



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0815421-0 B1

(22) Data do Depósito: 14/08/2008

(45) Data de Concessão: 11/04/2017



(54) Título: MÉTODOS DE INICIALIZAÇÃO E DE AUMENTO DE RESISTÊNCIA A UM PATÓGENO DE PLANTA

(51) Int.Cl.: A01N 31/02; A01P 21/00

(52) CPC: A01N 31/02

(30) Prioridade Unionista: 16/08/2007 US 60/956,301

(73) Titular(es): THE UNIVERSITY OF CHICAGO. UT-BATTELLE, LLC

(72) Inventor(es): JEANT T. GREENBERG; HO WON JUNG; TIMOTHY TSCHAPLINSKI

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODOS DE INICIALIZAÇÃO E DE AUMENTO DE RESISTÊNCIA A UM PATÓGENO DE PLANTA"**.

O presente pedido reivindica prioridade do pedido de patente provisório U.S. N^o de Série 60/956.301 depositado em 16 de agosto de 2007, cujos teores são aqui incorporados a título de referência em sua totalidade.

O Governo dos Estados Unidos tem direitos na presente invenção com relação ao Contrato Número DE-AC05-00OR22725 entre o Departamento de Energia dos Estados Unidos e UT-Battelle, LLC e também com relação ao Contrato Número IOB-0450207 concedido pela U.S. National Science Foundation.

ANTECEDENTES

Ácido azelaico, derivados e análogos do mesmo aumentam a resistência a patógenos de planta e preparam as plantas para resistirem à infecção por patógeno.

As plantas ativam ambas as defesas local e sistêmica contra muitos patógenos (virulentos, avirulentos e não-hospedeiros) em resposta que envolvem a indução de centenas de genes. Então, as plantas fazem um investimento substancial em respostas de defesa que ajudam a limitar o crescimento de patógenos. Respostas de planta a muitos patógenos são frequentemente categorizadas ou como compatíveis ou incompatíveis, com base no grau de doença. Nesses dois extremos, o patógeno tipicamente ou cresce e causa sintomas de doença extensivos (o caso compatível) ou é relativamente restrito em sua replicação (o caso incompatível). No caso de respostas incompatíveis (também chamadas "respostas de resistência"), sinalização é iniciada pela percepção de proteínas de Avirulência derivadas de patógeno (Avr) que interagem diretamente ou indiretamente com proteínas R e planta cognata. Mesmo em interações compatíveis, é agora claro que a planta pode frequentemente montar uma resposta de defesa que é parcialmente eficaz em limitar o patógeno. Perfil de expressão global após infecção por patógeno sugere que as respostas compatíveis e incompatíveis afetam muito os mesmos conjuntos de genes-alvos, embora a velocidade e o grau

ao qual eles são induzidos sejam menores no caso compatível. Um subconjunto desses genes-alvos é provavelmente induzido porque ele codifica proteínas reguladoras importantes que participam diretamente em cascatas de tradução de sinal ou geram intermediários de transdução de sinal. Compreensão de como esses genes reguladores são ativados sob condições diferentes pode dar *insight* significativa sobre fluxo de sinal através de circuitos reguladores.

A indução de síntese de ácido salicílico (SA) é requerida para conferir resistência a uma variedade de patógenos compatíveis e incompatíveis. Vários mutantes com acúmulo ou transdução de sinal de SA reduzido também mostram susceptibilidade aumentada a patógenos tal como *Pseudomonas syringae*, um patógeno extracelular gram-negativo.

Em adição a ser importante para respostas de defesa local, SA tem estado implicado em uma resposta adaptativa de planta inteira a patógenos chamada resistência adquirida sistêmica (SAR). Após infecção com um patógeno avirulento, SA acumula no tecido não-infectado sistêmico. Este tecido sistêmico mostra resistência aumentada a muitos patógenos que de outro modo seriam altamente virulentos. Plantas que não podem acumular ou perceber níveis aumentados de SA em tecidos sistêmicos não desenvolvem SAR. No entanto, SA é imaginado não ser o sinal de defesa móvel-chave em SAR e como ainda sinais não identificados gerados durante a resposta de defesa podem também desempenhar um papel no estabelecimento de SAR. Encontro da identidade e propriedades dessas moléculas de sinal não-identificadas é importante, uma vez que essas são sinais ou intermediários de sinal de defesa potenciais.

SUMÁRIO

Ácido azelaico e seus derivados ou análogos preparam as plantas para ativarem sua resposta de resistência contra um ataque de patógeno. O ácido azelaico e seus derivados induzem uma resposta de defesa de planta antes do ataque de patógeno na ausência de expressão de ativação da maioria dos genes relacionados à defesa.

Um método de aumento da resistência a um patógeno em uma

planta inclui:

(a) obtenção de uma composição incluindo uma quantidade eficaz de ácido azelaico ou um análogo ou derivado do mesmo; e

(b) contato de um componente de planta com a composição para
5 aumentar a resistência ao patógeno na planta.

Um componente de planta adequado é selecionado de um grupo que inclui folhas, raízes, caules, frutas, flores e sementes.

Um derivado de ácido azelaico adequado é geralmente solúvel em água. Exemplos de derivados de ácido azelaico incluem azelato de sódio, azelato de potássio e ésteres de ácido azelaico.
10

Um método para iniciar uma planta para induzir seu mecanismo de defesa contra um patógeno inclui:

(a) obtenção de uma composição incluindo ácido azelaico ou um análogo ou um derivado do mesmo; e

(b) contato da planta com a composição para iniciar uma planta
15 para induzir seu mecanismo de defesa em resposta a um ataque de patógeno.

