 , entretanto, em condição de estresse ambiental as estrobilurinas podem estimular a produção de ABA que reduz a condutância estomática e consequentemente a entrada de CO_2 nas células do mesofilo, por essa razão, nas condições da presente pesquisa, aos 120 DAT somente a aplicação de BOS (carboxamida) provocou aumento na assimilação de CO_2 de plantas de tomateiro.

Quanto aos pigmentos fotossintéticos e antocianinas (tabela 6) observa-se efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos quanto às datas de avaliação. Aos 30 DAT, somente os teores de antocianinas e carotenoides diferiram entre os tratamentos, enquanto aos 60 DAT observou-se diferenças para os teores de clorofilas *a* e *b*, antocianinas e carotenoides. Aos 90 DAT nenhum dos pigmentos analisados e o teor de antocianinas foram afetados pela aplicação dos tratamentos. E aos 120 DAT, somente a clorofila *b*. De maneira geral, o número maior de aplicações dos tratamentos não interferiu sobre os teores de pigmentos fotossintéticos, diferente do observado para trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*.

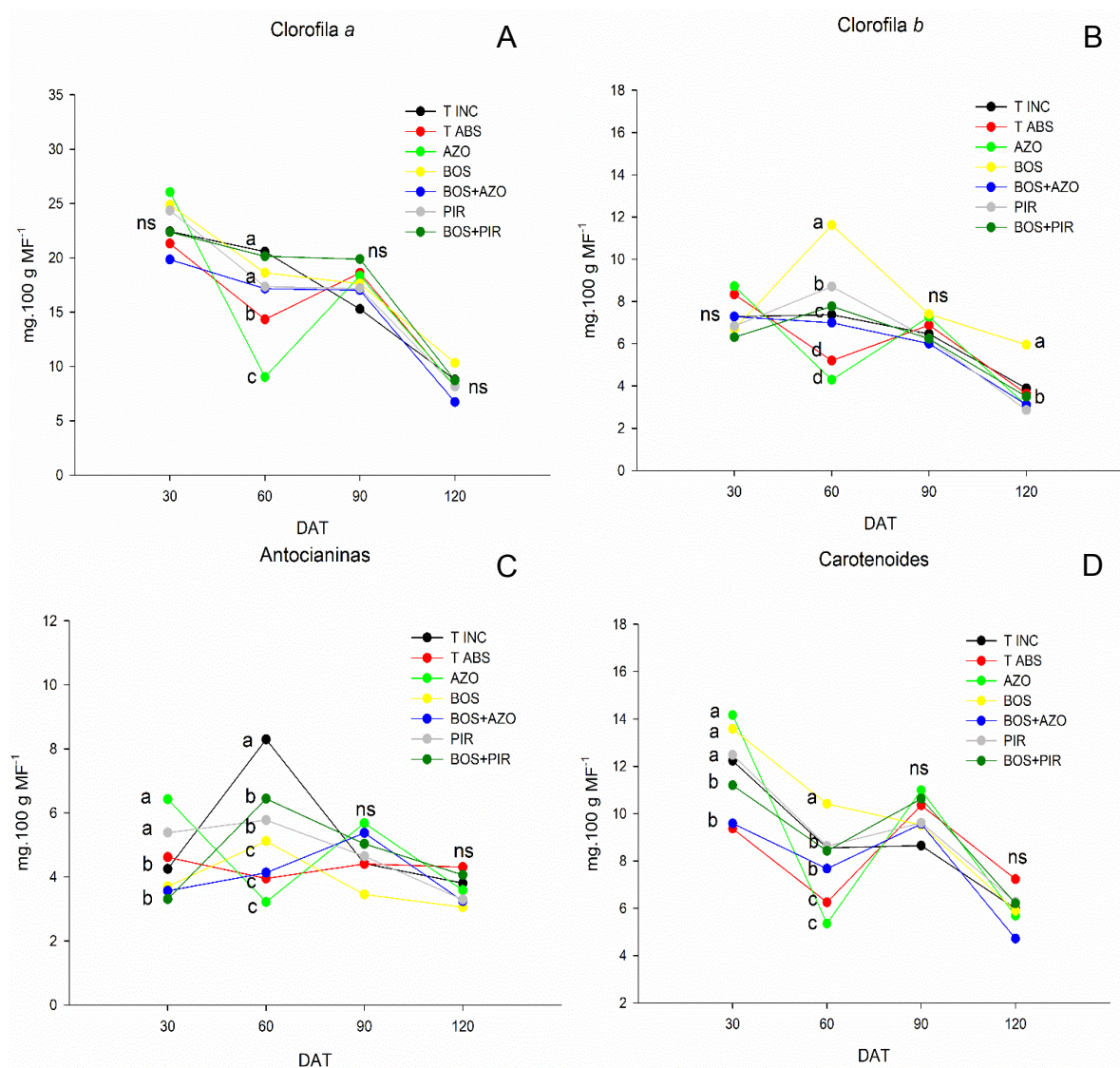
Tabela 6- Resumo da análise de variância de teores de pigmentos: clorofila *a* (Clo *a*), clorofila *b* (Clo *b*), antocianinas (Ant) e carotenoides (Cart) de folhas de plantas de tomateiro submetidas à aplicação de fungicidas, em diferentes períodos de avaliação, Salto-SP (2019).

FV	F			
	Clo <i>a</i>	Clo <i>b</i>	Ant	Cart
30 DAT				
Trats	1,69 ^{ns}	1,63 ^{ns}	5,38**	5,30**
bloco	1,41 ^{ns}	1,35 ^{ns}	1,36 ^{ns}	1,98 ^{ns}
CV (%)	16,54	21,01	24,00	15,05
60 DAT				
Trats	9,86**	8,83**	10,36**	13,70**
bloco	1,37 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,87 ^{ns}
CV (%)	16,96	24,24	22,86	12,79
90 DAT				
Trats	0,77 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,88 ^{ns}	1,38 ^{ns}
bloco	0,48 ^{ns}	2,06 ^{ns}	1,34 ^{ns}	1,00 ^{ns}
CV (%)	20,86	17,74	25,46	15,37
120 DAT				
Trats	1,90 ^{ns}	4,12**	1,46 ^{ns}	1,06 ^{ns}
bloco	1,78 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,22 ^{ns}	1,41 ^{ns}
CV (%)	16,54	21,34	23,57	19,48

^{ns} - não significativo, ** significativo a 5% de probabilidade.

A biossíntese de clorofila é uma reação bioquímica dependente de luz (TAIZ; ZEIGER, 2013). Contudo, alguns fatores influenciam na biossíntese ou degradação da clorofila; no caso da presente pesquisa o estresse causado pelo fungo foi a causa da degradação da clorofila (figura 3). A aplicação de BOS foi eficiente para controle da degradação da clorofila *b*, aos 60 DAT.

Figura 3- Teores médios em mg.100 g MF⁻¹ de folha de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), antocianinas (C) e carotenoides (D) de folhas de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico aos 30, 60, 90 e 120 DAT, Salto-SP (2019).



Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Aos 60 DAT, houve diferença significativa entre os tratamentos, tanto para clorofila *a* como para *b*, antocianinas e carotenoides. Nota-se que as plantas do tratamento BOS apresentaram os maiores valores de clorofila *b* e carotenoides nessa data de avaliação. Nas plantas superiores, 15 a 25% da clorofila total é

composta pela clorofila *b* que, apesar de não ser pigmento fundamental para a fotossíntese, contribui para o processo, absorvendo luz do comprimento de onda entre 425 - 475 nm e 640-690 nm e transferindo sua energia para a clorofila *a*, a qual absorve menos nesses comprimentos de onda, sendo o pigmento fundamental (TAIZ; ZEIGER, 2013). Macedo (2013) observou relação entre as taxas de assimilação de CO₂ e os teores de clorofilas de plantas de melão tratadas com fluxapiroxade 75 g ha⁻¹, o que não foi observado no presente trabalho aos 60 DAT, no qual os teores de pigmentos fotossintéticos apresentaram efeitos significativos dos tratamentos e as trocas gasosas não apresentaram esse efeito.

Os maiores valores de clorofila *b* observados nas plantas tratadas com BOS aos 60 e 120 DAT, pode estar relacionado ao efeito fisiológico das estrobilurinas e carboxamidas que resulta no chamado 'efeito verde' (AMARO et al., 2020). Tal efeito consiste na redução da taxa de produção de etileno através da diminuição da atividade da enzima ACC sintase, refletindo assim na manutenção de tecidos verdes fotossinteticamente ativos (KÖHLE, 2003; GROSSMANN E RETZLAFF, 1997).

Ainda aos 60 DAT, a testemunha inoculada apresentou maiores valores nos teores de clorofila *a* e antocianinas. Para Töfoli et al. (2014) a incidência de *Alternaria solani* reduz o desenvolvimento e vigor da planta, ocasionando danos na área fotossinteticamente ativa da planta, podendo causar até desfolhamento nos estádios mais avançados da doença. Aos 60 DAT, a severidade da doença em 2019 (Figura 4-B) foi menor que 4%; em razão disso, os danos ao limbo foliar não alteraram o teor de clorofila, então, a testemunha mesmo que inoculada não apresentou valores inferiores desse pigmento.

As antocianinas estão ligadas a proteção dos tecidos fotossintéticos contra foto inibição (SMILLIE E HETHERINGTON, 1999). Plantas de *Euphorbia pulcherrima* que possuíam maior teor de antocianinas nas folhas tiveram melhor resposta ao estresse foto oxidativo, essa superioridade foi associada a um maior rendimento fotoquímico do fotossistema II (MOUSTAKA et al., 2020).

