



## O PAPEL DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES NA DEFESA DAS PLANTAS CONTRA INSETOS HERBÍVOROS E FITOPATÓGENOS

Jacqueline Barbosa Nascimento<sup>1\*</sup>, José Alexandre Freitas Barrigossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Agronomia - Fitossanidade. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás. Brasil.

\*e\_mail: [nascimentojb@hotmail.com](mailto:nascimentojb@hotmail.com)

<sup>2</sup>Pesquisador Doutor em Entomologia. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil.

Recebido em: 03/01/2014 – Aprovado em: 04/04/2014 – Publicado em: 12/04/2014

### RESUMO

Muitas plantas passam por mudanças bioquímicas significativas em resposta ao ataque de estressores bióticos, como patógenos ou insetos herbívoros. Ambos estressores bióticos quando atacam as plantas fazem com que estas respondam de forma rápida com uma “explosão oxidativa”, que constituem na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), principalmente ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O acúmulo destas substâncias nas células vegetais pode ser tóxico para ambos. Estas EROs acionam moléculas para a indução de genes de defesa e a polimerização de proteínas que compõe a parede celular, além de estimular a produção de enzimas antioxidativas ou de limpeza. Existe uma variedade destas enzimas que irão decompor as espécies reativas de oxigênio. Como por exemplo, temos superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO), entre outras. Nesta revisão será abordado como a herbivoria e a patogenicidade desencadeiam uma explosão oxidativa ativando o sistema de defesa da planta com a ação das enzimas antioxidativas.

**PALAVRAS-CHAVE:** catalase, peroxidase, estresse biótico, inseto, fungo.

### THE ROLE OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN PLANT DEFENSE AGAINST HERBIVOROUS INSECTS AND PHYTOPATHOGENS

#### ABSTRACT

Many plants suffer significant biochemical changes in response the attack of biotic stressors, such as phytopathogens or herbivorous insects. When any of these biotic stressors attack plants, this causes quick responses via an "oxidative burst", which constitutes the production of reactive oxygen species (ROS), particularly superoxide anion ( $O_2^{\bullet-}$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). The accumulation of these substances in vegetal cells can be toxic to both the biotic stressors and plants. These ROS will trigger molecules for the induction of defense genes and polymerization of proteins that makes up the cell walls, as well as stimulate the production of antioxidant enzymes or scavenging. There are a variety of these enzymes that will decompose the reactive oxygen species; the superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT) and polyphenol oxidase (PPO) are some examples. This review will describe how herbivory and pathogenic triggers cause an oxidative burst stimulating the defense system of the plants with the actions of antioxidant enzymes.

**KEYWORDS:** catalase, peroxidase, biotic stress, insect, fungus.

## INTRODUÇÃO

Muitas plantas passam por mudanças bioquímicas significativas em resposta ao ataque de estressores bióticos, como fitopatógenos ou insetos herbívoros (HILDEBRAND et al., 1986). Quando o ataque é realizado por patógenos, as plantas se defendem com mecanismos de defesa passiva ou pré-existente e ativa ou induzida. O primeiro mecanismo envolve barreiras estruturais ou reservatórios de compostos antimicrobianos estrategicamente posicionados que previne a colonização dos tecidos. Já o mecanismo de defesa ativa inclui a resposta de hipersensibilidade (RH), produção de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (PR), fluxo de íons através da membrana plasmática, produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e reativa de nitrogênio (ERN), conhecido como “explosão oxidativa”, lignificação e fortalecimento da parede celular através da deposição de proteína e caloses (ALMAGRO et al., 2009). A suscetibilidade e resistência das plantas estão relacionadas com a eficiência desta resposta de defesa ao ataque de fitopatógenos. A resistência a doenças em plantas é conhecida por ser controlada geneticamente conferindo resistência a fitopatógenos com um gene avirulento para um reconhecido evento específico (ZHAO et al., 2005).

O comportamento alimentar dos insetos também induz muitas alterações em suas plantas hospedeiras, incluindo mudanças morfológicas e sintomas como clorose, necrose, má formação de novos ramos e uma senescência acelerada (GOGGIN, 2007). A resposta do ataque de insetos nas plantas são as modificações que ocorrem na parede celular, morte de células, produção de fitoalexinas, acúmulo de proteínas relacionadas à defesa da planta e liberação de voláteis (PARANIDHARAN et al., 2003; GOGGIN, 2007).

Ambos estressores (fitopatógeno e inseto) quando atacam as plantas fazem com que estas respondam de forma rápida com uma “explosão oxidativa”, que constituem na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), principalmente ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (HU et al., 2009). O acúmulo destas substâncias nas células vegetais pode ser tóxico para ambos (planta e agentes estressores). O  $H_2O_2$  é a principal espécie reativa de oxigênio que aciona moléculas para a indução de genes de defesa e a polimerização de proteínas que compõe a parede celular, além de estimular a produção de enzimas antioxidativas ou de limpeza (ŁUKASIK et al., 2012).

Existe uma variedade de enzimas oxidativas que irão decompor estas espécies reativas de oxigênio. Dentre elas temos superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO), entre outras (Mittler, 2002). Alterações nos níveis destas enzimas oxidativas nas plantas têm sido relatadas entre a primeira resposta da planta ao ataque de insetos herbívoros (GOLAN et al., 2013; RANI & PRATYUSHA, 2013; SIGH et al., 2013). GOLAN et al. (2013) examinaram o efeito de diferentes intensidades de alimentação da cochonilha *Coccus hesperidum* (Hemiptera: Coccidae) a atividade de enzimas antioxidantes selecionados em plantas de samambaia rabo-de-peixe (*Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott.). Os autores observaram que a presença desta cochonilha nas folhas da samambaia alterou a atividade das enzimas selecionadas (guaiacol peroxidase e catalase) nas plantas que foram infestadas com este inseto. RANI & PRATYUSHA (2013) estudaram a respostas de algodoeiro ao ataque de *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuide) e observaram altos níveis das enzimas oxidativas superóxido dismutase,

catalase, peroxidase, juntamente com polifenol oxidase e fenilalanina amônia liase (PAL) nas plantas que foram infestadas com este inseto. SIGH et al. (2013) analisaram a atividade de peroxidase em resposta à dois grandes tipos de pragas de insetos (mastigadores e sugadores) em 3 importantes culturas agrícolas (algodão, tomate e feijão-caupi). Estes autores observaram que quando as plantas foram infestadas com *Spodoptera sp.* (inseto mastigador), *Aphis craccivora* e *Bemisia tabaci* (insetos sugadores) a atividade de peroxidase nas três culturas foi significativa após a alimentação dos insetos. Estes achados sugerem que a síntese ou o aumento da expressão de enzimas específicas na planta podem servir para elevar a resistência de plantas a insetos. Uma vez identificado, estas mudanças podem também ser úteis como marcadores para a resistência de pragas.