Um método de proteção de uma planta contra uma infecção por patógeno inclui:

(a) provisão de uma composição incluindo ácido azelaico ou um análogo ou derivado do mesmo; e
20

(b) exposição da planta à composição para proteger a planta contra a infecção por patógeno.

Alguns exemplos de patógenos de planta incluem patógenos de
25 planta bacterianos, fúngicos, oomiceto e virais. Plantas adequadas para tratamento conforme aqui descrito incluem monocotiledôneas e dicotiledôneas. Por exemplo, uma planta monocotiledônea é uma planta de cultura. Uma planta adequada é também uma planta ornamental.

A concentração de ácido azelaico em uma composição pode
30 incluir uma faixa de cerca de 0,01 mM a 10 mM e quaisquer concentrações intervenientes tais como 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM e 5 mM. Se ácido azelaico for misturado com um ou mais de outros componentes de indução

de defesa, a concentração de ácido azelaico pode ser menor. O ácido azelaico ou seu derivado, incluindo análogos, é pulverizado sobre uma folhagem de planta. A composição pode também ser absorvida através das raízes da planta. A composição é geralmente administrada na presença de luz.

5 As composições reveladas aqui podem ser também administradas como uma combinação com um nutriente de planta. A composição pode ser administrada antes do ataque de um patógeno ou durante o ataque de um patógeno.

 As composições podem também incluir um componente para
10 induzir mecanismos de defesa que dependem de etileno ou ácido jasmônico.

 Um método de indução de resistência à doença em uma planta inclui:

 (a) pré-tratamento da planta com uma concentração eficaz de uma composição consistindo essencialmente em ácido azelaico e qualquer
15 outro componente que não afete materialmente o funcionamento do ácido azelaico;

 (b) indução de resistência à doença em plantas ao iniciar a resposta de defesa da planta contra um patógeno.

 Um método de indução de resposta de resistência adquirida sistêmica em uma planta inclui:
20

 (a) aplicação de uma composição incluindo ácido azelaico ou um análogo ou um derivado do mesmo a uma ou mais partes da planta; e

 (b) indução de uma resposta de resistência sistêmica na planta toda contra um patógeno.

25 Um método de iniciar planta contra uma infecção por patógeno inclui:

 (a) contato da planta com uma composição incluindo um componente de um exsudato de planta, onde a composição não induz significativamente proteína relacionada à patogênese 1 (PR-1); e

30 (b) inicialização da planta contra a infecção por patógeno.

 Um método de indução de resistência a patógeno em uma planta inclui:

(a) contato da planta com uma composição incluindo ácido azelaico ou um derivado do mesmo;

(b) contato da planta com um agente que ativa uma ou mais respostas de defesa de planta; e

5 (c) indução de resistência a patógeno na planta.

Um agente adequado que pode ser usado junto com ácido azelaico ou seu derivado inclui, por exemplo, agonistas de ácido salicílico, espécies oxigênio reativas, benzotiazol, ácido jasmônico e etileno.

10 Uma composição de indução de defesa de planta inclui uma quantidade eficaz de ácido azelaico ou um derivado do mesmo e um nutriente de planta.

Uma composição de promoção de crescimento de planta inclui uma quantidade eficaz de ácido azelaico ou um derivado do mesmo e um nutriente de planta.

15 BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A FIGURA 1 demonstra que exsudatos de petíolo de plantas infectadas por patógeno têm compostos de sinalização que induzem resistência à doença e marcadores de defesa em plantas de Col *Arabidopsis*. (A) Níveis de expressão de *PR1* em folhas de Col do tipo selvagem em 2 dias após tratamentos com 0,25 ml de EDTA e exsudatos de petíolo de Col tratadas com simulação (Col-Mex) e de *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* carregando Col inoculada com *avrRpt2* (Col-Pex). *AtEF1-α* foi usada como um controle interno para a quantidade de mRNA. (B) Crescimento bacteriano reduzido em folhas de Col pré-tratadas com inoculação com seringa com exsudatos de petíolo induzidos por patógeno (Col-Pex). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,001$, teste t, $n=6$). (C) Expressão de gene relativa em folhas de Col em 2 dias após infiltração de exsudatos diferentes que foram coletados em vários momentos após inoculação de patógeno. O número de asteriscos indica amostras que eram diferentes umas das outras no nível dado de significância estatística (** $p < 0,01$). EDTA 0,25 mM foi aplicado como um controle (M).

20

25

30

A FIGURA 2 ilustra que alguns mutantes de defesa mostram in-

dução de gene relacionado à defesa atenuada e/ou resistência a patógeno induzida por exsudatos de Col-Pex. (A) Expressão de gene relacionado à defesa relativa em folhas de (Col) do tipo selvagem (WT) e plantas mutantes em 2 dias após tratamento de exsudatos ativos. (B) Crescimento de *PmaDG3* linhagem *Pseudomonas syringae* pv *maculicola* em folhas de Col do tipo selvagem e plantas mutantes tratadas com Col-Mex (barras brancas) e Col-Pex (barras com linha). *PmaDG3* (OD600=0,0001) foi infiltrada em folhas em 2 dias após pré-tratamento de exsudatos. O crescimento de bactérias foi medida no dia 3 após inoculação. O número de asteriscos indica amostras que eram diferentes umas das outras em um dado nível de significância estatística (* $p < 0,05$, ** $p < 0,005$).