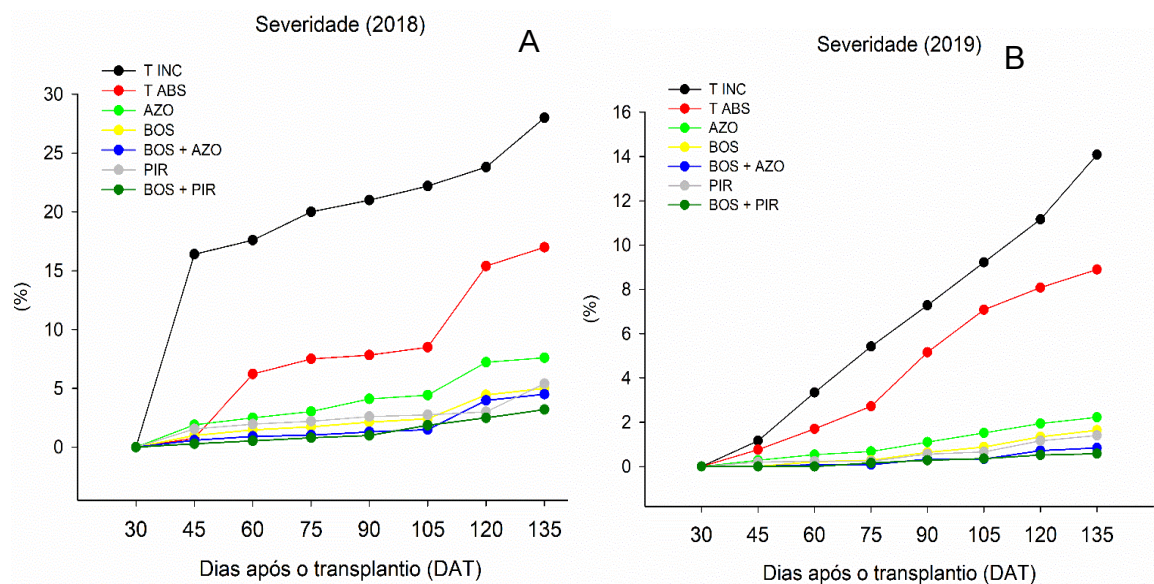
É possível que as plantas da T INC tenham acumulado antocianinas nas folhas como forma de proteção da clorofila, em virtude do aumento da severidade da doença e também áreas necróticas nas folhas, entretanto, essa resposta não foi

eficiente para ocasionar incrementos na fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas nas plantas desse tratamento.

A utilização de fungicidas químicos é um método bastante difundido no setor agrícola para o controle de doenças, pois apresentam resultados rápidos (AMORIM et al., 2016). Os fungicidas testados apresentaram redução na severidade da doença causada pelo *Alternaria sp.* nos dois anos de cultivo e em diferentes datas de avaliação (Figura 4). No experimento conduzido em 2018, a severidade da doença atingiu 15% aos 45 DAT, atingindo níveis maiores que 25% aos 135 DAT na testemunha inoculada. As plantas da testemunha absoluta também apresentaram índices de severidade superiores aos dos tratamentos com fungicidas, demonstrando que após a inoculação houve transmissão da doença da testemunha inoculada para as plantas dos outros tratamentos.

Quanto aos fungicidas testados, as plantas tratadas com BOS+PIR foram aquelas que apresentaram menor severidade da doença nos dois anos de cultivo. Relacionando os dados de severidade e as análises de trocas gasosas aos 120 DAT, o tratamento com BOS controlou o avanço da doença ao mesmo tempo, incrementando também, a taxa de assimilação de CO₂ demonstrando seu efeito antifúngico e fisiológico.

Figura 4- Severidade da doença (%), pinta preta, no experimento de 2018 (A) e 2019 (B), de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico aos 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 e 135 DAT, Salto-SP.



T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Em decorrência da presença do patógeno, agente causal da pinta preta nas plantas, *Alternaria sp.*, houve estresse biótico que refletiu negativamente na eficiência fotossintética do tomateiro, principalmente, após os 90 DAT. A presença desse fator estressante foi observada, principalmente, na fluorescência da clorofila a relacionada com o progresso da doença, através do aumento da severidade (%) nas plantas do tratamento testemunha inoculada. O estresse também ocasiona outras reações metabólicas e bioquímicas nas plantas, quando submetidas à algum tipo de estresse biótico ou abiótico, sendo a primeira resposta observada na planta, o aumento drástico na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO ou ROS, do inglês *reactive oxygen species*) que causam danos oxidativos em membranas, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, caracterizando o estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2014). Dependendo da concentração nas plantas, as ERO podem gerar efeitos benéficos ou deletérios. Em baixas ou moderadas concentrações, as ERO atuam como mensageiros secundários em cascatas de sinalização intracelular que medeiam várias respostas em plantas. No entanto, em altas concentrações elas causam danos em diversas biomoléculas (SHARMA et al., 2012). Para evitar os

danos deletérios das ERO, as plantas possuem sistema de defesa composto por mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que trabalham em conjunto e em sincronia para desintoxicar as células (MOLLER et al., 2007) em nível de cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (DINAKAR et al., 2012; NOCTOR et al., 2015; LEHMANN et al., 2015).

Dentre o arcabouço de defesas enzimáticas, a enzima superóxido dismutase (SOD), uma metalo-enzima, é a primeira enzima na linha de defesa contra os danos causados pelos ânions $\cdot\text{O}_2^-$ (radical superóxido), uma ERO. Pois, a SOD por ser a primeira enzima na linha de defesa contra as ERO, a nível celular, atua dismutando o $\cdot\text{O}_2^-$ em H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) (BHATTACHARJEE, 2010). E, então, a regulação dos níveis de H_2O_2 ocorre por meio de uma grande variedade de enzimas, tais como ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione S-transferase (GST), glutathione redutase (GR) e a glutathione peroxidase (GPX) (DINAKAR et al., 2012; NOCTOR et al., 2015; LEHMANN et al., 2015) e, essas, normalmente estão envolvidas na defesa vegetal contra o estresse oxidativo.

Diante disso, a avaliação da atividade dessas enzimas antioxidativas demonstra resultados capazes de gerar informação sobre o nível de estresse da planta e eficiência do aparato de defesa diante da aplicação dos tratamentos. Assim, analisou-se a atividade das enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD), antes da aplicação dos tratamentos – 0 h e 12, 24 e 96 h e 7 dias após a aplicação dos tratamentos, correspondendo aos 35, 50, 65, 80, 95 e 110 DAT, correspondente a 2^a, 3^a, 4^a, 5^a, 6^a e 7^a aplicação, respectivamente.

A análise de variância das avaliações da atividade das enzimas antioxidativas está disposto na tabela 8, onde pode-se observar efeito significativo ($p < 0,05$) para a maioria das variáveis em diferentes tempos de avaliação.

Ao analisar a atividade da enzima SOD em folhas de tomateiro (Figura 5), nota-se que houve padrão de resposta para as aplicações, onde os maiores picos da atividade ocorreram entre 24h e 7 dias após a aplicação dos diferentes fungicidas de efeito fisiológico. Os resultados demonstram maior atividade da enzima SOD, na maioria dos horários de avaliação, nas plantas tratadas com os fungicidas, principalmente, boscalida, azoxistrobina e piraclostrobina.

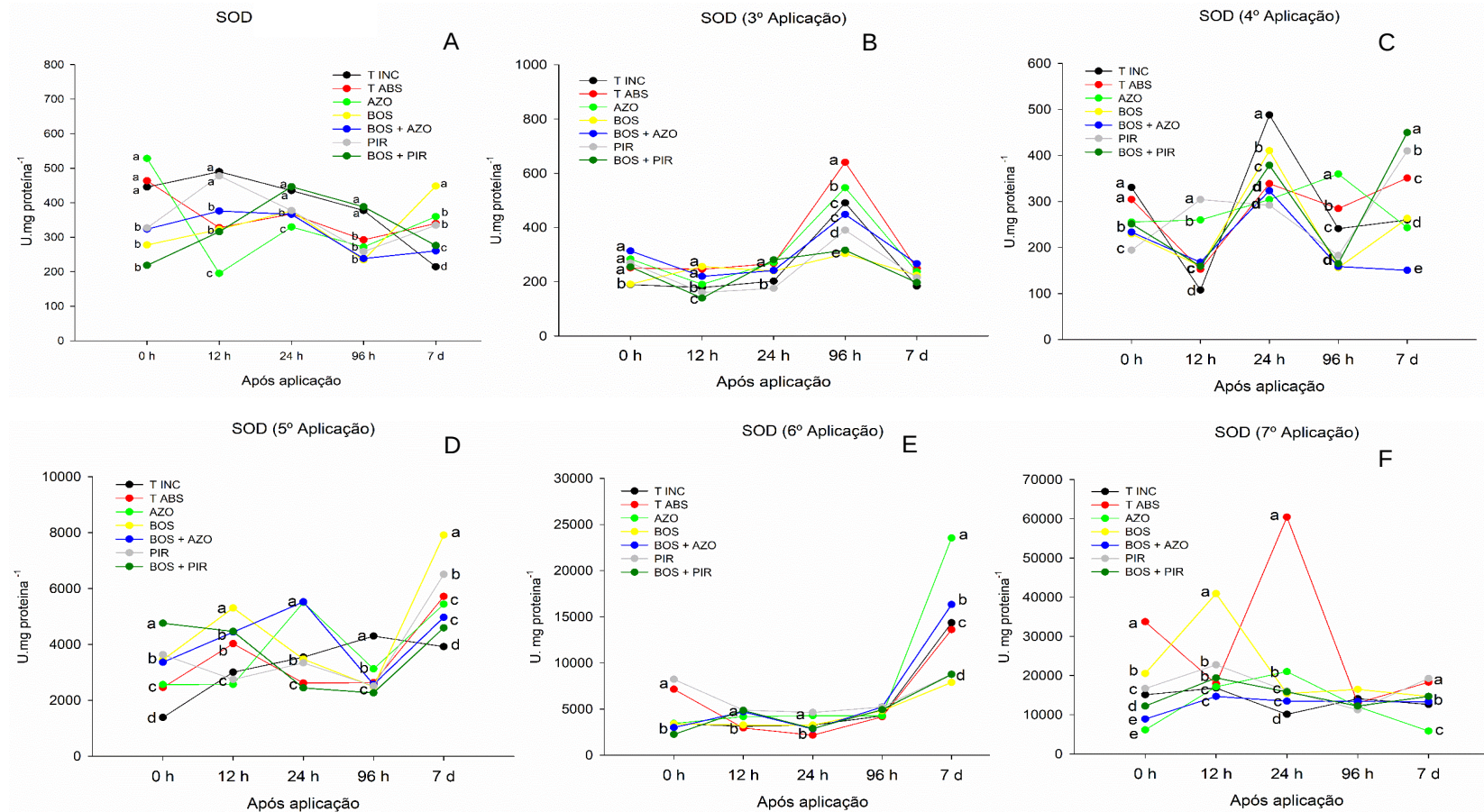
Tabela 7- Análise da atividade de enzimas antioxidantes, superóxido dismutase – SOD, catalase – CAT e peroxidase-POD de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas, em diferentes momentos de coletas e aplicação dos tratamentos, Salto-SP (2019).