Entender o mecanismo de defesa das plantas é um caminho que possibilitará o desenvolvimento de cultivares mais resistentes a diversas doenças e insetos pragas. De forma sucinta, esta revisão tem como objetivo fornecer uma breve abordagem sobre os processos de defesa vegetal, associados às enzimas antioxidativas contra insetos pragas e fitopatógenos, bem como a importância da identificação destas enzimas que auxiliarão no conhecimento de resistência de plantas a insetos pragas e doenças.

### **ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO**

O oxigênio que apareceu na atmosfera da Terra principalmente como um produto da fotossíntese, apresenta vantagens e desvantagens para os organismos aeróbicos. Ele permite uma eficiente produção energética por combustão enzimática de compostos orgânicos, mas ao mesmo tempo o oxigênio é o líder dos danos aeróbicos na célula devido à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) que reagem com todas as classes de biomoléculas (BARTOSZ, 1997). Durante milhões de anos de evolução, os organismos aeróbicos se adaptaram a esta ameaça apresentada pelo oxigênio com a elaboração de um sistema antioxidante minimizando as ações prejudiciais das EROs, e até mesmo através do emprego destas espécies, como meio de defesa e talvez, como um mensageiro secundário (KHAN & WILSON, 1995).

As espécies reativas de oxigênio são produzidas, principalmente, quando uma pequena parcela dos elétrons da cadeia respiratória escapa e resulta em uma redução parcial do oxigênio molecular. Como exemplo, temos oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^\bullet$ ) e ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) (MITTLER, 2002). Neste sentido, as EROs, são subprodutos do metabolismo celular regular nos peroxissomos. Todas estas moléculas oxidativas são tóxicas e também podem ser induzidas por estímulos bióticos ou abióticos aos quais as plantas estão constantemente expostas (MITTLER, 2002; D'AUTRÉAUX & TOLEDANO, 2007).

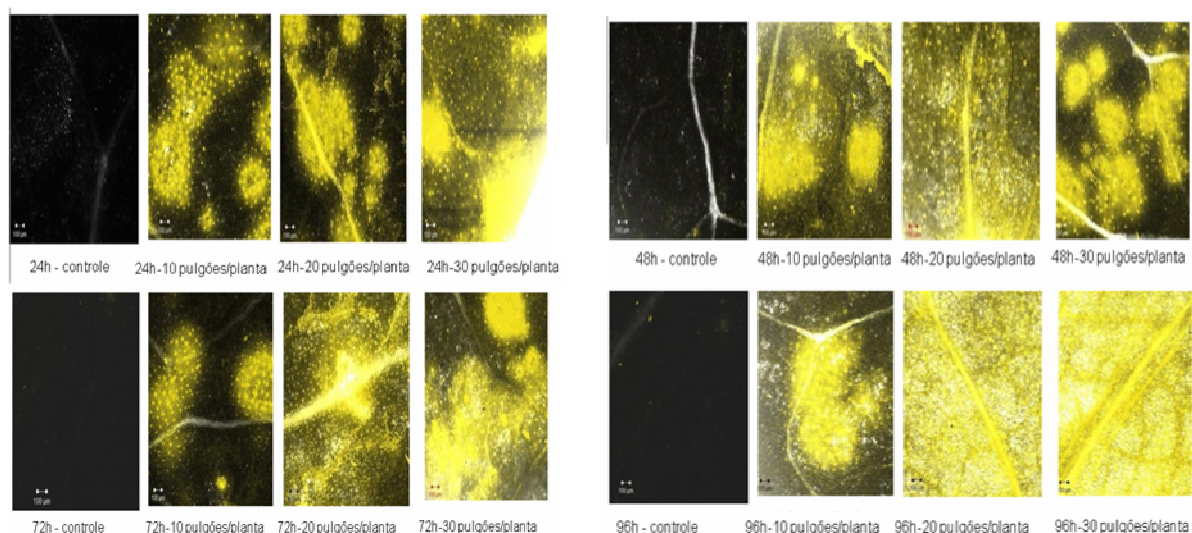
Quando as plantas sofrem algum estresse, abiótico ou biótico, os principais pontos de produção das EROs são os cloroplastos e as mitocôndrias, pois são organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com intenso fluxo de elétrons. Nos cloroplastos, a formação de ERO está relacionada com eventos da fotossíntese. O fenômeno de fotorrespiração nos peroxissomos é outra forma de produção de  $H_2O_2$ . Na mitocôndria, de 1-5 % de  $O_2$  consumido em condições de escuro, pode estar responsável pela produção de EROs. Outras fontes importantes de produção de EROs em plantas, que receberam pouca atenção, são as reações de desintoxicação catalisadas pelo citocromo P450 no citoplasma e retículo

endoplasmático. Estas espécies reativas também são geradas ao nível da membrana do plasma ou extracelularmente no apoplasto em plantas (GILL & TUTEJA, 2010).

### ÂNION SUPERÓXIDO

Os radicais de superóxido são os primeiros a serem produzidos através da redução de  $O_2$  durante o transporte de elétrons na via fotossintética nos cloroplastos e em torno de 1 a 2% do  $O_2$  consumido conduz a geração de  $O_2^{\bullet-}$ . Este superóxido é mais reativo que  $OH^{\bullet}$ , e possivelmente mais que  $^1O_2$  e cada uma destas espécies podem causar peroxidação da membrana lipídica e enfraquecimento celular (HALLIWELL, 2006).

MAI et al. (2013) avaliaram as mudanças no nível de  $O_2^{\bullet-}$  em folhas de ervilhas que foram infestadas com pulgões (*Acyrtosiphon pisum* Harris, Hemiptera: Aphididae). Forte geração e contínuo aumento na produção de  $O_2^{\bullet-}$  em folhas de ervilha no período de 24 a 96 h foram observados quando as plantas foram infestadas com 30 pulgões. Com o uso da microscopia focal pode-se observar também a geração relativa de  $O_2^{\bullet-}$  na epiderme e células do mesofilo que cercavam os locais de alimentação dos pulgões (Figura 1). Uma forte intensidade fluorescente derivada do indicador dihidroetídio (DHE), que ao ser oxidado pelo  $O_2^{\bullet-}$  gera etídio, produzindo uma fluorescência ao se ligar no DNA da célula, apareceram nas folhas infestadas pelos pulgões, enquanto que pouca ou nenhuma fluorescência foi observada nas folhas das plantas controle. Os autores ressaltam ainda que o maior nível de produção de  $O_2^{\bullet-}$  foi gerado nas plantas que foram infestadas com o maior número de pulgões (20 e 30 insetos) e que a maior área com fluorescência foi observada em folhas de ervilha 96 horas após a infestação. Apesar de causar danos oxidativos para a célula, a produção de  $O_2^{\bullet-}$  e outras EROs pode impedir diretamente a infestação subsequente de outros insetos e atuar como um potencial de defesa para a planta (FELTON et al., 1994a).