A FIGURA 3 demonstra que o componente do exsudato petíolo ácido azelaico induz resistência da planta contra infecção por *PmaDG3*. (A) Resposta de resistências local e sistêmica pelo tratamento com ácido azelaico contra infecções por *PmaDG3* virulenta. Folhas locais ou sistêmicas de plantas de 21~23 dias de vida fora tratadas com MES 5 mM (pH 5,6) (barras pretas) ou ácido azelaico 1 mM em MES 5 mM (pH 5,6, barras brancas) 2 dias antes da provocação com a linhagem de *PmaDG3* virulenta (OD600=0,0001). MES e ácido azelaico foram introduzidos em folhas através de infiltração por seringa. Ácido azelaico induziu uma redução significativa nos sintomas da doença de folhas locais e sistêmicas e uma redução em crescimento de patógeno. (B) Crescimento de linhagens avirulentas de *PmaDG6* (*pmaDG3* carregando *avrRpt2*) e *PmaDG34* (*PmaDG3* carregando *avrRpm1*) em folhas de Col pré-tratadas com MES 5 mM (barras pretas) ou ácido azelaico 1mM em MES 5 mM (pH 5,6, barras brancas). (C) Plantas de vinte e três dias de vida foram pré-tratadas com 1, 10, 100 e 1000 μ M de ácido azelaico em MES 5 mM ou MES 5 mM por 2 dias e então submetidas à infecção com *PmaDG3* virulenta a OD600=0,0001. Os tratamentos com ácido azelaico 100 e 1000 μ M resultaram em redução significativa do crescimento de bactérias sob as condições testadas. (D) As plantas foram tratadas com MES 5 mM ou ácido azelaico 1 mM durante os tempos indicados antes da inoculação com *PmaDG3* virulenta. Inoculações com *PmaDG3* fo-

ram realizadas entre o meio-dia e uma da tarde. Ácido azelaico (Aza) em MES 5 mM foi aplicado a plantas usando um pulverizador de mão. O crescimento de bactérias foi medido no dia 3 após inoculação. O número de asteriscos indica amostras que eram significativamente diferentes umas das outras em um dado nível (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$). Proteção significativa aconteceu quando as inoculações foram realizadas 48 h após pulverização das plantas. (E) As plantas foram tratadas e infectadas como em (D), exceto que infecções foram realizadas entre 8 e 9 da noite. (* $p < 0,04$). Esses experimentos foram repetidos duas a quatro vezes para confirmar a reprodutibilidade.

A FIGURA 4 mostra crescimento de *Pseudomonas syringae* (linhagem *PmaDG3*) em folhas de plantas defeituosas para resistência adquirida sistêmica (SAR) e mutantes deficientes em ácido salicílico (SA). Ácido azelaico 1 mM em MES 5 mM foi aplicado a mutantes de Col do tipo selvagem, defeituosos em SAR e deficientes em SA (A) e mutantes insensíveis a ácido jasmônico/etileno (B) 2 dias antes da provocação-inoculação de *PmaDG3* virulenta ($OD_{600} = 0,0001$). Ácido azelaico não induziu resistência da planta nos mutantes defeituosos em SAR e deficientes em SAR testados aqui. Isto sugere que esses componentes celulares eram requeridos para resposta de resistência induzida por ácido azelaico em *Arabidopsis*. Em contraste, mutação de *jar1* e *etr1* não afetou a resistência induzida por ácido azelaico em *Arabidopsis*. Os experimentos foram repetidos um mínimo de três vezes. O número de asteriscos indica amostras que eram diferentes uma das outras em dados níveis de significância estatística (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

A FIGURA 5 mostra que o ácido azelaico não afeta os níveis de ácido salicílico e camalexina endógenos, mas induz expressão de um gene de proteína de transferência de lipídeo (LTP) em *Arabidopsis* Col do tipo selvagem. (A) Um curso de tempo de níveis de ácido salicílico livre e total em folhas de Col após tratamentos com pulverização com MES 5 mM (barras pretas) e ácido azelaico 1 mM em MES 5 mM (barras brancas). (C) Os níveis de camalexina em folhas de Col após tratamento com ácido azelaico através de pulverização. Cada experimento em (A) e (B) foi realizado com três a-

mostras diferentes e os experimentos foram repetidos três vezes. (C) Expressão de um gene de LTP (At2g38530) foi elevada após tratamento com ácido azelaico realizado como em (A), no entanto, expressão de PR1 e muitos outros genes relacionados à defesa foi ineficaz. RT-PCR (23 ciclos) foi
 5 usada para avaliar expressão de gene, com EF1a servindo como um controle de carga.

A FIGURA 6 demonstra que o ácido azelaico inicia a sinalização de defesa dependente de SA. (A) Níveis de SA livre e total endógenos em plantas tratadas com ácido azelaico foram significativamente maiores do que
 10 aqueles em plantas tratadas por simulação durante infecções por *Pseudomonas syringae*. MES cinco mM ou ácido azelaico 1 mM em MES 5 mM foram aplicados a folhas de *Arabidopsis* Col do tipo selvagem 2 dias antes da inoculação de MgSO₄ 10 mM (M), *Pma*DG3 virulenta (V) e *Pma*DG6 avirulenta expressando avrRpt2 (Av). As folhas foram coletadas em momentos
 15 diferentes após inoculação e nível de SA livre e endógeno total foi medido. (B) Expressão de PR1 relativa em folhas de plantas tratadas com simulação e plantas tratadas com ácido azelaico após infecção por *Pma*DG3 virulenta. A expressão de PR1 é posta em gráfico em escala log. O número de asteriscos indica amostras que eram diferentes umas das outras em dados níveis
 20 de significância estatística (* $p < 0,075$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,01$).

A FIGURA 7 demonstra que exsudatos de plantas infectadas com patógeno contêm significativamente mais ácido azelaico do que exsudatos de plantas tratadas por simulação. Amostras de exsudato de folhas tratadas com *Pma*DG6 (Col-Pex) ou MgSO₄ 10 mM (Col-Mex) por 72 horas foram analisadas usando GC-MS. Os exsudatos ativos continham uma média
 25 de níveis 6,2 vezes maiores de ácido azelaico comparado com exsudato inativo (5,1 uM em exsudatos falso-induzidos, 31,6 uM em exsudatos induzidos por patógeno, $p = 0,042$, teste t).