FV	F														
	2 ° Aplicação														
	0 h*			12 h			24 h			96 h			7 d*		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
Trats	4,40**	102,88**	6,11**	28,30**	36,75**	7,86**	16,07**	139,65**	1,23 ^{ns}	9,93**	199,86**	3,91**	19,89**	98,47**	4,59**
bloco	0,82 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,98 ^{ns}	2,14 ^{ns}	1,16 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,57 ^{ns}	1,29 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,57 ^{ns}	0,87 ^{ns}	1,52 ^{ns}
CV (%)	29,83	12,89	21,85	11,99	14,72	19,03	5,94	9,33	12,78	15,37	10,45	22,54	12,06	12,74	18,67
	3 ° Aplicação														
	0 h			12 h			24 h			96 h			7 d		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
	Trats	8,56**	19,83**	7,83**	16,74**	8,94**	7,60**	8,70**	1,79 ^{ns}	1,14 ^{ns}	32,02**	22,29**	4,70**	6,77**	12,69**
bloco	0,78 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,69 ^{ns}	1,76 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,88 ^{ns}	1,19 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,25 ^{ns}	1,62 ^{ns}
CV (%)	14,05	23,98	18,45	11,98	26,18	18,39	12,23	22,46	13,72	10,21	28,83	19,21	11,05	30,72	15,07
	4 ° Aplicação														
	0 h			12 h			24 h			96 h			7 d		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
	Trats	14,08**	3,73**	34,98**	24,10**	11,72**	52,71**	12,53**	1,37 ^{ns}	57,20**	42,28**	20,19**	36,13**	63,23**	6,71**
bloco	1,99 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,71 ^{ns}	1,84 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,95 ^{ns}	4,02 ^{ns}	1,88 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,79 ^{ns}	2,22 ^{ns}	1,14 ^{ns}
CV (%)	10,79	27,06	15,66	16,76	29,08	15,59	12,08	26,35	14,91	12,12	21,17	14,71	9,67	20,69	15,81
	5 ° Aplicação														
	0 h			12 h			24 h			96 h			7 d		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
	Trats	14,08**	3,73**	34,98**	24,10**	11,72**	52,71**	12,53**	1,37 ^{ns}	57,20**	42,28**	20,19**	36,13**	63,23**	6,71**
bloco	1,99 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,71 ^{ns}	1,84 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,95 ^{ns}	4,02 ^{ns}	1,88 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,79 ^{ns}	2,22 ^{ns}	1,14 ^{ns}
CV (%)	10,79	27,06	15,66	16,76	29,08	15,59	12,08	26,35	14,91	12,12	21,17	14,71	9,67	20,69	15,81

Trats	136,51**	12,29**	33,65**	38,19**	11,96**	107,65**	34,58**	112,31**	51,65**	15,17**	2,95**	52,09**	20,83**	44,64**	8,80**
bloco	0,99 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,66 ^{ns}	5,15 ^{ns}	1,46 ^{ns}	1,25 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,16 ^{ns}	1,16 ^{ns}	0,42 ^{ns}	1,26 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,19 ^{ns}
CV (%)	6,63	27,54	12,48	9,87	24,56	6,76	12,66	14,22	12,00	14,04	17,36	9,17	11,58	13,64	16,43
6 ° Aplicação															
	0 h			12 h			24 h			96 h			7 d		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
Trats	2,74**	7,72**	247,14**	5,69**	1,72 ^{ns}	12,75**	20,40	96,06**	1,38 ^{ns}	1,23 ^{ns}	10,39**	63,19**	53,96**	54,40**	63,26**
bloco	0,79 ^{ns}	0,85 ^{ns}	2,60 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,73 ^{ns}	1,70 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,23 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,34 ^{ns}
CV (%)	29,68	19,59	13,21	20,28	22,18	16,97	12,71	17,22	14,48	14,72	23,98	17,68	12,71	15,20	12,18
7 ° Aplicação															
	0 h			12 h			24 h			96 h			7 d		
	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD	SOD	CAT	POD
Trats	70,81**	7,07**	99,40**	47,83**	65,63**	139,65**	146,88**	57,65**	128,25**	1,24 ^{ns}	132,86**	1,75	8,75**	17,98**	9,59**
bloco	0,70 ^{ns}	0,68 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,51 ^{ns}	2,10 ^{ns}	1,32 ^{ns}	0,21 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,46 ^{ns}	1,54 ^{ns}	0,69 ^{ns}
CV (%)	14,85	22,87	15,64	13,57	17,27	16,90	14,71	12,92	20,98	25,90	20,41	26,08	23,52	29,23	18,37

*h- horas, d- dias ^{ns}- não significativo, ** significativo a 5% de probabilidade.

Figura 5- Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, U.mg proteína⁻¹) antes da aplicação dos tratamentos 0, 12, 24 e 96 h e 7 dias (d) após a 2ª aplicação (A), 3ª (B), 4ª (C), 5ª (D), 6ª (E) e 7ª aplicação dos tratamentos (F) de plantas de tomateiro 'Colt' submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico. Salto-SP (2019).



T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

A aplicação de BOS, AZO e PIR de forma isolada promoveu o aumento da atividade da enzima SOD, demonstrando melhor atividade antioxidante das plantas desses tratamentos. Com essa maior atividade pode-se inferir que houve maior eliminação de $\cdot\text{O}_2^-$, reduzindo os efeitos deletérios deste ao metabolismo. Em plantas enxertadas de pepino, tratadas com azoxistrobina o estresse oxidativo foi controlado pela elevação da atividade das enzimas SOD, CAT e POD e, conseqüentemente, redução da peroxidação lipídica (AMARO et al., 2018), corroborando com os resultados da atividade da enzima SOD deste trabalho.

Analizando a atividade dessa enzima durante todo o período de avaliação, observa-se que após a segunda aplicação dos tratamentos (Figura 5 A), os valores médios para os tratamentos com fungicidas estavam em torno de 450 U.mg proteína⁻¹, enquanto que na sétima aplicação (Figura 5 F) houve aumento para 25 000 U.mg proteína⁻¹. Aparentemente, os efeitos fisiológicos desses fungicidas são mais perceptíveis quando a planta é submetida à algum tipo de estresse, levando-os a agir como protetores contra possíveis distúrbios que a planta pode eventualmente enfrentar (TAKAHASHI et al., 2017). Assim, o fungo *Alternaria sp.* infectou as plantas de todos os tratamentos e a ação dos fungicidas controlou o progresso da doença como demonstrado nos resultados de severidade, ao tempo que também ativou o sistema enzimático antioxidante das plantas. Além disso, no presente trabalho o aumento da atividade da enzima SOD foi proporcional ao progresso da doença. Tal fato também foi observado em plantas de arroz infectadas por *Pyricularia oryzae*, com o aumento do progresso da doença, 84 horas após a inoculação ocorreu o pico da atividade da enzima SOD (DOMICINIANO et al., 2015).

Nas plantas dos tratamentos testemunha inoculada e absoluta pode-se observar picos no aumento da atividade da enzima SOD, 96 h após a terceira aplicação e 24 h após a sétima aplicação para testemunha absoluta e 24 h após a quarta aplicação para testemunha inoculada. Porém, na maioria das avaliações e horários as plantas tratadas com os fungicidas apresentaram maior atividade. Esse comportamento pode estar relacionado com a severidade da doença que apresentou resultados muito elevados na testemunha inoculada e absoluta, demonstrando menor agressividade do patógeno e, conseqüentemente, dando capacidade para a planta reagir, incrementando em alguns momentos, a sua atividade enzimática.