**FIGURA 1.** Geração relativa e localização citoquímica de ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em folhas de ervilha controle e infestadas (*Pisum sativum* L. cv. Cysterski) com 10, 20 e 30 pulgões (*Acyrtosiphon pisum* Harris) por planta em diferentes tempos de avaliação (24 a 96 horas). Fluorescência amarela corresponde ao DHE (dihidroetídio) que foram observadas através do microscópio Zeiss LSM 510. Adaptado de MAI et al. (2013).

## PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O peróxido de hidrogênio é umas das espécies reativas de oxigênio que apresentam relativamente uma longa meia-vida (1ms) (Tabela 1) e o excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas células das plantas lidera o estresse oxidativo. Porém, ele desempenha dois papeis nas plantas: em baixa concentração agem como um sinal molecular envolvendo em uma sinalização de aclimação acionando a tolerância a vários estresses bióticos e abióticos. Já em alta concentração, ele lidera para a morte programada da célula (BHATTACHARJEE, 2012).

**TABELA 1.** Espécies reativas de oxigênio nos tecidos vegetais e suas propriedades básicas (meia-vida em sistema biológico, capacidade de migração – distância percorrida em um tempo de meia-vida se o coeficiente de difusão for de 10<sup>-9</sup>m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). Adaptado de Bhattacharjee, 2012.

EROs	Meia-vida	Capacidade de migração celular	Fonte	DNA	Reativo com Proteína	Lipídios, carboidratos
Peróxido de hidrogênio	1 ms	1 µm	Membranas, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos	Não	Sim	Difícilmente
Radical hidroxila	1 µs	1nm	Membrana, cloroplastos, mitocôndria	Rapidamente	Rapidamente	Rapidamente
Oxigênio singleto	1-4 µs	30 nm	Membrana, cloroplastos, mitocôndria	Yes	Algumas proteínas	Ácidos graxos insaturados
Ânion superóxido	1-4 µs	30 nm	Membrana, cloroplastos, mitocôndria	Não	Sim	Difícilmente

O peróxido de hidrogênio também atua com uma chave reguladora de uma ampla variedade de processos fisiológicos, tais como a senescência, fotorespiração e fotossíntese, movimento estomático, ciclo celular, crescimento e desenvolvimento celular (BRIGHT et al., 2006; FOREMAN et al., 2003; MITTLER et al., 2004; QUAN et al., 2008). Por apresentar alta permeabilidade nas membranas celulares e por sua alta meia-vida, esta ERO está sendo aceito como um mensageiro de sinais no interior celular (QUAN et al., 2008). Para observar este último papel que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vem desempenhando, ZHANG et al. (2013) monitoraram o nível de peróxido de hidrogênio e outras moléculas sinalizadoras após a inoculação de fungos micorrizas arbusculares em raízes de trevo assim como sua relação com a síntese de fenólicos na planta. Os autores observaram que houve um acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e uma gradual diminuição do conteúdo deste peróxido com o crescimento da planta duas semanas após a inoculação com a micorriza. Porém, o peróxido de hidrogênio serviu como uma molécula sinalizadora para a síntese de fenilalanina amônia-liase, uma enzima antioxidante após a inoculação com o fungo micorriza.

O estresse induzido pela alimentação de insetos ou infecção de fungos patogênicos também proporciona a síntese de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, devido à explosão oxidativa ocasionada pela ação destes estressores e esta resposta pode ser local ou sistêmica. Esta explosão oxidativa, porém, pode ser utilizada pelo inseto ou fungos patogênicos para contornar o sistema de defesa da planta contra a herbivoria ou

patogenicidade, pois esta aumentará os níveis de enzimas oxidativas, como catalase ou ascorbato peroxidase, para diminuir o conteúdo de  $H_2O_2$  no interior da célula. O peróxido de hidrogênio também ativa a produção de proteínas quinases ou genes de defesa na planta (FÜRSTENBERG-HÄGG et al., 2013).

MORKUNAS et al. (2004) observaram que os níveis de  $H_2O_2$  e de radicais livres em embriões de tremço-amarelo (*Lupinus luteus* L. cv. Polo) após a inoculação com fungo necrotrófico *Fusarium oxysporum* foram aumentados em 15 a 24%. Este aumento ocorreu devido à infecção deste fitopatógeno e possibilitou a ativação do sistema de defesa da planta, com o aumento da atividade das enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase.

## RADICAIS HIDROXILA

Particularmente, o radical hidroxila ( $OH^\bullet$ ) é entre o mais reativo das EROs conhecidas. Na presença de metais de transição adequados, especialmente Fe,  $OH^\bullet$  também pode ser produzido a partir de  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  com pH neutro em temperatura ambiente. Estes  $OH^\bullet$  são pensados para ser em grande parte responsável por mediar a toxicidade de oxigênio *in vivo*. Radicais hidroxilas podem potencialmente reagir com todas as moléculas biológicas, como DNA, proteínas, lipídios, e quase qualquer constituinte de células e, devido à ausência de qualquer mecanismo enzimático para a eliminação desta ERO, o excesso de produção de  $OH^\bullet$  em última análise, leva à morte celular (VRANOVÁ et al., 2002; GILL & TUTEJA, 2010).

## ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Expor as plantas a estresses bióticos e abióticos pode aumentar a produção das espécies reativas de oxigênio, tais como  $^1O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  e  $OH^\bullet$ . Para sua própria proteção contra estes tóxicos intermediários de oxigênio, as células das plantas e suas organelas, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos empregam um sistema de defesa antioxidante. Os componentes deste sistema são enzimas e outras moléculas não enzimáticas como carotenoides, ácido ascórbico, vitamina E, flavonoides, prolina, glutathione, entre outras (DAVAR et al., 2013).

O sistema enzimático desempenha um papel importante na defesa da planta contra insetos, pois prejudica a absorção de nutrientes pelo organismo do animal através da formação de eletrólitos e inclui algumas enzimas tais como peroxidases, oxidases de polifenol, ascorbato peroxidase e outras peroxidases por oxidação de mono-ou dihydroxyphenols, que levam à formação de reativa o-quinonas, que por sua vez polimerizam ou formam adutos covalentes com os grupos nucleófilos de proteínas devido à sua natureza eletrofílica (BHONWONG et al., 2009, GULSEN et al., 2010). Outras enzimas antioxidantes importantes incluem lipoxigenases, fenilalanina amônia liase, superóxido dismutase, entre outras. Indução de enzimas antioxidantes em plantas devido à herbivoria tem recebido atenção considerável nos últimos anos (HENG-MOSS et al., 2004; CHEN et al., 2009; RANI & JYOTHSNA, 2010; VANDENBORRE et al., 2011; WAR et al., 2011a; WAR et al., 2011b).

Para fitopatógenos este sistema enzimático de defesa antioxidante tem limitado a propagação dos processos oxidativos permitindo que as células mantenham a sua viabilidade contra a penetração de fungos como, por exemplo, *Aphanomyces euteiches* e *Sclerotinia sclerotiorum* em tecidos vegetais (PELUFFO et al., 2010; DJEBALI et al. 2011).

## SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)

Superóxido dismutase é uma das enzimas antioxidantes intracelulares mais eficazes e presente em todos os organismos aeróbicos e compartimentos subcelulares propensos a uma explosão oxidativa devido a um estresse abiótico ou biótico. Esta enzima fornece a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados das espécies reativas de oxigênio (GILL & TUTEJA, 2010).

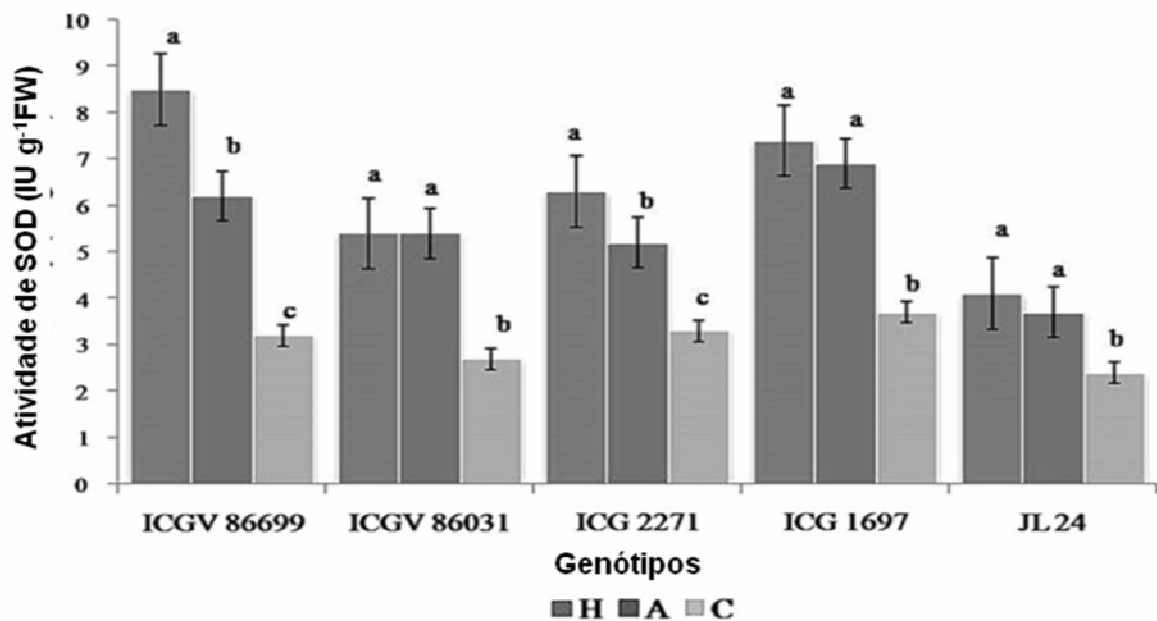
As SOD removem  $O_2^{\bullet-}$ , catalisando a sua dismutação, onde um  $O_2^{\bullet-}$  é reduzido a  $H_2O_2$  e outro oxidado a  $O_2$ . Ela remove  $O_2^{\bullet-}$  e, portanto, diminui o risco de formação de  $OH^{\bullet}$  no interior celular. As superóxidos dismutases são classificadas segundo os seus cofatores de metal em três tipos conhecidos: o cobre/zinco (Cu/Zn-SOD), o manganês (Mn-SOD) e o ferro (Fe-SOD), que estão localizados em diferentes compartimentos celulares (Tabela 2) (MITTLER, 2002; GILL & TUTEJA, 2010).

**TABELA 2.** Diferentes superóxido dismutase e sua localização nas organelas celulares.

SOD Izoenzimas	Localização	Resistente	Sensível
Fe-SOD	Cloroplastos	KCN	$H_2O_2$
Mn-SOD	Mitocôndrias e peroxissomos	KCN e $H_2O_2$	-
Cu/Zn-SOD	Cloroplastos e citosol	-	$H_2O_2$ e KCN

Fonte: GILL & TUTEJA, 2010.

WAR et al. (2013) estudaram a resposta de 5 genótipos de amendoim, com diferentes níveis de resistência submetidos ao ataque de insetos pragas e observaram que a infestação com *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) aumentaram a atividade de SOD em todos os genótipos avaliados (Figura 2). A indução foi altamente significativa em dois genótipos (ICGV 86699 e ICG 2271 – moderadamente resistente) infestados com *H. armigera* do que em plantas infestadas com *A. craccivora* e em plantas controle. A resposta das plantas infestadas com insetos mastigadores (*H. armigera*) foi maior do que nas plantas infestadas com insetos sugadores (*A. craccivora*). Os autores observaram que as plantas responderam de maneira similar ao tipo de alimentação dos insetos, embora o grau de resposta induzida variou entre os genótipos e entre os insetos. A baixa atividade enzimática em plantas infestadas com pulgões quando comparada com as outras plantas infestadas com lagartas de *H. armigera* pode ser devido ao maior dano tecidual em folhas provocada por este grupo de insetos. No entanto, as respostas defensivas induzidas por *A. craccivora* poderiam ser devido aos danos causados pelo tipo característico do aparelho bucal (estilete) e os elicitores em suas secreções orais. Segundo estes autores, há uma necessidade de mais estudos sobre as respostas das plantas para os diferentes tipos de insetos herbívoros para obter uma melhor compreensão de transdução de sinal, coevolução entre plantas e insetos, e os mecanismos de resistência de plantas a insetos e usar essa informação para a proteção das culturas e produção agrícola sustentável.



**FIGURA 2.** Atividade de superóxido dismutase (IU g<sup>-1</sup>FW) de genótipos de amendoim infestados com *H. armigera* (H) e *A. craccivora* (A). Barras com as mesmas letras não são diferentes estatisticamente (P<0.05). (C) plantas não infestadas. (FW) peso fresco de tecido foliar. Adaptado de War et al., 2013.

EHSANI-MOGHADDAM et al. (2006) caracterizaram o envolvimento de SOD durante infecção do fungo *Mycosphaerella fragariae*, fitopatógeno que provoca a doença conhecida como mancha de micosferela em três cultivares de morango e observaram que o nível da concentração desta enzima antioxidante no segundo dia após a inoculação foi elevada em todas as plantas em resposta ao ataque do fitopatógeno em comparação com os respectivos controles. Assim, os autores concluíram que o aumento no nível de produção de SOD em plantas de morangueiro depende do nível da produção de ânion superóxido e esta por sua vez, foi um resultado da infecção por *M. fragaria* e que as mais altas concentrações do total de SOD foram nos materiais resistentes, o poderia ser explicada como uma estratégia da planta para restringir o desenvolvimento do fungo pela ação desta enzima antioxidante.