DESCRIÇÃO DETALHADA

30 São revelados aqui métodos e composições que induzem resistência à doença em plantas através da ativação de mecanismos de defesa endógenos. O ácido azelaico, um componente de exsudato de planta, é

mostrado iniciar as plantas contra ataques de patógeno. O ácido azelaico por si só aumenta a proteção contra ataque de patógeno em plantas através da ativação do mecanismo de sinalização de base de uma planta na ausência de indução substancial de 'genes de defesa' (por exemplo, genes relacionados à patogênese (PR)). No entanto, quando do ataque patogênico as plantas tratadas com ácido azelaico mostram proteção aumentada contra infecção por patógeno comparado com plantas não tratadas. Esta proteção é acompanhada por uma ativação forte de respostas de defesa indicando que o tratamento com ácido azelaico inicia uma resposta de resistência da planta contra ataque por patógeno. Tratamento com ácido azelaico não impõe uma queima metabólica significativa às plantas na ausência de um ataque de patógeno. Análogos estruturais e funcionais e derivados de ácido azelaico são também adequados na ativação da resposta de resistência da planta contra patógenos.

As composições que incluem uma quantidade eficaz de ácido azelaico são aplicadas às plantas através de métodos de aplicação apropriados conhecidos daqueles de habilidade comum na técnica. Por exemplo, formulações estáveis de ácido azelaico ou seus derivados estão incluídos junto com mistura de nutriente de planta como parte de uma abordagem de alimentação de raiz. Agentes umectantes de planta tais como, por exemplo, um tensoativo, podem ser usados quando pulverização aérea é usada para contatar as plantas com ácido azelaico ou seus derivados. As composições podem ser aplicadas através de, por exemplo, pulverização, atomização, polvilhamento, dispersão, revestimento ou derramamento, introduzindo-as no ou sobre o solo, introduzindo-as em água de irrigação, através de tratamento de semente, ou polvilhamento em um momento quando o patógeno da planta começou a aparecer ou antes do aparecimento de patógeno como uma medida de prevenção. Quaisquer meios que tragam as composições baseadas em ácido azelaico em contato com as plantas podem ser usados na prática da modalidade. As composições podem ser formuladas com um veículo adequado em uma composição(ões) que seja(m), por exemplo, uma suspensão, uma solução, uma emulsão, um pó de polvilhamento, um grânulo-

lo dispersável, um pó umectante, um concentrado emulsificável, um aerosol, um grânulo impregnado, um adjuvante, uma pasta que pode ser revestida ou também encapsulação em, por exemplo, substâncias de polímero.

Composições contendo ácido azelaico ou seus derivados reveladas aqui podem ser obtidas através da adição de um agente tensoativo, um veículo inerte, um conservante, um umectante, um estimulante de alimentação, um atraente, um agente de encapsulação, um ligante, um emulsificante, um corante, um protetor de UV, um tampão, um agente de fluxo ou fertilizantes, doadores de micronutrientes ou outras preparações que influen-
ciam o crescimento da planta.

Veículos agronomicamente aceitáveis são conhecidos e incluem, por exemplo, veículos sólidos tais como pós finos ou grânulos de argila caulim, argila atapulgita, bentonita, argila ácida, pirofilita, talco, terra diatomácea, calcita, pó de amido de milho, pó de casca de nozes, ureia, sulfato de amônio, dióxido de silício hidratado sintético e similar. Veículos líquidos aceitáveis incluem, por exemplo, hidrocarbonos aromáticos tais como xileno, metilnaftaleno e similar, alcoóis tais como isopropanol, etileno glicol, celosolve e similar, cetonas tais como acetona, ciclo-hexanona, isoforona e similar, óleos vegetais tais como óleo de soja, óleo de semente de algodão, óleo de milho e similar, sulfóxido dimetila, acetonitrila, água e similar.

Agentes umectantes adequados incluem, por exemplo, sulfonatos de alquil benzeno e alquil naftaleno, sulfonatos de alquila e alquil arila, óxidos de alquil amina, ésteres de alquil e fosfato de alquil arila, organossilicones, agentes umectantes flúor-orgânicos, etoxilatos de álcool, aminas alcóxiladas, alcoóis graxos sulfatados, aminas ou amidas ácidas, ésteres ácidos de cadeia longa de isotionato de sódio, ésteres de sulfossuccinato de sódio, ésteres do ácido graxo sulfatado ou sulfonato, sulfonatos de petróleo, óleos vegetais sulfonados, acetileno glicóis diterciários, copolímeros em bloco, derivados de polioxialquilenos de alquilfenóis (particularmente iso-octilfenol e nonilfenol) e derivados de polioxialquilenos dos ésteres do ácido graxo mono-superior (por exemplo, sorbitano). Dispersantes incluem metila, celulose, álcool de polivinila, lignino sulfonatos de sódio, alquil naftaleno sul-

fonatos poliméricos, naftaleno sulfonato de sódio, polimetileno bisnaftaleno sulfonato e derivados polioxietilados neutralizados ou fosfatos de alquil fenol substituídos no anel. Estabilizadores podem ser também usados para produzir emulsões estáveis, tais como silicato de alumínio magnésio e goma de xantano.