Como já citado, outra enzima que compõe o aparato de defesa contra o estresse oxidativo é a catalase (CAT), cooperando na eliminação das ERO dos tecidos vegetais, a partir da conversão de duas moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 (DUBEY, 2010). A atividade da enzima catalase (Figura 6), avaliada antes da aplicação dos tratamentos 0, 12, 24 e 96 h e 7 dias após, aos 35, 50, 65, 80, 95 e 110 DAT nas folhas de tomateiro, foi superior nos tratamentos: BOS e AZO aplicadas de forma isolada. Não se observou pico da atividade dessa enzima em período específico para cada aplicação; de maneira geral, para cada aplicação ocorreu um pico em horários diferentes.

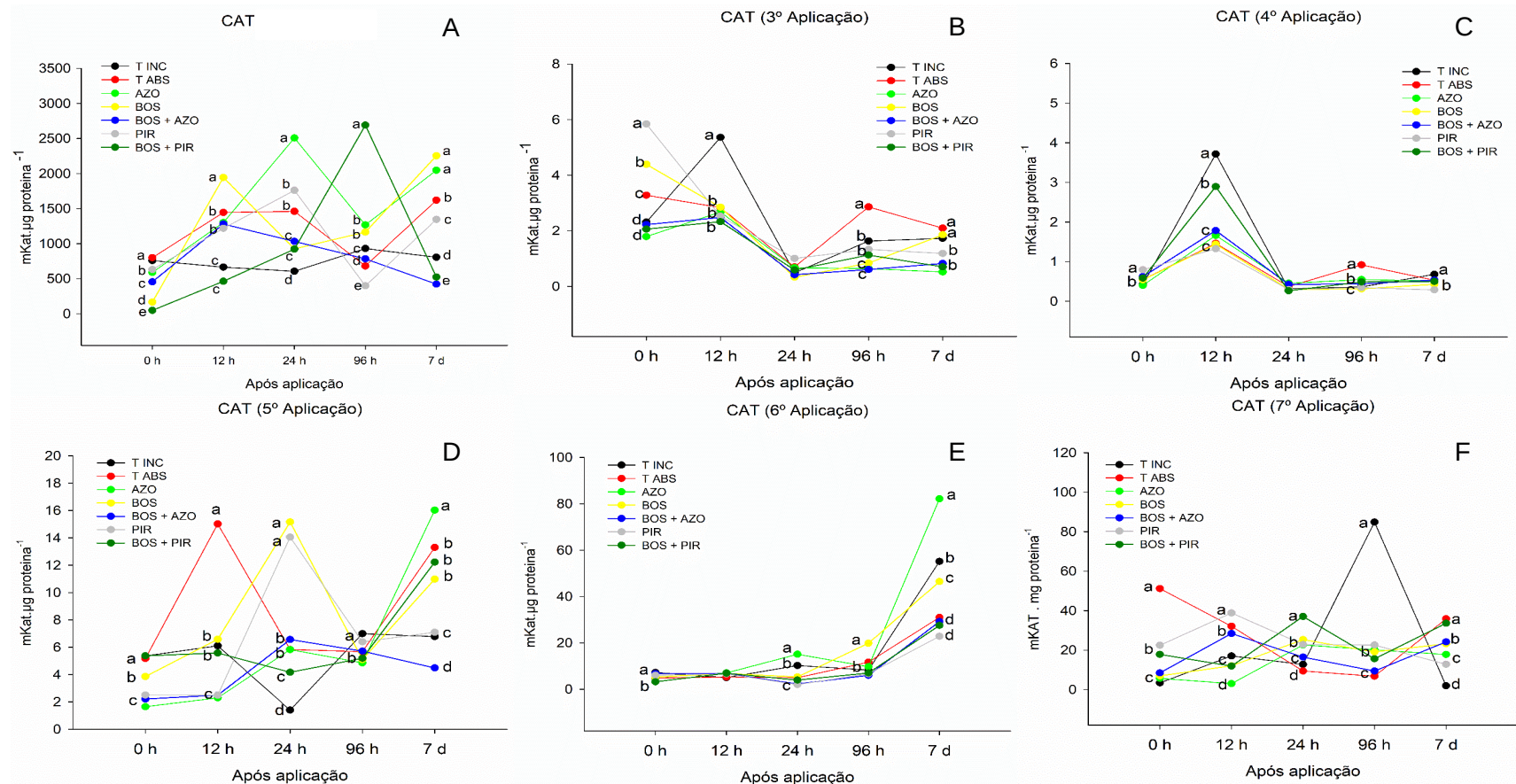
A aplicação dos demais fungicidas de forma combinada ou isolada, também aumentou a atividade da enzima catalase nas folhas de tomateiro, entretanto, com picos menos elevados na atividade dessa enzima. E a testemunha inoculada apresentou três picos de atividade da CAT, 12 h após a terceira aplicação (Figura 6-B), 12 h após a quarta aplicação (Figura 6-C) e 96 h após a sétima aplicação (Figura 6-F).

Semelhante ao comportamento observado para atividade da enzima SOD, a atividade de CAT também foi superior após a sétima aplicação quando comparada à segunda aplicação dos tratamentos. Aos 7 dias após a segunda aplicação, as folhas das plantas de tomateiro tratadas com BOS apresentaram valores de atividade da enzima CAT próximos a $2000 \text{ mKAT} \cdot \mu\text{g proteína}^{-1}$, enquanto que, 7 dias após a sétima aplicação valores de $40 \text{ mKAT} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$, cerca de 2000 vezes maior, considerando a conversão de mg de proteína para μg de proteína. A ação da enzima CAT é semelhante à de algumas outras enzimas como ascorbato peroxidase e glutathione redutase, em relação à redução dos efeitos danosos do H_2O_2 ; entretanto, a CAT é mais efetiva em concentrações relativamente altas de H_2O_2 (mM), em condição de estresses severos, pois a CAT não necessita de agente redutor, sendo eficiente para a remoção do H_2O_2 (DUBEY, 2010; SHARMA et al., 2012).

Dessa forma, com o aumento da atividade da enzima SOD, após a sétima aplicação ocorreu também, aumento na concentração de H_2O_2 , assim ocorreu maior atividade da enzima CAT, principalmente, nas plantas tratadas com BOS.

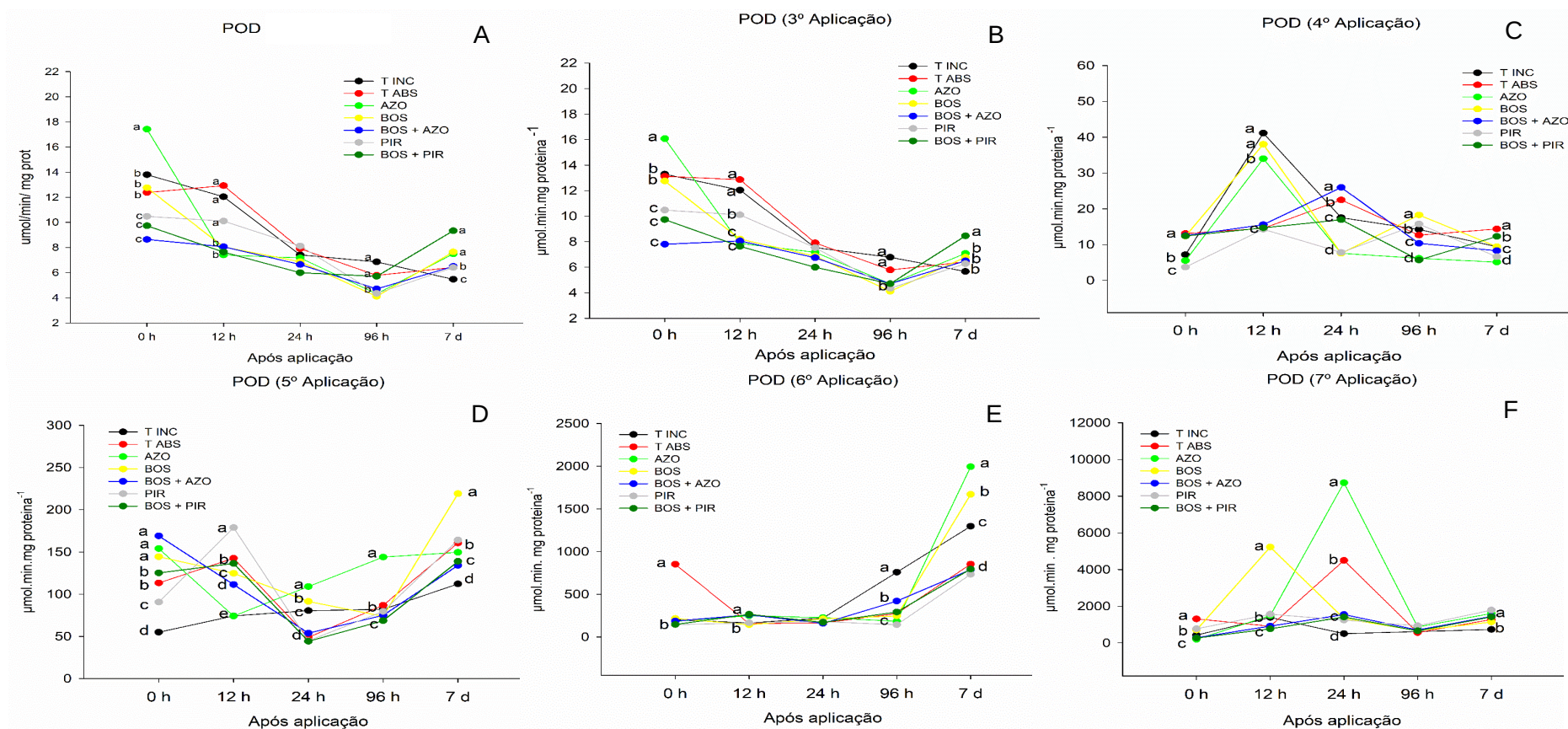
A enzima peroxidase (POD) é responsável por degradar o H_2O_2 como a catalase. Pode-se observar o efeito dos tratamentos na atividade da enzima peroxidase na Figura 7.