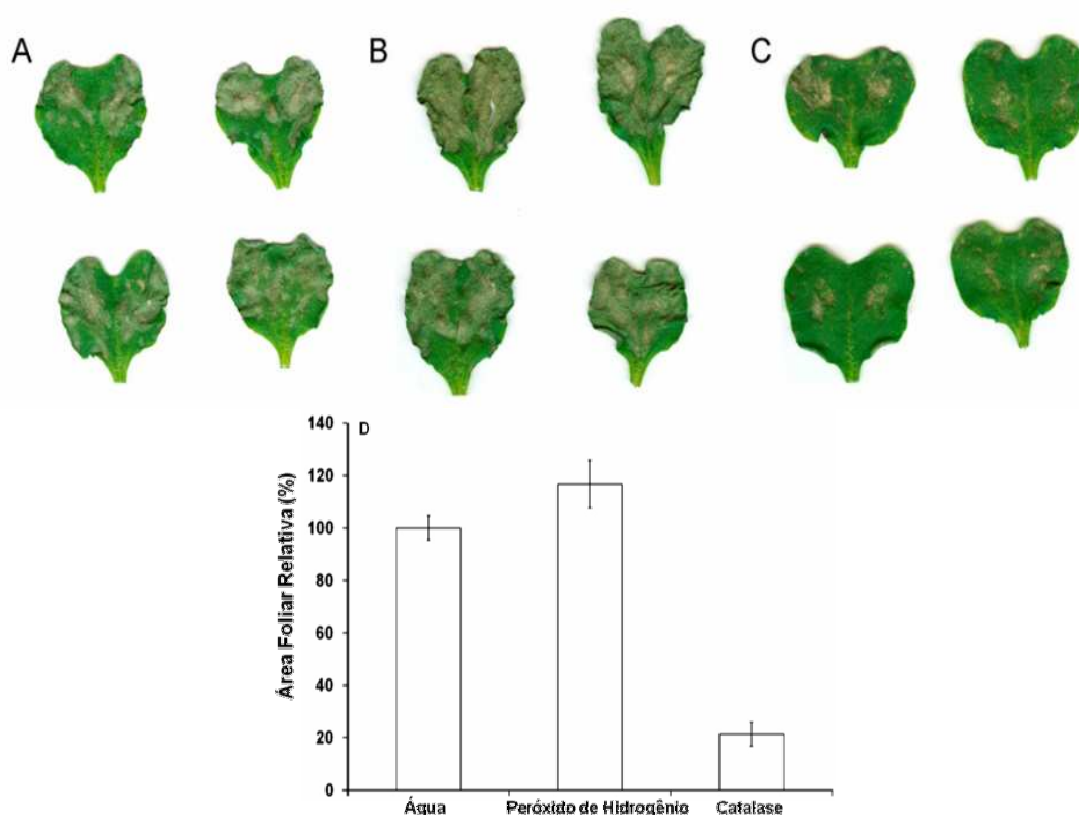
#### CATALASE (CAT)

São enzimas indispensáveis para desintoxicação das células das plantas em condições de stress, pois elas são responsáveis pela dismutação direta de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>, removendo este peróxido gerado nos peroxissomos por oxidases envolvidos na  $\alpha$ -oxidação de ácidos graxos, fotorespiração e catabolismo de purinas (GILL & TUTEJA, 2010). Níveis elevados de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são tóxicos para a planta, enquanto que a concentrações mais baixas desempenha um papel muito importante na transdução de sinal nas plantas atacadas e nos seus estressores bióticos, como fungos e insetos (PRASAD et al, 1994).

Esta enzima é a principal via de degradação H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e, portanto, a inibição da atividade de catalase resulta na ativação da resistência sistêmica adquirida. Este sistema é ativado quando as plantas são atacadas, principalmente, por fungos

fitopatogênicos no qual o seu crescimento é inibido na área infectada (GAYATRIDEVI et al., 2012).

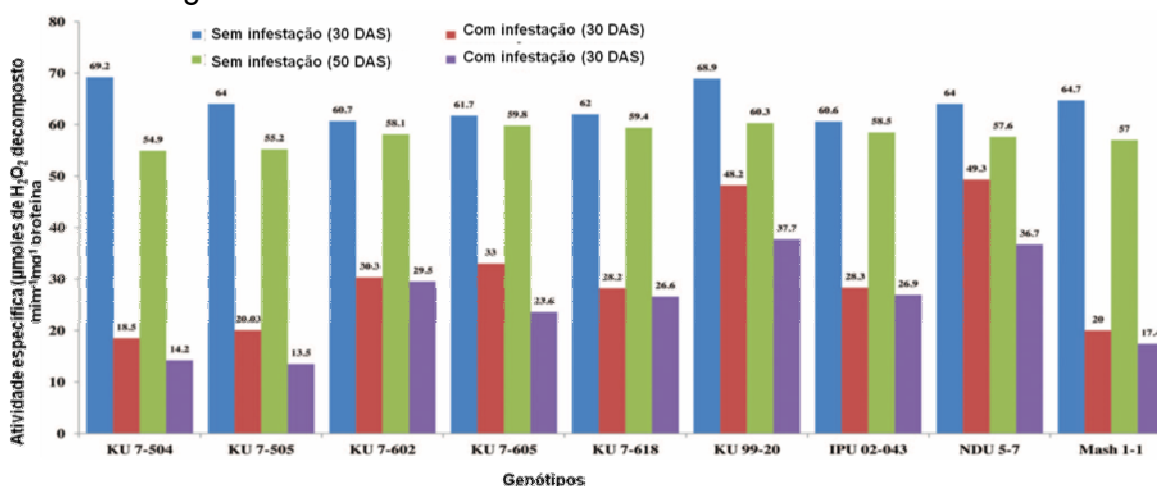
JINDĀCHOVÁ et al. (2011) investigaram o papel do peróxido de hidrogênio e sua interação com folhas de colza (*Brassica napus* L.) e o fungo hemibiotrófico *Leptosphaeria maculans* na atividade de catalase e outras enzimas antioxidantes. Os autores observaram que quando eles manipulavam o conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e catalase nos cotilédones de colza houve a formação de necroses típicas da infecção do fungo *L. maculans* a partir de 10 dias após a inoculação (DAI) nas plantas controle infiltradas com água ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A aplicação da enzima catalase prolongou o período assintomático até 9 DAI e diminuiu significativamente o desenvolvimento da necrose de 20% em comparação com as plantas controle (Figura 3) e que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> infiltrado não impediu o crescimento do fungo e o desenvolvimento da lesão.



**FIGURA 3.** Efeito de peróxido de hidrogênio e catalase no desenvolvimento dos sintomas de infecção do fungo *Leptosphaeria maculans*. (A) Lesões foliares em *B. napus* após infiltração com água, (B) 4 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e (C) 2000 U/ml de catalase. A área foliar foi quantificada (D) usando o software APS Assess 2.0. Adaptado de Jindāchová et al. (2011).