Concentrações adequadas de ácido azelaico ou seus derivados variam a partir de cerca de 0,1 mM a cerca de 1000 mM, incluindo quaisquer concentrações intervenientes tais como 1 mM, 10 mM, 20 mM, 50 mM, 100 mM e 500 mM. Dependendo da natureza das plantas, da idade das plantas, do modo de administração e das condições ambientais, concentrações menores ou maiores de ácido azelaico podem ser também aplicadas. Ainda, dependendo da estabilidade, toxidez e eficácia de análogos ou derivados de ácido azelaico, concentração adequada pode variar a partir de cerca de 0,01 mM a cerca de 10 mM. Concentrações ótimas de ácido azelaico e seus derivados ou análogos são determinadas usando um ou mais dos métodos revelados aqui através da medição, por exemplo, crescimento de patógeno após infecção ou expressão de gene ou através da determinação de qualquer marcador de resposta de resistência adequado. As composições que consistem essencialmente em ácido azelaico ou seus derivados podem estar na forma de uma suspensão de estoque ou em um estado seco.

Algumas das considerações desejadas para análogos e derivados de ácido azelaico incluem estabilidade *in vivo* e *ex vivo* prolongada, eficácia aumentada, toxidez de planta reduzida, capacidade de serem absorvidos através das folhas e/ou raízes e efeitos colaterais reduzidos, se algum, quando do consumo humano de quaisquer derivados ou análogos remanescentes através dos produtos de planta. Os análogos e derivados incluem análogos estruturais de ácido azelaico bem como formulações que prolongam a estabilidade ou eficácia ou ambas do ácido azelaico.

O ácido azelaico ou seus derivados podem ser também usados em combinação com outras composições que aumentam a resposta de resistência da planta contra patógenos. Por exemplo, uma quantidade adequada de ácido azelaico ou seus derivados podem ser misturados com uma

quantidade adequada de um composto, tal como, por exemplo, ácido salicílico (SA) ou agonistas de SA tal como ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), ácido 3-hidroxipiconílico e S-metil éster do ácido benzo(1,2,3)tiadiazol-7-carbotiônico (BTH ou benzotiadiazol) que ativa a resposta de ácido salicílico em plantas. Similarmente, uma quantidade adequada de ácido azelaico ou seus derivados podem ser misturados com uma quantidade adequada de um composto que ativa cursos de sinalização de ácido jasmônico e etileno. Adicionalmente, uma quantidade adequada de ácido azelaico ou seus derivados pode ser misturados com uma quantidade adequada de uma espécie oxigênio reativa, por exemplo, ácido peracético ou um composto peróxido, ou um composto que gera intermediários de oxigênio reativo, tal como agente de ciclização redox. Similarmente, uma quantidade adequada de ácido azelaico ou seus derivados podem ser misturados com uma quantidade adequada de um elicitador, tal como Harpin, que imita um ataque de patógeno em uma planta. SA, agonistas de SA tal como BTH, espécies oxigênio reativas, elicitadores ou qualquer outro composto de indução de defesa pode ou ser aplicado junto com ácido azelaico ou após a aplicação de ácido azelaico. Esses compostos de indução de defesa adicionais podem ser também aplicados antes da aplicação de ácido azelaico. As concentrações para esses compostos de indução de defesa adicionais podem variar de a partir de cerca de 0,1 μM a cerca de 100 μM ou 1 mM. Se esses compostos adicionais forem aplicados após a aplicação de ácido azelaico, um período de cerca de 4-24 horas é dado entre as aplicações seriais. Aplicações de reforço ou de ácido azelaico ou esses compostos adicionais podem ser também praticadas.

O termo "derivados de ácido azelaico" inclui qualquer(qualsquer) agente(s) químico(s) que é/são derivados de ácido azelaico, por exemplo, um sal particular de ácido azelaico. Derivados de ácido azelaico incluem também análogos estruturais. Derivados de ácido azelaico incluem ésteres de ácido azelaico que incluem, por exemplo, dimetil-azelato, dietil-azelato, dipropil-azelato, diexil-azelato, di-(t-butil)-azelato e similar. Derivados adicionais incluem, por exemplo, azeloil glicina, sais de mono- ou dissódio, sais de

mono- ou di-potássio de ácido azelaico. Em geral, derivados de ácido azelaico aumentam sua solubilidade em água se necessário e/ou estabilidade.

As composições que incluem ácido azelaico ou seus derivados podem conter cerca de 95% de ácido azelaico puro ou 90% puro ou 85% puro ou 85% puro ou mais do que cerca de 75% de ácido azelaico puro. Exsudatos de planta brutos ou parcialmente purificados que contêm uma quantidade eficaz de ácido azelaico ou seus derivados são também adequados para serem usados como uma composição.

O termo "consistindo essencialmente em" refere-se a composições que contêm ácido azelaico ou seus derivados ou análogos como um ingrediente ativo e podem conter opcionalmente qualquer outro componente que não afete materialmente os atributos funcionais do ácido azelaico, por exemplo, em indução de resposta de resistência em plantas. Por exemplo, uma composição consistindo essencialmente em ácido azelaico pode incluir um agente umectante ou um veículo.

Os termos "exposição" e "contato" referem-se a um ou mais métodos de tratamento de plantas com ácido azelaico ou seus derivados através de qualquer método adequado tal como, por exemplo, pulverização ou infiltração ou alimentação de raiz.

O termo "iniciação" refere-se ao processo através do qual uma planta é preparada para montar uma resposta de resistência eficaz contra patógenos.

O termo "genes relacionados à defesa" refere-se a um ou mais genes que são induzidos pelo menos mais de 2 ou 3 ou 5 vezes dentro de algumas horas após ataque do patógeno. Esses genes relacionados à defesa incluem os genes relacionados à patogênese (PR) (*Pathogenesis Related*). Por exemplo, PR-1 é um gene relacionado à defesa adequado. Genes relacionados à defesa podem ser também considerados marcadores relacionados à defesa.

O termo "resistência adquirida sistêmica" (SAR) (*Systemic Acquired Resistance*) refere-se a uma resposta de resistência de planta inteira quando do ataque de patógeno (ou qualquer outro tratamento de indução de

resistência) em uma parte da planta.