Figura 6- Atividade da enzima catalase (CAT, mKAT.µg proteína⁻¹) antes da aplicação dos tratamentos 0, 12, 24 e 96 h e 7 dias (d) após a 2^a aplicação (A), 3^a (B), 4^a (C), 5^a (D), 6^a (E) e 7^a (F) aplicação dos tratamentos de plantas de tomateiro 'Colt' submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico. Salto-SP (2019).



T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Figura 7- Atividade da enzima peroxidase (POD, $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{mg} \text{ proteína}^{-1}$) antes da aplicação dos tratamentos 0, 12, 24 e 96 h e 7 dias (d) após a 2ª aplicação (A), 3ª (B), 4ª (C), 5ª (D), 6ª (E) e 7ª aplicação dos tratamentos (F) de plantas de tomateiro 'Colt' submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico. Salto-SP (2019).



T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR-boscalida+piraclostrobina.

Tanto a POD quanto a CAT são proteínas que catalisam diferentes reações, controlando os níveis de ERO, atuando em diferentes organelas para manter a homeostase celular (BARBOSA et al., 2014). Dessa forma, a avaliação da atividade da enzima peroxidase (POD) em folhas de tomateiro tratadas com fungicidas de efeito fisiológico, demonstrou que o tratamento BOS apresentou maiores valores para essa variável; entretanto, o efeito desse fungicida na atividade das enzimas SOD e CAT foram mais evidentes quando comparadas ao seu efeito na enzima POD.

Como já reportado por Sharma et al. (2012), a ação da enzima CAT é mais evidenciada em condições de elevadas concentrações de H_2O_2 , ou seja, condição mais estressante para a planta. É possível que mesmo com a diferença significativa ($p < 0,05$) observada para a atividade da enzima peroxidase, o sistema de reação enzimático antioxidativo tenha sido modulado pela maior ação da enzima catalase degradando o H_2O_2 em O_2 e H_2O , não necessitando maior atividade da POD.

Mesmo assim, também se observou para a atividade da peroxidase evolução nos valores da segunda aplicação (Figura 7-A) para a sétima aplicação (Figura 7-F). Quanto aos tratamentos testemunha inoculada e absoluta, maiores valores da atividade da enzima peroxidase foi observada as 12 h após a segunda, terceira e quarta aplicações e menor atividade dessa enzima no decorrer das avaliações. Assim, com os menores valores da atividade das enzimas CAT e POD no tratamento testemunha inoculada, as plantas desse tratamento ficaram mais susceptíveis aos danos deletérios causados pela presença de H_2O_2 .

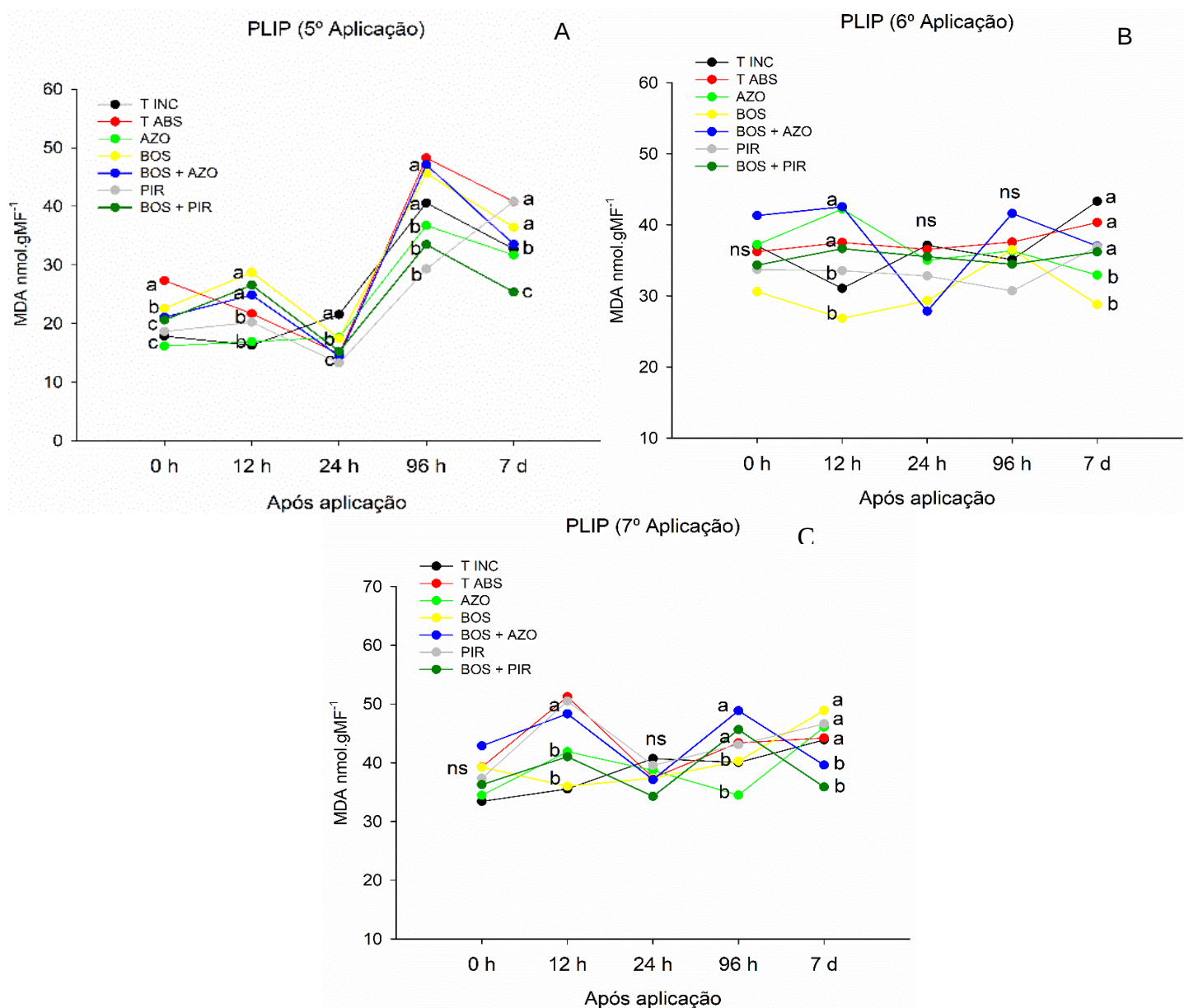
Pesquisas indicam as enzimas do sistema antioxidante, por exemplo a POD, como um importante sinalizador de defesa das plantas ao ataque de patógenos, estes ainda afirmam os fungicidas estrobirulina e triazol aprimoram o sistema antioxidante das plantas pulverizadas (JALEEL et al., 2008; NAIR et al., 2012). Honorato Júnior et al. (2015), avaliando as alterações fotossintéticas e antioxidativas em folhas de cafeeiro causada pela aplicação de epoxiconazol e piraclostrobina e infectadas por *Hemileia vastatrix*, verificaram o aumento na atividade das peroxidases e catalase em plantas de café inoculadas e pulverizadas com os fungicidas o mesmo não observado no tratamento controle. Dessa forma, como no

presente estudo a aplicação dos fungicidas aprimoram o sistema antioxidante das plantas.

O processo de peroxidação lipídica, determinada a partir do acúmulo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico é o mais importante parâmetro utilizado para avaliar a intensidade do estresse oxidativo em plantas. Durante o processo de lipoperoxidação, a reação desencadeada pelas ERO ocasiona a degradação de ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, como os ácidos linolênico e linoleico, que têm como subprodutos principais os íons peróxido e o malondialdeído (MDA), os quais são mensurados por meio da reação com os ácidos tiobarbitúrico e tricloroacético (MAREK, 2018).

Os resultados da peroxidação lipídica em folhas de tomateiro tratadas com fungicidas em diferentes períodos de avaliação estão dispostos na figura 8.

Figura 8- Peroxidação lipídica (PLIP, MDA.mmol.gMF⁻¹) antes da aplicação dos tratamentos 0, 12, 24 e 96 h e 7 dias (d), após a 5ª aplicação (A), 6ª (B) e 7ª aplicação dos tratamentos (C) de plantas de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico. Salto-SP (2019).



T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Observando os gráficos da figura 8, é possível notar picos nos valores de peroxidação lipídica após cada aplicação, 96 horas após a quinta aplicação (Figura

8-A) e 7 dias após a sexta (Figura 8-B) e sétima aplicação (Figura 8-C) dos fungicidas de efeito fisiológico. Em cada um desses picos máximos de peroxidação lipídica encontram-se os tratamentos testemunha inoculada e testemunha absoluta, sem, contudo, diferirem estatisticamente de alguns tratamentos onde foram aplicados os fungicidas.