TAGGAR et al. (2012) investigaram a atividade das enzimas antioxidantes de materiais resistentes e suscetíveis de feijão-mungo (*Vigna mungo*(L.) Hepper) após a alimentação de mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius, Hemiptera: Aleyrodidae). Os autores não observaram diferenças significativas entre os genótipos avaliados, porém os materiais resistentes (NDU 5-7 e KU 99-7) apresentaram uma alta atividade de catalase quando foram submetidos à infestação

de mosca-branca (Figura 4). A capacidade dos genótipos resistentes em aumentar a atividade de catalase sugere que estes materiais apresentam uma capacidade de regulação positiva mais elevada para as enzimas de defesa. Neste sentido, a catalase pode funcionar em conjunto com outras enzimas antioxidantes para eliminar os danos dos radicais livres induzidos pela alimentação de mosca-branca, e conferindo assim, resistência para estas plantas pela ação de defesa anti-nutritivas e/ou toxicológicas contra insetos herbívoros.



**FIGURA 4.** Atividade específica de catalase em folhas de *V. mungo* influenciada pela alimentação de mosca-branca *B. tabaci*. Adaptado de TAGGAR et al., 2012.

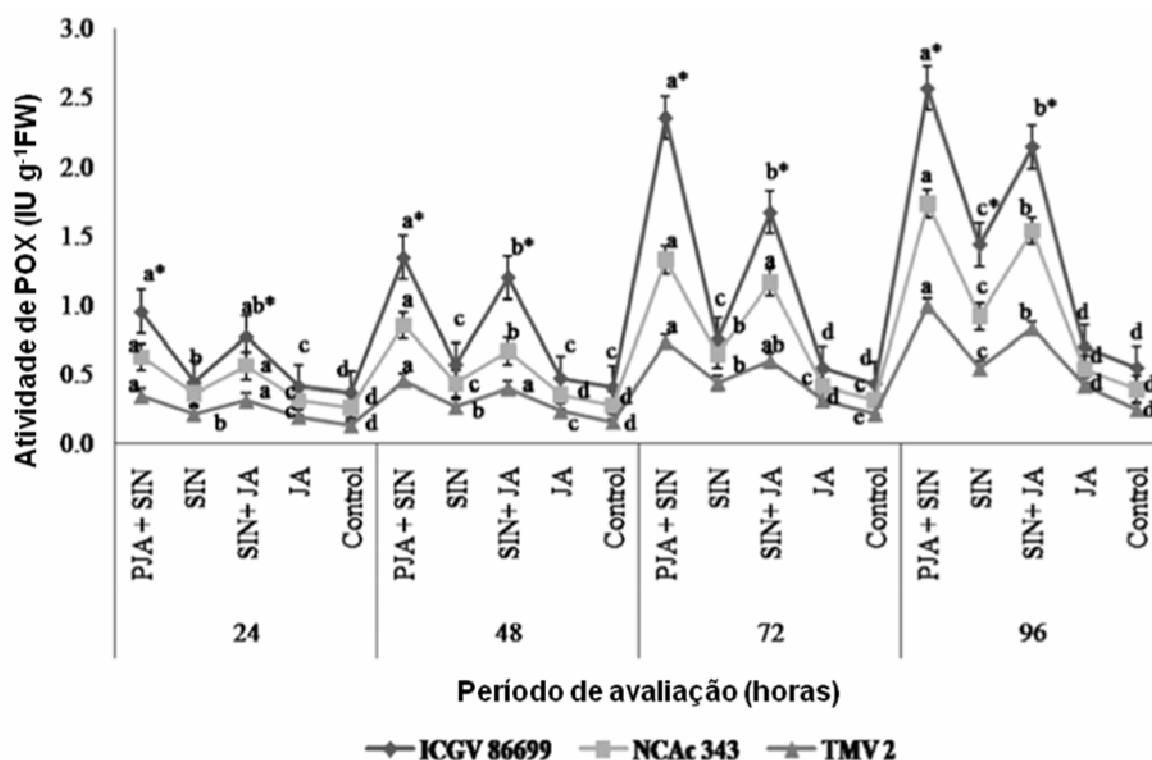
#### PEROXIDASE (POX)

A peroxidase é uma classe de enzimas presente em tecidos de animais, plantas e microorganismos, que cataliza a oxidação-redução entre  $H_2O_2$  e vários redutores, participa de uma ampla variedade de processos fisiológicos nas plantas, tais como a lignificação, suberização, formação e reticulação de componentes da parede celular, catabolismo de auxinas, senescência, proteção contra ataque de patógenos, insetos e estressores abióticos. Ela é dividida em três superfamílias (Classe III), baseada na sua estrutura e propriedades catalíticas. Esta enzima é relativamente estável em alta temperatura e atualmente vem sendo usada como um modelo em estudos de estrutura protéica, reações e funções enzimáticas e tem sido relacionada em uma infinidade de processos de desenvolvimento de defesa da planta em respostas a estresses bióticos e abióticos (HIRAGA et al., 2001; ALMAGRO et al., 2009; GULSEN et al., 2010; WAR et al., 2012).

Esta enzima é codificada por uma larga família de multigenes em plantas. Mais de 100 etiquetas de sequências expressas ou *ESTs* (*Expressed Sequence Tags*) codificando diferentes isoenzimas de POX foram encontradas em plantas de *Arabidopsis thaliana* (ØSTERGAARD et al., 2000). A atividade de peroxidase e/ou expressão de genes tem sido demonstrado que pode ser induzida por diferentes tipos de patógenos, incluindo fungos, bactérias e vírus (SASAKI et al., 2004; WANG et al., 2013; LAVANIA et al., 2006; HIRAGA et al., 2000; BABU et al., 2008). Estes estudos reforçam a hipótese que a classe III tem um importante papel na defesa de plantas e que pode servir como marcadores enzimáticos em resposta a estressores bióticos (SAATHOFF et al., 2013).

HURA et al. (2013) analisando a resposta bioquímica de plântulas de colza após inoculação de esporos do fungo *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans*) observaram que houve aumento na atividade de peroxidase somente 72 horas após a inoculação e que este aumento ocorreu em resposta a alta produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que ativou o sistema de defesa da planta, devido ao ataque do estressor biótico.

A herbivoria também tem sido ligada a mudanças de EROs intracelular e na atividade de peroxidase em plantas e o maior grupo de insetos estudado corresponde aos hemípteros (HIRAGA et al., 2001; NI et al., 2001; HENG-MOSS et al., 2004; PASSARDI et al., 2005; Torres, 2010; O'Brien et al., 2012; War et al., 2012). Trabalhando com outro grupo de inseto, War et al. (2011b) analisaram a atividade de peroxidase de três genótipos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) em resposta a alimentação de *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae) e os autores observaram que houve um aumento na atividade desta enzima 96 horas após a infestação (Figura 5). Esta ativação do sistema enzimático desempenha um importante e dinâmico papel na defesa da planta contra ataque de insetos pragas, pois este atuar como deterrente alimentar para estes animais e favorece a produção de toxinas que reduzem a digestibilidade do tecido vegetal liderando drásticos efeitos no crescimento e desenvolvimento dos insetos (GULSEN et al., 2010).