O termo "antimicrobiano" ou "atividade antimicrobiana" refere-se a atividades antibacteriana, antiviral, antinematóide e antifúngica contra patógenos de planta. Deste modo, o ácido azelaico e seus derivados podem
5 aumentar a resistência a insetos e nematoides que infestam plantas.

O termo "patógeno de planta" ou "praga de planta" refere-se a qualquer organismo que pode infectar e causar dano a uma planta. Uma planta pode ser danificada por uma inibição ou diminuição do crescimento de uma planta, através de dano aos tecidos de uma planta, através de um enfraquecimento do mecanismo de defesa de uma planta, através de uma redução na resistência de uma planta a estresses abióticos, através de uma morte prematura da planta e similar. Patógenos de planta e pragas de planta
10 incluem, mas não estão limitados a, nematoides, e organismos tais como fungos, oomicetos, vírus e bactérias.

O termo "resistência à doença" ou "resistência a patógeno" pretende significar que os organismos evitam os sintomas da doença que são o resultado de interações de organismo-patógeno. Isto é, os patógenos são prevenidos de causar doenças e os sintomas de doença associados ou, alternativamente, os sintomas de doença causados pelo patógeno são minimizados ou diminuídos.
15 20

O termo "componente de planta" refere-se a qualquer material de planta que é provável de ser atacado por um patógeno. Componente de planta adequado inclui, por exemplo, folhas, caules, raízes, flores, frutas, sementes, mudas, calos, tubérculos e cultura de célula de planta.

Composições à base de ácido azelaico podem reduzir os sintomas da doença resultantes de provocação por patógeno em pelo menos cerca de 5% a cerca de 50%, pelo menos cerca de 10% a cerca de 60%, pelo menos 30% a cerca de 70%, pelo menos cerca de 40% a cerca de 80% ou pelo menos cerca de 50% a cerca de 90% ou mais.
25

Exemplos de plantas de interesse incluem, mas não estão limitados a, milho (*Zea mays*), *Brassica sp.* (por exemplo, *B. napus*, *B. rapa*, *B. juncea*), particularmente aquelas espécies *Brassica* úteis como fontes de
30

óleo de semente, alfalfa (*Medicago sativa*), arroz (*Oryza sativa*), centeio (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), painço (por exemplo, painço pérola (*Pennisetum glaucum*), painço poroso (*Panicum miliaceum*), painço rabo-de-raposa (*Setaria italica*), painço dedo (*Eleusine coracana*), girassol (*Helianthus annuus*), açafão (*Carthamus tinctorius*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), batata (*Solanum tuberosum*), árvores cítricas (*Citrus spp.*), cacau (*Theobroma cacao*), chá (*Camellia sinensis*), aveias, cevada, vegetais, ornamentais e coníferas.

10 Vegetais incluem, por exemplo, tomates (*Lycopersicon esculentum*), alface (por exemplo, *Latctuca sativa*), feijões verdes (*Phaseolus vulgaris*), feijões-de-lima (*Phaseolus limensis*), ervilhas (*Lathyrus spp.*, *Pisum spp.*). Ornamentais incluem, por exemplo, azaleia (*Rhododendron spp.*), hidrangea (*Hydrangea macrophylla*), hibiscus (*Hibiscus rosasanensis*), rosas
15 (*Rosa spp.*), tulipas (*Tulipa spp.*), narcisos (*Narcissus spp.*) e crisântemo.

Os patógenos das modalidades incluem, mas não estão limitados a, vírus ou viroides, bactérias, nematoides, fungos e similar. Vírus incluem qualquer vírus de planta, por exemplo, vírus do mosaico do tabaco ou pepino, vírus da mancha anular, vírus da necrose, vírus do mosaico anão do
20 milho e similar. Patógenos fúngicos, oomiceto e virais específicos para as culturas principais incluem, mas não estão limitados a, o que segue: *Phytophthora*, *Fusarium spp.*, *Alternaria*, *Pythium spp.*, vírus do mosaico da soja, vírus da mancha anular do tabaco, Vírus da Necrose Branca do Tabaco, Vírus do definhamento da mancha do tomate, *Sclerotinia*, *Peronospora*, *Cladosporium*, *Erysiphe*, *Aspergillus*, *Puccinnia sp.* e *Trichoderma*. Patógenos
25 de planta bacterianos específicos incluem qualquer espécie bacteriana que infecte plantas e incluem, mas não estão limitados a, *Xanthomonas* (por exemplo, *Xanthomonas axonopodis* pv. *aurantifolii*, *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), *Pseudomonas*
30 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*), *Erwinia* (por exemplo, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), *Ralstonia* (por exemplo, *Ralstonia solanacea*-

rum), *Clavibacter michiganensis* e *Xylella fastidiosa*.

EXEMPLOS

Os exemplos que seguem são para propósitos ilustrativos apenas e não pretendem limitar o escopo da descrição.

5 EXEMPLO 1

Exsudatos de petiolo induzem respostas de defesa contra infecção por *Pseudomonas syringae*

Para induzir a produção de possíveis moléculas de sinal de indução de defesa, folhas de *Arabidopsis* foram infiltradas com um derivado avirulento de *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* ES4326 carregando *avrRpt2* (linhagem *PmaDG6*) que induz resistência adquirida sistêmica (SAR). Infiltração com MgSO_4 10 mM serviu como um controle de inoculação simulada. Após 12-15 horas, as folhas foram excisadas e postas em EDTA 1 mM para a coleta de material exportado, presumidos serem componentes de floema, dos petiolos. O EDTA bloqueia a produção de calos no lado ferido e previne o fechamento da extremidade cortada, deste modo permitindo a coleta de moléculas de sinal de indução de defesa potenciais. Exsudatos de petiolo livres de bactérias de resistência de um quarto foram infiltrados em folhas para testar sua habilidade em ativar respostas de defesa. A Figura 1A mostra os níveis de expressão de *PR1*, um marcador de sinalização de ácido salicílico (SA), em folhas em 2 dias após tratamento com EDTA 0,25 mM, exsudato induzido por simulação (Col-Mex) ou exsudato induzido por patógeno (Col-Pex). O Col-Pex disparou um nível alto de expressão de *PR1*, com relação àquele encontrado após tratamento com Col-Mex. Esses dados indicam que há uma ou mais moléculas de sinal biologicamente ativas no Col-Pex que são capazes de induzir expressão de *PR1*.