A elevada peroxidação nas folhas de tomateiro dos tratamentos testemunha inoculada e testemunha absoluta é resultante do estresse causado pela infecção do fungo *Alternaria sp.* e também pela baixa atividade das enzimas antioxidantes que eliminariam as ERO. Considerando que em alguns momentos após a aplicação dos fungicidas, ou água como o caso da testemunha absoluta, os valores de peroxidação da testemunha inoculada regrediram. É possível que este comportamento esteja ligado à severidade da doença nas datas de avaliação, que não chegaram a 11%. As plantas dos tratamentos BOS e AZO apresentaram maiores resultados na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e POD e, também, reduziram a peroxidação lipídica na quinta aplicação, até 24 horas após a aplicação e na sexta e sétima aplicação até as 96 horas. Dessa maneira, pode-se inferir que a ação desses fungicidas é eficiente para aumentar a atividade das enzimas antioxidantes e reduzir a peroxidação lipídica, durante curto período de tempo, razão pela qual as aplicações devem ser constantes e fracionadas.

Além das membranas, outras moléculas essenciais como pigmentos fotossintéticos, proteínas e ácidos nucleicos também são alvos das ERO (SHARMA et al., 2012). Considerando que os pigmentos fotossintéticos também podem ser afetados pelas ERO e que o sistema antioxidante das plantas tratadas com BOS foi o que apresentou maiores valores, no geral, pode-se afirmar que esse fungicida foi eficiente contra a degradação da clorofila *b* e carotenoides.

Portanto, a aplicação dos fungicidas favoreceu um metabolismo antioxidante mais eficiente nas plantas infectadas por *Alternaria sp.*, observado pela redução da peroxidação lipídica. Estudo anterior mostram que um sistema antioxidante eficiente, especialmente baseado nas altas atividades de APX, POX, SOD e GST, envolve uma remoção das ERO, e reduzem danos nas células causadas pela infecção por *Pyricularia oryzae* em folhas de trigo, contribuindo para uma atenuação da severidade (Debona et al. 2012).

Todavia, os resultados se relacionam quanto aos parâmetros fotossintéticos, alterações benéficas na atividade das enzimas antioxidativas e teores de clorofila *b* e carotenoides, indicando que as plantas tratadas com fungicidas apresentaram melhores condições quando comparadas às testemunhas, principalmente, após um maior número de aplicações e, também, dias após o transplântio. Efeitos fisiológicos dos fungicidas já foram relatados em tomateiro (MAREK et al., 2018), tomateiro Micro-Tom (MARTINAZZO et al., 2016) e meloeiro (MACEDO et al., 2017).

O efeito positivo dos tratamentos com fungicidas na fisiologia e bioquímica das plantas foram observados. Entretanto, do ponto de vista fitotécnico e econômico, a utilização desses fungicidas deve promover incrementos também na produtividade e, conseqüentemente, retorno do capital investido. Com isso, é possível observar efeito significativo ($p < 0,05$) entre os tratamentos nos dois ciclos consecutivos em 2018 e 2019 (Tabela 9).

Tabela 8- Resumo da análise de variância para produção total (PT, kg.m²) e comercial (PC, kg.m²) de plantas de tomateiro submetidas à aplicação de fungicidas, em dois ciclos de produção, Salto-SP (2018-2019).

FV	2018		2019	
	F		F	
	Produção total	Produção comercial	Produção total	Produção comercial
Trats	3,47**	3,25**	10,60**	14,08**
bloco	10,89**	5,42**	0,56 ^{ns}	0,30 ^{ns}
CV (%)	8,27	9,22	7,90	6,98

^{ns} - não significativo, ** significativo a 5% de probabilidade.

Como observado na tabela 8, os tratamentos diferiram entre si ($p < 0,05$) para produção total e comercial de frutos de tomateiro. Todavia, a aplicação dos fungicidas influenciou de forma positiva na produtividade da cultura, pois para o ano de 2018 as plantas que receberam a aplicação de AZO, BOS e BOS+AZO apresentaram os maiores valores para produção total, com incrementos de 6,9, 8,7 e 5% em relação à testemunha inoculada, respectivamente. Enquanto para o cultivo

de 2019, essa mesma variável, foi superior nos tratamentos BOS, BOS+AZO e PIR com incrementos de 33, 22,3 e 18,33% em relação à testemunha inoculada, respectivamente.

Tabela 9- Valores médios de produção total (kg.m⁻²) e comercial (kg.m⁻²) de frutos de tomateiro ‘Colt’ submetidas à aplicação de fungicidas de efeito fisiológico em dois anos de cultivo, Salto-SP (2018-2019).

Tratamentos	2018		2019	
	Produção total kg.m ⁻²	Produção comercial kg.m ⁻²	Produção total kg.m ⁻²	Produção comercial kg.m ⁻²
T INC	10,57 b	7,27 b	9,27 b	6,99 c
T ABS	9,91 b	7,43 b	8,68 b	6,68 c
AZO	11,30 a	7,53 b	10,23 b	7,72 c
BOS	11,50 a	8,87 a	12,36 a	9,51 a
BOS+AZO	11,10 a	8,45 a	11,34 a	8,72 b
PIR	10,25 b	7,43 b	10,97 a	8,42 b
BOS+PIR	10,08 b	7,38 b	9,26 b	6,99 c

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não se diferem significativamente entre si, pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. T INC- testemunha inoculada; T ABS- testemunha absoluta; AZO- azoxistrobina; BOS- boscalida; BOS+AZO- boscalida+azoxistrobina; PIR- piraclostrobina; BOS+PIR- boscalida+piraclostrobina.

Quanto à produção comercial destacaram-se as plantas dos tratamentos BOS e BOS+AZO em 2018 com valores de 8,87 e 8,45 kg.m⁻², respectivamente. Já em 2019, somente as plantas do tratamento BOS despontaram com o melhor resultado, 9,51 kg.m⁻². Esses resultados mostram que a aplicação de carboxamidas e estrobilurinas, de forma isolada ou conjunta, proporcionaram aumento na produtividade do tomateiro, quando comparada às testemunhas. Corroborando com esses resultados, a aplicação de estrobilurinas aumentou a produção total e comercial de tomateiro em 14,2 e 19,1%, respectivamente (CANTORE et al., 2016); outras culturas também apresentaram incrementos na produção e na eficiência fisiológica das plantas quando submetidas à aplicação desses fungicidas, como cenoura (COLOMBARI et al., 2015), feijão (JADOSKI et al., 2015), milho (SHETLEY et al., 2015) e pepino (AMARO et al., 2018).

A taxa de assimilação de CO₂, eficiência de carboxilação e taxa aparente de transporte de elétrons foi superior nas plantas tratadas com boscalida aos 120 DAT, apresentando esse tratamento maior produção total e comercial. Da mesma forma, as plantas tratadas com azoxistrobina + boscalida apresentaram maior *A*, *A/Ci* e *ETR* aos 95 DAT e maior produção total junto com as plantas do tratamento onde foi aplicada somente boscalida.

Assim, a ação das enzimas antioxidantes como sistema de defesa minimizando os efeitos deletérios do estresse oxidativo, causado, principalmente, pela ação do patógeno *Alternaria sp.*, além da diminuição na severidade da doença em todo o ciclo da cultura, demonstram também a ação fisiológica dos fungicidas testados.

O metabolismo antioxidante ativo que elimina rapidamente as ERO, atrelado a uma manutenção do aparato fotossintético, foi um efeito notável obtido a partir da aplicação de ácido picolínico em plantas de trigo infectadas com *Pyricularia oryzae* (AUCIQUE-PÉREZ et al., 2019). Contudo, a aplicação de BOS e AZO+BOS também foi eficiente para as plantas de tomateiro, evitando as ERO, incrementando a assimilação de CO₂ e a produtividade.

A aplicação desses fungicidas já é recomendada para ganho de produtividade da cultura da cana-de-açúcar (BASF, 2020), da mesma forma que Linhares Neto (2020) observou aumento da produtividade final da cana-de-açúcar após aplicações consecutivas de piraclostrobina. Dessa maneira e de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho pode-se prospectar o uso dos fungicidas, principalmente boscalida, em uma aplicação para prevenção fitossanitária e as demais para ganho de produtividade da cultura do tomateiro.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos nos dois experimentos realizados, conduzidos em Salto-SP em 2018 e 2019, foi possível identificar o efeito dos fungicidas testados na fisiologia das plantas de tomateiro híbrido Colt[®], onde as plantas da testemunha inoculada e absoluta (aplicação de água), apresentaram menores valores nas análises da fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas. Sobretudo nas avaliações realizadas após um maior número de aplicações dos tratamentos.

Foi possível observar também, os efeitos deletérios da ação do patógeno *Alternaria sp.*; a partir da análise de fluorescência da clorofila *a* se confirmou que o estresse biótico causado no tratamento testemunha inoculada danificou o aparato fotossintético das plantas com a elevação do *qNP* e redução do *qP*. Isto reduziu a eficiência fotossintética como um todo e, conseqüentemente, também a produção total e comercial de frutos.

Pode-se afirmar que os diferentes fungicidas testados são eficientes no controle da pinta preta em tomateiro. Além disso, a aplicação dos fungicidas também foi capaz de ativar o sistema de enzimas antioxidantes das plantas. A resposta bioquímica foi observada através do aumento na atividade das enzimas SOD, CAT e POD e quando comparada entre as épocas de coletas, a atividade dessas foi superior após 7 aplicações e avanço da severidade da doença.

Por último, a aplicação de estrobilurinas e de carboxamidas também promoveu maior produção total e comercial de frutos de tomateiro. Os tratamentos boscalida 50 g ha⁻¹ e azoxistrobina 50 g ha⁻¹ + boscalida 50 g ha⁻¹ foram aqueles que apresentaram incrementos significativos na produção de frutos nos padrões comercializados pelos produtores.

6 CONCLUSÃO

A aplicação de carboxamidas e estrobilurinas proporciona respostas positivas na atividade do sistema antioxidativo e fisiologia das plantas de tomateiro 'Colt', da mesma forma que controla a doença pinta-preta.