**FIGURA 5.** Atividade de peroxidase (IU g<sup>-1</sup>FW) em três genótipos de amendoim após a infestação com *S. litura* e aplicação de ácido Jasmônico (AJ). PJA + SIN: pré-tratamento com ácido jasmônico e infestação com *S. litura*; SIN: infestação com *S. litura*; SIN + JA: infestação com *S. litura* + ácido jasmônico pulverizado; JA: ácido jasmônico pulverizado; Control: planta não tratada com ácido jasmônico ou infestada com lagartas de *S. litura*. Adaptado de War et al, 2011b.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando a planta sofre algum dano devido a estressores bióticos, como insetos herbívoros e fungos fitopatogênicos, elas de imediato acionam seu mecanismo de defesa, com a indução de moléculas de sinalização que irão ativar genes relacionados com a defesa vegetal. As enzimas antioxidantes irão atuar eliminando algumas espécies reativas de oxigênio que são formadas, principalmente, em resposta ao ataque de insetos ou fitopatógenos. Porém estas enzimas desempenham outros papéis de defesa nos vegetais, como por exemplo, lignificação e formação de componentes da parede celular. Embora nos últimos anos uma grande quantidade de trabalhos tenha desvendado o papel destas enzimas nas vias de defesa vegetal, é cada vez mais evidente que estas se encontram interligadas com outras vias. Pesquisas futuras estão sendo feitas de modo a elucidar quais são os genes que codificam estas moléculas na planta. Assim, esta informação poderá ser usada para compreender a transdução de sinal, coevolução entre plantas e estressores bióticos e os mecanismos de resistência de plantas a insetos e a doenças, usando essa informação para a proteção da cultura e produção agrícola sustentável.

## REFERÊNCIAS

- ALMAGRO, L.; GÓMEZ-ROS, L. V.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; ROS-BARCELO, A.; PEDREÑO, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 377-390, 2009.
- BABU, M., GRIFFITHS, J. S., HUANG, T., WANG, A. Altered gene expression changes in *Arabidopsis* leaf tissues and protoplasts in response to *Plum pox virus* infection. **BMC Genomics**, v. 9, p. 1-21, 2008.
- BARTOSZ, G. Oxidative stress in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 19, p. 47-64, 1997.
- BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. **Current Science**, v. 89, p. 1113-1121, 2005
- BHATTACHARJEE, S. The Language of Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Journal of Botany**, 2012. doi:10.1155/2012/985298.
- BHONWONG, A.; STOUT, M. J.; ATTAJARUSIT, J.; TANTASAWAT, P. Defensive role of tomato polyphenol oxidase against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 28-38, 2009.
- BI, J. L.; FELTON, G. W. Foliar oxidative stress and insect herbivory: primary compounds, secondary metabolites, and reactive oxygen species as components of induced resistance. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 1511-1530, 1995.
- BRIGHT, J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T.; WEIR, I. S.; NEILL, S. J. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> synthesis. **The Plant Journal**, v. 45, p. 113-122, 2006.

CHEN, Y.; NI, X.; BUNTIN, G. D. Physiological, nutritional and biochemical bases of corn resistance to foliage-feeding fall armyworm. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 297-306, 2009.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p. 813-824, 2007.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v.68, p. 821-829, 2013.

DJÉBALI, N.; MHADHBI, H.; LAFITTE, C.; DUMAS, B.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M. T.; AOUANI, M. E.; JACQUET, C. Hydrogen peroxide scavenging mechanisms are components of *Medicago truncatula* partial resistance to *Aphanomyces euteiches*. **European Journal Plant Pathology**, v.131, p. 559-571, 2011.

EHSANI-MOGHADDAM, B.; CHARLES, M. T.; CARISSE, O.; KHANIZADEH, S. Superoxide dismutase responses of strawberry cultivars to infection by *Mycosphaerella fragariae*. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, p. 147-153, 2006.

FELTON, G. W.; BI, J. L.; SUMMERS, C. B.; MUELLER, A. J.; DUFFEY, S. S. Potential role of lipoxygenases in defense against insect herbivory. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, p. 651-666, 1994a.

FOREMAN, J.; DEMIDCHIK, V.; BOTHWELL, J. H.; MYLONA, P.; MIEDEMA, H.; TORRES, M. A.; LINSTED, P.; COSTA, S.; BROWNLEE, C.; JONES, J. D.; DAVIES, J. M.; DOLAN, L. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth, **Nature**, v. 422, p. 442-446, 2003.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 10242-10297, 2013.

GAYATRIDEVI, S.; JAYALAKSHMI, S. K.; SREERAMULU, K. Salicylic acid is a modulator of catalase isozymes in chickpea plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 52, p. 154-161, 2012.

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

GOGGIN, F. L. Plant-aphid interactions: molecular and ecological perspectives. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, p. 399-408, 2007.

GOLAN, K.; RUBINOWSKA, K.; GÓRSKA-DRABIK, E. Physiological and biochemical responses of fern *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott. to *Coccus hesperidum* L. infestation. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 55, p. 93-98, 2013.

GULSEN, O.; EICKHOFF, T.; HENG-MOSS, T.; SHEARMAN, R.; BAXENDALE, F.; SARATH, G.; LEE, D. Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm-season turf grasses challenged by *Blissus occiduus*. **Arthropod Plant Interact**, v. 4, p. 45-55, 2010.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312-322, 2006.

HENG-MOSS, T.; SARATH, G.; BAXENDALE, F. P.; NOVAK, D.; BOSE, S.; NI, X.; QUISENBERRY, S. Characterization of oxidative enzyme changes in buffalograsses challenged by *Blissus occiduus*. **Journal Economic Entomology**, v. 97, p. 1086-1095, 2004.

HILDEBRAND, D. F.; RODRIGUEZ, J. G.; BROWN, G. C.; LUU, K. T.; VOLDEN, C. S. Peroxidative responses of leaves in two soybean genotypes injured by two-spotted spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal Economic Entomology**, v. 79, p.1459-1465, 1986.

HIRAGA, S.; ITO, H.; YAMAKAWA, H.; OHTSUBO, N.; SEO, S.; MITSUHARA, I.; MATSUI, H.; HONMA, M.; OHASHI, Y. An HR-induced tobacco peroxidase gene is responsive to spermine, but not to salicylate, methyl jasmonate, and ethephon. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 13, p. 210-216, 2000.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; HIROYUKI, I.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidase. **Plant Cell Physiology**, v. 42, p. 462-468, 2001.

HU, Z.; SHEN, Y.; SHEN, F.; SU, X. Effects of feeding *Clostera anachoreta* on hydrogen peroxide accumulation and activities of peroxidase, catalase, and ascorbate peroxidase in *Populus simonii* x *P. pyramidalis* 'Opera 8277' leaves. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, p. 995-1002, 2009.