Para testar se o Col-Pex poderia também conferir resistência à infecção por patógeno, um derivado virulento de *P. syringae* pv. *maculicola* ES4326 carregando vetor vazio (linhagem *PmaDG3*) foi inoculado em folhas de plantas de 25 dias 2 dias após pré-tratamento com exsudatos. Crescimento bacteriano após três dias foi significativamente reduzido em folhas pré-tratadas com Col-Pex, comparado com aquele de plantas tratadas com

simulação e tratadas com Col-Mex (Figura 1B). Esses dados mostram uma atividade biológica de exsudatos de petiolo de folhas inoculadas com bactérias avirulentas.

Molécula(s) de sinal encontrada(s) em exsudatos ativos seriam induzidas em um momento distinto após infecção com bactérias de indução de SAR. Deste modo, exsudatos de petiolo foram coletados em vários momentos após infecção com *Pma*DG6 avirulenta e exsudatos de resistência de um quarto foram infiltrados em folhas que foram analisadas quanto à expressão de *PR1* 2 dias após tratamento (FIGURA 1C). Os níveis de expressão foram normalizados para aqueles encontrados em plantas tratadas com EDTA 0,25 mM. Exsudatos de petiolo coletados em 48 e 72 h após inoculação do patógeno induziram expressão de *PR1*. O nível de expressão de *PR1* foi significativamente maior em folhas infiltradas com Col-Pex coletadas 48 h após inoculação do patógeno.

Foi também testado se os exsudatos ativos poderiam induzir expressão de *ALD1* e *PR1* em uma série de mutantes defeituosos em SAR e deficientes em SA. O exsudato de Col-Pex ativo foi infiltrado em folhas de plantas do tipo selvagem e mutantes antes da coleta de tecidos para isolamento de RNA total. A FIGURA 2A mostra níveis de expressão de *PR1* relativos em mutantes diferentes normalizados para expressão em folhas do tipo selvagem. Col-Pex apenas induziu fracamente expressão de *PR1* em folhas de *ndr1*, *pad4*, *npr1*, *sid1* e *sid2*. Esses dados indicam que esses componentes celulares essenciais para SAR foram também requeridos para a resposta a uma molécula(s) de sinal em exsudatos de petiol. Além disso, resistência de planta induzida por Col-Pex foi completamente abolida nos mutantes defeituosos em SAR e deficientes em SA testados (FIGURA 2B). Col-Pex era ainda ativo em plantas mutantes *dth9* ($p < 0,05$, teste-t de *student*), que são conhecidas estar comprometidas para a manutenção de SAR, e são incapazes de induzir resistência em resposta a tratamento por SA.

30 EXEMPLO 2

Um nível alto de ácido azelaico se acumula em exsudatos de petiolo ativos

Metabólitos em exsudatos ativos foram comparados com aque-

les em exsudatos induzidos por simulação para encontrar a(s) molécula(s) responsável(is) para indução de defesas de planta. Os níveis de cerca de 160 metabolitos em exsudatos foram analisados usando cromatografia de gás (usando uma coluna de dimetil 95%/difenilpolisiloxana 5%) acoplada com espectrometria de massa (GC-MS). Níveis altos de ácido azelaico ($C_9H_{16}O_4$) foram detectados em preparações Col-Pex ativas, comparado com aqueles em Col-Mex (Tabela 1). As diferenças das razões de resposta de cada experimento resultaram muito da variação em níveis basais de ácido azelaico em plantas cultivadas em momentos diferentes.

Conforme mostrado na FIGURA 7, exsudatos ativos continham uma média de níveis 6,2 vezes maiores de ácido azelaico do que exsudatos inativos.

Tabela 1. Nível relativo de ácido azelaico em exsudatos de petiol de <i>Arabidopsis</i> Col do tipo selvagem tratada por simulação ou inoculada com patógeno				
Composto	Fórmula mol. ¹	T.R (min) ²	TIC (%) ³	PC ⁴
Ácido aze-laico	C ₉ H ₁₆ O ₄	17,14	317	Dimetil 95%/difenil polis-siloxana 5%
Teste	Média de Col-Mex ⁵	Média de Col-Pex ⁶		Razão de respos-ta de Pex/Mex
1	0,09	3,42		37,26
2	0,5	12,03		24,13
3	1,15	2,07		1,8
4	2,13	3,37		1,46
5	Não-detectado	10		>10

¹Fórmula molecular; ²Tempo de retenção; ³Corrente de Íon Total; ⁴Polímero de Material de Revestimento; ⁵Mex, exsudato tratado por simulação; ⁶Pex, exsudato induzido por *PmaES4326/avrRpt2* (OD600=0,01)

EXEMPLO 3

Ácido azelaico confere respostas de resistência contra infecção por *Pseudomonas syringae*