Recomenda-se a aplicação quinzenal dos fungicidas boscalida 50 g ha⁻¹ e azoxistrobina 50 g ha⁻¹ + boscalida 50 g ha⁻¹ no cultivo do tomateiro em ambiente protegido, por aumentar a produção total e comercial das plantas.

REFERÊNCIAS

- AMARO, A. C. E.; BARON, D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: an overview. **Acta Physiologiae Plantarum**. v.42, 4. 2020.
- ASSMANN, S.M.; SHIMAZAKI, K.I. The multisensory guard cell: Stomatal responses to blue light and abscisic acid. **Plant Physiol**. v.119,p.809–815, 1999.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2ed., Lavras: UFLA, 2013. 455p.
- AMARO, A. C. E.; RAMOS, A. R. P.; MACEDO, A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of Japanese cucumber. **Scientia Horticulturae**, v. 228, n. 26, p. 66-75, 2018.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. 573p.
- AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; RESENDE, R. S.; NETO, L. B. C.; DORNELAS, F.; DAMATTA, F. M.; RODRIGUES, F. Á. Picolinic acid spray stimulates the antioxidative metabolism and minimizes impairments on photosynthesis on wheat leaves infected by *Pyricularia oryzae*. **Physiologia Plantarum**, v. 167, n. 4, p. 628-644, 2019.
- AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: [s.n.]. 1997. 114p
- BAKER, N.R. Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthesis in vivo. **Annu. Rev. Plant Biol**, v.59, n.1, p. 89–113, 2008.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BASF. (2020). **Manejo eficiente na plantação de cana-de-açúcar**. Disponível em: <<https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/cultivos/cana-de-acucar.html>>.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 44, n. 1, p. 276- 287, 1971.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S. D. (Ed.) **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, p.178-203. 2010.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. **Annals of Botany**, v. 91, n. 2, p. 179- 194, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248-254, 1976.

BRYSON, R.J.; Leandro, L.; Jones, D.R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: **Proceedings of the righton Crop Protection Conference - Pests and Diseases**. Farnham. 2000.

BRANDÃO FILHO, J. U. T.; GOTO, R.; GUIMARÃES, V. F.; HABERMANN, G.; RODRIGUES, J. D.; CALLEGARI, O. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, p. 474-477, 2003.

CAMPA, A. Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. **Peroxidases in chemistry and biology**, v. 2, p. 25-50, 1991.

CAMPBELL, C. **Introdução à epidemiologia de doenças de plantas**. John Wiley & Sons., 1990.

CANTORE, V.; LECHKAR, O.; KARABULUT, E.; SELLAMI, M. H.; ALBRIZIO, R.; BOARI, F.; STELLACCI, A. M.; TODOROVIC, M. Combined effect of deficit irrigation and strobilurin application on yield, fruit quality and water use efficiency of “cherry” tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Agricultural Water Management**, v. 167, n. 31, p. 53-61, 2016

CARRIJO, D. R. Efeitos fisiológicos provocados pelo fungicida Fluxapiroxade, isolado e em mistura com a Piraclostrobina, na cultura de soja. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

CASIERRA-POSADA, F.; PEÑA-OLMOS, J. E. Modificaciones fotomorfogénicas inducidas por la calidad de la luz en plantas cultivadas. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 39, p. 84-92, 2015.

COLOMBARI, L. F.; BALDINI, L. F. G.; BALDINI, V.; CARDOSO, A. I. I.; GOTO, R. Efeito fisiológico de fungicidas sistêmicos em parâmetros agronômicos da cenoura. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 366-371, 2015.

CQH/CEAGESP. Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. **Normas Técnicas de Classificação do tomate**. Centro de qualidade em Horticultura (CQH. Documentos, 26). São Paulo. 2003.

DEBONA, D.; NASCIMENTO, K.J.T.; GOMES, J.G.O.; AUCIQUE-PEREZ, C.E.; RODRIGUES, F.A. Physiological changes promoted by a strobilurin fungicide in the rice- *Bipolaris oryzae* interaction. **Pestic. Biochem. Physiol**, v.130, n.1, p. 8–16, 2016.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F.A.; RIOS, J.A.; NASCIMENTO, K.J.T. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, v.102, p.1121–1129, 2012.

DIAZ-ESPEJO, A.; CUEVAS, M.V.; RIBAS-CARBO, M.; FLEXAS, J.; MARTORELL, S.; FERNÁNDEZ, J.E. The effect of strobilurins on leaf gas exchange, water use efficiency and ABA content in grapevine under field conditions. **J. Plant Physiol**, v.169, n.4, p.379–386, 2012.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v. 182, p. 29-41, 2012.

DOMICIANO, G.P.; CACIQUE, I.S.; CHAGAS FREITAS, C.; FILIPPI, M.C.C.; DAMATTA, F.M.; DO VALE, F.X.R.; RODRIGUES, F. Á. Alterações nas trocas gasosas e no metabolismo oxidativo em folhas de arroz infectadas por *Pyricularia oryzae* são atenuadas pelo silício. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 738-747, 2015.

DOMINGUES, R. J.; SOUZA, J. D. F. D.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação “*in vitro*” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, 2009.

DUBEY, R. S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S. D. (Ed.) **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, p.178-203. 2010.

FAOSTAT. Countries by commodity 2017. Disponível em: <http://fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity> . Acesso em: 11 abr. 2020.

FAGAN, E. B.; DOURADO NETO, D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R. B.; YEDA, M. P.; MASSIGNAM, L. F.; MARTINS, K. V. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, v. 69, n. 4, 2010

FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by Trichoderma sp. **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1492-1500, 2011.

FOYER, C.H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A.A. **Photoassimilate distribution in plants and crops: Sourcesink relationships**. New York: Marcel Dekker, INC., 1996. p.331-340.

FREITAS FILHO, A. M. D. ; SANTOS, S. S.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; SANTOS, H. S.; VIDA, J. B.; HORA, R. C. D. Controle da pinta preta(*Alternaria solani*) por meio de fungicidas na cultura do tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, 2008.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GRIGOLLI, J. F. J.; KUBOTA, M. M.; ALVES, D. P.; RODRIGUES, G. B.; CARDOSO, C.R.; SILVA, D. J. H. D.; MIZUBUTI, E. S. G. Characterization of tomato

accessions for resistance to early blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 174- 180, 2011.

GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; RETZLAFF, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Plant Physiology**. V.154, 805-808, 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory Effects of the Fungicidal Strobilurin Kresoxim-methyl in Wheat (*Triticum aestivum*). **Pesticide Science**, v. 50, p. S.11-20. 1997.

HACHMANN, T.L.; ECHER, M.M; DALASTRA, G.M.; VASCONCELOS, E.S.; GUIMARÃES, V.F. Cultivo do tomateiro sob diferentes espaçamentos entreplantas e diferentes níveis de desfolha das folhas basais. **Bragantia**, v. 73, n. 4, p.399-406, 2014.

HAMMERSCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J. P.; VAN LOON, L. C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 1, p. 1-6, 2001.

HEINE, A. J. M.; MORAES, M. O. B.; PORTO, J. S.; SOUZA, J. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; SANTOS, B. S. R. Número de haste e espaçamento na produção e qualidade do tomate. **Scientia Plena**, v. 11, n. 9, p. 1-7, 2015.

HONORATO JÚNIOR, J.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; RODRIGUES, F. Á. Effects of epoxiconazole and pyraclostrobin fungicides in the infection process of *Hemileia vastatrix* on coffee leaves as determined by chlorophyll a fluorescence imaging. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 11-12, p. 968-977, 2015.

HONORATO JÚNIOR, J.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; RODRIGUES, F. Á. Photosynthetic and antioxidative alterations in coffee leaves caused by epoxiconazole and pyraclostrobin sprays and *Hemileia vastatrix* infection. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 123, p. 31-39, 2015.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. LSPA - Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. AGROPECUÁRIA, D. D. P. C. D. Rio de Janeiro, p.25-130, 2017.

JADOSKI, C. J.; RODRIGUES, J. D.; SORATTO, R. P.; DOS SANTOS, C. M.; RIBEIRO, E. Ação fisiológica da piraclostrobina na assimilação de CO₂ e enzimas antioxidantes em plantas de feijão condicionado em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, v. 20, n. 2, p. 319-333, 2015.

JALEEL, C.A.; GOPI, R.; MANIVANNAN, P.; PANNEERSELVAM, R. Exogenous application of triadimefon affects the antioxidant defense system of *Withania somnifera* Dunal, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.91, p.170–174, 2008.

KANUNGO, M.; JOSHI, J. Impact of Pyraclostrobin (F-500) on crop plants. **Plant Science Today**, v. 1, n. 3, p. 174-178, 2014.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KAWAI, H.; KANEGAE, T.; CHRISTENSEN, S.; KIYOSUE, T.; SATO, Y.; IMAIZUMI, T.; KADOTA, A.; WADA, M. Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. **Nature**, v.421, p.287-290, jan. 2003.

KEPPLER, L. D.; BAKER, C. J. O₂ - initiated lipid peroxidation in a bacteria-induced hypersensitive reaction in tobacco cell suspensions. **Phytopathology**, v. 79, n. 5, p. 555-562, 1989.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; SILVA, P. P. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2014.

KÖHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; HERMS, S. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: DEHNE, H.W.; GISI, U.; KUCK, K.H.; RUSSELL, P.E.; LYR, H. (Ed.). **Modern Fungicides and Antifungal Compounds III**. Bonn: Agroconcept, 2003.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of strobilurin fungicide F 500 on plants. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n. 65, 1994.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E.. Fluorescência e fotossíntese da clorofila: o básico. **Revisão anual de biologia vegetal**, v. 42, n. 1, p. 313-349, 1991.