HURA, K.; HURA, T.; BAÇZEK-KWINTA, R.; GRZESIAK, M.; PŁAŻEK, A. Induction of defense mechanisms in seedlings of oilseed winter rape inoculated with *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans*). **Phytoparasitica**, 2013. (doi 10.1007/s 12600-013-0344-7).

JINDŘICHOVÁ, B.; FODOR J.; SINDELÁROVÁ, M.; BURKETOVÁ, L.; VALENTOVÁ, O. Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, p.149 -156, 2011.

KHAN, A. U., WILSON, T. Reactive oxygen species as cellular messengers. **Chemistry & Biology**, v. 2, p. 437-445, 1995.

LAVANIA, M., CHAUHAN, P. S., CHAUHAN, S., SINGH, H. B., AND NAUTIYAL, C. S. Induction of plant defense enzymes and phenolics by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria *Serratia marcescens* NBRI1213. **Current Microbiology**, v. 52, p.363-368, 2006.

ŁUKASIK, I.; GOŁAWSKA, S.; WÓJCICKA, A. Effect of cereal aphid infestation on ascorbate content and ascorbate peroxidase activity in triticale. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 21, p. 1937-1941, 2012.

MAI, V. C.; BEDNARSKI, W.; BOROWIAK-SOBKOWIAK B.; WILKANIEC, B.; SAMARDAKIEWICZ, S.; MORKUNAS, I. Oxidative stress in pea seedling leaves in response to *Acyrtosiphon pisum* infestation. **Phytochemistry**, v. 93, p. 49-62, 2013.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; BREUSEGEM, F. V. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 490-498, 2004.

MORKUNAS, I.; BEDNARSKI, W.; KOZŁOWSKA, M. Response of embryo axes of germinating seeds of yellow lupine to *Fusarium oxysporum*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 493-499, 2004.

NI, X.; QUISENBERRY, S. S.; HENG-MOSS, T.; MARKWELL, J.; SARATH, G.; KLUCAS, R.; BAXENDALE, F. Oxidative responses of resistant and susceptible cereal leaves to symptomatic and non-symptomatic cereal aphid (Hemiptera: Aphididae) feeding. **Journal Economic Entomology**, v. 94, p. 743-751, 2001.

O'BRIEN, J. A.; DAUDI, A.; BUTT, V. S.; BOLWELL, G. P. Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. **Planta**, v. 236, p. 765-779, 2012.

ØSTERGAARD, L.; TEILUM, K.; MIRZA, O.; MATTSSON, O.; PETERSEN, M.; WELINDER, K. G.; MUNDY, J.; GAJHEDE, M.; HENRIKSEN, A. *Arabidopsis* ATP A2 peroxidase. Expression and high-resolution structure of a plant peroxidase with implications for lignification. **Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 231-243, 2000.

PARANIDHARAN, V.; PALANISWAMI, A.; VIDHYASEKARAN, P.; VELAZHAHAN, R. Induction of enzymatic scavengers of active oxygen species in rice in response to infection by *Rhizoctonia solani*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 25, p. 91-96, 2003.

PASSARDI, F.; COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. **Plant Cell Reports**, v. 24, p. 255-265, 2005.

PELUFFO, L.; LIA, V.; TROGLIA, C.; MARINGOLO, C.; NORMA, P.; ESCANDE, A.; HOPP, H. E.; LYTOVCHENKO, A.; FERNIE, A. R.; HEINZ, R.; CARRARI, F. Metabolic profiles of sunflower genotypes with contrasting response to *Sclerotinia sclerotiorum* infection. **Phytochemistry**, v. 71, p. 70-80, 2010.

PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; MARTIN, B. A.; STEWART, C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **The Plant Cell**, v. 6, p. 65-74, 1994.

QUAN, L. J.; ZHANG, B.; SHI, W. W.; LI, H. Y. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, p. 2-18, 2008.

RANI, P. U.; JYOTHSNA, Y. Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 695-701, 2010.

RANI, P. U.; PRATYUSHA, S. Defensive role of *Gossypium hirsutum* L. anti-oxidative enzymes and phenolic acids in response to *Spodoptera litura* F. feeding. **Journal of Asia Pacific Entomology**, v. 16, p. 131-136, 2013.

SAATHOFF, A. J.; DONZE, T.; PALMER, N. A.; BRADSHAW, J.; HENG-MOSS, T.; TWIGG, P.; TOBIAS, C. M.; LAGRIMINI, M.; SARATH, G. Towards uncovering the roles of switchgrass peroxidases in plant processes. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-12, 2013.

SASAKI, K.; IWAI, T.; HIRAGA, S.; KURODA, K.; SEO, S.; MITSUHARA, I.; MIYASAKA, A.; IWANO, M.; ITO, H.; MATSUI, H.; OHASHI, Y. Ten rice peroxidases redundantly respond to multiple stresses including infection with rice blast fungus. **Plant Cell Physiology**, v. 45, p.1442-1452, 2004.

SINGH, H.; DIXIT, S.; VERMA, P. C.; SINGH P. K. Differential peroxidase activities in three different crops upon insect feeding. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, e. 25615-1 – e. 25615-7, 2013.

TAGGAR, G. K.; GILL, R. S.; GUPTA, A. K.; SANDHU, J. S. Fluctuations in peroxidase and catalase activities of resistant and susceptible black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) genotypes elicited by *Bemisia tabaci* (Gennadius) feeding. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, p. 1321-1329, 2012.

TORRES, M. A. ROS in biotic interactions. **Physiologia Plantarum**, v. 138, p. 414-429, 2010.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME, E. J. M. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**, v. 72; p. 1538-1550, 2011.

VRANOVÁ, E.; ATICHARTPONGKUL, S.; VILLARROEL, R.; MONTAGU, M. V.; DIRK INZÉ, D.; Camp, W. V. Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum* leaves acclimated to oxidative stress. **PNAS**, v. 99, p. 10870-10875, 2002.

WANG, J.; LIU, K.; LI, D.; ZHANG, Y.; ZHAO, Q. A novel peroxidase *CanPOD* gene of pepper is involved in defense responses to *Phytophthora capsici* infection as well as abiotic stress tolerance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 3158-3177, 2013.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; WAR, M. Y.; IGNACIMUTHU, S. Jasmonic acid-

mediated-induced resistance in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, p. 512-523, 2011a.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; WAR, M. Y.; IGNACIMUTHU, S. Herbivore- and elicitor-induced resistance in groundnut to asian armyworm, *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, p. 1787-1792, 2011b.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, p. 1306-1320, 2012.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA H. C. Defensive responses in groundnut against chewing and sap-sucking insects. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, p. 259-272, 2013.

ZHANG, R. Q.; ZHU, H. H.; ZHAO, H. Q.; YAO, Q. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 74-79, 2013.

ZHAO, J.; DAVIS, L. C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 283-333, 2005.