LAWRENCE, C. B.; MITCHELL, T. K.; CRAVEN, K. D.; CHO, Y. R.; CRAMER, R. A.; KIM, K. H. At death's door: Alternaria pathogenicity mechanisms. **The Plant Pathology Journal**, v. 24, n. 2, p. 101-111, 2008.

LEHMANN, S.; SERRANO, M.; L'HARIDON, F.; TJAMOS, S. E.; METRAUX, J. P. Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. **Phytochemistry**, v. 112, p. 54-62, 2015.

LIMA, J. D.; MORAES, W. D. S.; SILVA, S. H. M. G. D. Respostas fisiológicas em mudas de bananeira tratadas com estrobilurinas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 77-86, 2012.

LINHARES NETO, M.V. Fisiologia metabólica e sinalização no Desenvolvimento reprodutivo da cana-de-açúcar sob a influência de piraclostrobina. 2020. 108f. **Tese** (Doutorado em fisiologia vegetal)- Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras.

LUENGO, R.F.A.; MOITA, A.W.; NASCIMENTO, E.F.; MELO M.F. Redução de perdas pós-colheita em tomate de mesa acondicionado em três tipos de caixas. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.2, p.151-154, 2001.

MACEDO, A. C. Fungicidas de efeitos fisiológicos no metabolismo e desenvolvimento de plantas de melão rendilhado sob cultivo protegido. 2015. 102f. **Tese** (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Horticultura, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

MACEDO, A. C.; AMARO, A. C. E.; RAMOS, A. R. P.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Strobilurin and boscalid in the quality of net melon fruits. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 543-550, 2017.

MANSANO, A. R. Fungicidas e reguladores vegetais nas características fisiológicas e produtivas de alface 'vera'. 2014. 48f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Horticultura, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

MAREK, J. Efeitos fisiológicos e metabólicos em tomateiro por estrobilurinas e carboxamidas. 2018. 172f. **Tese** (Doutorado em Agronomia) - Programa de Pós Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.

MAREK, J.; AZEVEDO, D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; FARIA, C. M. D. R. Photoynthetic and productive increase in tomato plants treated with strobilurins and carboxamides for the control of *Alternaria solani*. **Scientia Horticulturae**, v. 242, p. 76-89, 2018.

MARTINAZZO, E.G.; PERBONI, A.T.; TEJADA, M.T.; POSSO, D.A.; ANTONIO, G.; BACARIN, M.A. Efeito da aplicação de nitrogênio e de piraclostrobina em plantas de tomateiro cultivar Micro-Tom. **Rev. Ceres**, v. 63, n. 5, p. 676-682, Oct. 2016.

MATOS, G. A.; SOUSA, F. A.; PAULO JÚNIOR, J.; LIMA, L. M. Avaliação da mistura de fungicidas no controle de doenças do cafeeiro. **Revista Getec**, v. 5, n. 9, p. 90-103, 2016.

MAXWELL K. E JOHNSON N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.659-668, 2000.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v 58, p. 459-481, 2007.

MOUSTAKA, J.; TANOU, G.; GIANNAKOULA, A.; ADAMAKIS, I.D.S.; PANTERIS, E.; ELEFThERIOU, E.P.; MOUSTAKAS, M. Anthocyanin accumulation in poinsettia leaves and its functional role in photo-oxidative stress. **Environmental and Experimental Botany**, p. 104065, 2020.

NAIKA, S.; JEUDE, J. V. L. D.; GOFFAU, M. D.; HILMI, M.; DAM, B. V. A cultura do **tomate: produção, processamento e comercialização**. Wageningen, Países Baixos: Digigrafi, 2006. 104 p.

NAIR, V.D.; GOPI, R.; MOHANKUMAR, J.; KAVINA, J.; PANNEERSELVAM, R. Effect of triadimefon: a triazole fungicide on oxidative stress defense system and eugenol content in *Ocimum tenuiflorum* L.. **Acta Physiology Plant**, v. 34 p. 599–605, 2012.

NOCTOR, G.; LELARGE-TROUVERIE, C.; MHAMDI, A.; The metabolomics of oxidative stress. **Phytochemistry**, v. 112, p. 33-53, 2015

PEIXOTO, H. P. P. et al. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

POPOV, E.G.; TALANOV, A.V.; KURETS, V.K.; DROZDOV, S.N. Effect of temperature on diurnal changes in CO₂ Exchange in intact cucumber plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.50, n.2, p.178-182, 2003.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M. N. V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Response of antioxidant enzymes and antioxidants. **Plant Science**, v. 138, n. 2, p. 157-165, 1998.

RAMOS, A.R.P. Produtos de efeitos fisiológicos no desenvolvimento de plantas de tomate 'Giuliana', na produção e pós-colheita de frutos. 2013. 2014. 147 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia - Horticultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu - SP.

RAMOS, R.P.; AMARO, A.C.E.; MACEDO, A.C.; SOUZA, E.R.; RODRIGUE, J.D.; ONO, E.O. Acúmulo de carboidratos no desenvolvimento de tomateiro tratado com produtos químicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.3, p.705–718, 2015.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; FORCELINI, C. A. **Manual de fungicidas: guia para o controle químico de doenças de plantas**. 5. ed., Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2007. 153p.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas à patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

RUELA, V. M.; SILVA, A. B.; VEIGA, A. D.; SOUZA, T. C.; MARQUES, D. M.; COSTA, C. E. M.; REZENDE, T. T. Growth and physiological response of coffee seedlings treated with fungicides. **Coffee Science**. v. 14, n. 2, p. 138 - 146. 2019.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SHETLEY, J.; NELSON, K. A.; STEVENS, W. G.; DUNN, D.; BURDICK, B.; MOTAVALLI, P. P.; ENGLISH, J. T.; DUDENHOEFFER, C. J. Corn yield response to pyraclostrobin with foliar fertilizers. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 7, p. 18-34, 2015.

SILVA, A. M. **Efeitos fisiológicos e bioquímicos provocados pela aplicação dos fungicidas benzovindiflupir+ azoxistrobina e protioconazol+ trifloxistrobina na cultura da soja**. 2019. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, 2019.

SIRTOLI, L. F.; RODRIGUES, J. D.; GOTO, R. Efeito fisiológico do fungicida boscalida na atividade da nitrato redutase e nas características fitotécnicas de pepineiro japonês enxertado e não enxertado. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.3 , p. 58-69, 2011.

SMILLIE, R.M. E HETHERINGTON S.E. Photoabatement by anthocyanin shields photosynthetic systems from light stress. **Photosynthetica**, v.36, p.451–463, 1999.

SONG, W.; MA, X.; TAN, H.; ZHOU, J. Absciscic acid enhances resistance to *Alternaria solani* in tomato seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 7, p. 700, 2011.

SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? **Comptes Rendus Biologies**, v. 327, p. 649-662, 2004.

SOUSA, M. S. S.; BRITO, M. E. B.; SILVA, L. A.; BARBOSA, R. C. A.; GHEYI, H. R.; FERNANDES, P. D. Eficiência fotossintética do mamoeiro cultivado sob Irrigação com águas salinizadas e adubação orgânica. **III INOVAGRI International Meeting**, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 820 p.

TAKAHASHI, N.; SUNOHARA, Y.; FUJIWARA, M.; MATSUMOTO, H. Improved tolerance to transplanting injury and chilling stress in rice seedlings treated with orysastrobin. **Plant Physiol Biochem**, v.45, n.113, p.161–167, 2017.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, Limerick, v. 153, n. 1, p. 65–72, 2000.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Controle da pinta preta do tomateiro com o uso de acibenzolar-s-metil isolado, em mistura com fungicidas e em programas de aplicação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 481-487, 2007.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. **Requeima e mancha de alternaria nas culturas da batata e tomate**: Divulgação técnica 76. Instituto Biológico, pp. 41–50, 2014.

TRANI. P. E; KARIYA. E. A; HANAI. S. M; ANBO. R. H; BASSETTO JÚNIOR. O. B; PURQUERIO. L. F. V; TRANI. A. L. Calagem e adubação do tomate de mesa. Campinas: Instituto Agrônomo. 2015. 35 p. online. (Série Tecnologia Apta. Boletim Técnico IAC, 215).

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVA, E.; DAT, J. F.; INZE, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.

VAVASSEUR, A.; RAGHAVENDRA, A.S. Guard cell metabolism and CO₂ sensing. **New Phytologist**, v.165, p.665-682, 2005.

VENANCIO, W. S.; RODRIGUES, M. A. T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N. L. D. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2003.

YEOM, M.; KIM, H.; LIM, J.; SHIN, A. Y.; HONG, S.; KIM, J.; NAM, H. G. How do phytochromes transmit the light quality information to the circadian clock in *Arabidopsis*. **Molecular Plant**, v. 7, n. 11, p. 1701-1704, 2014.

YPEMA, H. L.; GOLD, R. E. Kresoxym-methyl modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Plant Disease**, v. 83, n. 1, p. 4-19, 1999.

ZIVCAK, M.; BRESTIC, M.; BALATOVA, Z.; DREVENAKOVA, P.; OLSOVSKA, K.; KALAJI, HM.; ALLAKHVERDIEV, S.I. Transporte de elétrons fotossintéticos e respostas fotoprotetoras específicas em folhas de trigo sob estresse hídrico. **Photosynthesis Research**, v. 117, n. 1-3, p. 529-546, 2013.