Atividade biológica do ácido azelaico em indução de resistência a doenças. Ácido azelaico 1 mM foi infiltrado em folhas de plantas de 3 e 4

semanas de vida. Dois dias depois, as plantas foram inoculadas com *PmaDG3* virulenta em folhas 3 e 4 ou nas folhas superiores, que não foram pré-tratadas com ácido azelaico (folhas sistêmicas). Ácido azelaico (1 mM) dissolvido em MES 5 mM (pH 5,6) não era tóxico para a célula de planta. O

5 crescimento de *PmaDG3* foi significativamente reduzido em ambas as folhas locais e sistêmicas de plantas tratadas com ácido azelaico, comparado com aquele de plantas tratadas por simulação (FIGURA 3A). Diferente das plantas tratadas por simulação, plantas tratadas com ácido azelaico mostraram pouquíssimo desenvolvimento de sintomas de doença. Plantas tratadas por

10 simulação e tratadas com ácido azelaico foram também infiltradas com derivados avirulentos de *P. syringae* pv. *maculicola* carregando *avrRpt2* (*PmaDG6*) ou *avrRpm1* (*PmaDG34*). O ácido azelaico causou uma redução no crescimento de *PmaDG6* (carregando *avrRpt2*), mas não *PmaDG34* (carregando *avrRpm1*; FIGURA 3B).

15 O crescimento de *PmaDG3* foi medido após tratamento por pulverização de plantas com várias concentrações de ácido azelaico. A Figura 3C mostra que as plantas pré-tratadas com 100 e 1000 µM de ácido azelaico eram resistentes à *PmaDG3*. Esta resistência induzida resultou em uma supressão de 10 vezes de crescimento bacteriano. Em contraste, não houve

20 nenhuma diferença em crescimento bacteriano após tratamentos com MES 5 mM e ácido azelaico 1 ou 10 µM nas condições testadas. Foi também testado se ácido azelaico requeria um certo período de indução para a resposta de resistência induzida. As plantas cultivadas na luz e pré-tratadas com ácido azelaico usando um pulverizador de mão 6 horas antes da infecção eram

25 ainda suscetíveis à *P. syringae* virulenta (FIGURA 3D), enquanto pré-tratamento 12 horas antes da provocação com o patógeno conferiu um nível de resistência baixo (FIGURA 3D). No entanto, quando as plantas foram cultivadas no escuro por 12 horas após tratamento, ácido azelaico era ineficaz em conferir resistência à doença (FIGURA 3E). A resistência induzida era

30 mais estável e mais forte com tempos mais longos de exposição a ácido azelaico. Então, o ácido azelaico induz uma resposta de resistência à doença dependente de luz contra infecção por *P. syringae* que é também depen-

dente da concentração e do tempo.

EXEMPLO 4

Resistência induzida por ácido azelaico é atenuada em mutantes defeituosos em SAR, insensíveis a SA e deficientes em SA, mas não mutantes insensíveis a JA/etileno

Para caracterizar mais como plantas regulam resistência induzida por ácido azelaico, ácido azelaico 1 mM foi pulverizado sobre várias plantas do tipo selvagem e mutantes 2 dias antes da infecção com *PmaDG3* virulenta e crescimento bacteriano foi medido. Diferente de plantas do tipo selvagem, os mutantes do curso de SA testados eram suscetíveis à infecção por *PmaDG3* virulenta sem importar o tratamento com ácido azelaico (FIGURA 4A). Esses dados demonstram que componentes de defesa múltiplos (NDR1, PAD4, NPR1, SID1, SID2 e FMO1) conhecidos ser importantes para regular, sintetizar e responder a SA podem desempenhar um papel para resistência à planta induzida por ácido azelaico nas plantas testadas neste exemplo. Resistência a patógeno era também dependente de DTH9, que é importante para resistência à doença induzida por SA e manutenção de SAR em *Arabidopsis*. O crescimento de bactérias foi também monitorado em folhas de mutantes de JA e insensíveis a etileno, *jar1* e *etr1*, seguindo tratamento com ácido azelaico 1 mM. A FIGURA 4B mostra que tratamento com ácido azelaico era eficaz na restrição de crescimento bacteriano em mutantes *jar1* e *etr1* sugerindo que sinalização dependente de ácido jasmônico e etileno fosse dispensável para resistência induzida por ácido azelaico em *Arabidopsis*.

EXEMPLO 5

Tratamento exógeno de ácido azelaico não aumenta os níveis de ácido salicílico e camalexina

Uma vez que resistência à *P. syringae* requer ativação de defesas dependentes de SA acompanhadas por níveis de SA endógenos elevados, foi investigado se ácido azelaico induz diretamente acúmulo de SA. Após tratamento por pulverização de plantas com ácido azelaico 1 mM, não havia diferença significativa em nível de SA livre e total entre plantas tratadas

com simulação e tratadas com ácido azelaico (FIGURA 5A). Adicionalmente, os níveis da fitoalexina Camalexina, um metabólito de defesa, eram similares em plantas tratadas com ácido azelaico e com simulação (FIGURA 5B). Esses dados indicam que ácido azelaico não afeta diretamente os níveis ou de

5 SA ou camalexina. Para investigar se ácido azelaico poderia afetar marcadores de defesa adicionais, expressão de genes relacionados à defesa foi monitorada usando uma minidisposição. Surpreendentemente, a maioria dos genes relacionados com defesa que foram testados não mostrou qualquer diferença em expressão entre plantas tratadas por simulação e tratadas com

10 ácido azelaico. Um gene codificando uma proteína de transferência de lipídeo potencial (LTP) (*Lipid Transfer Protein*), At2g38530, foi significativamente induzido (3 vezes) por ácido azelaico. RT-PCR confirmou que At2g38530 foi induzida por ácido azelaico. No entanto, *PR1*, um marcador de sinalização de SA, não foi induzido por ácido azelaico. Então, ácido azelaico parece

15 não induzir grandes mudanças em cursos de sinalização conhecidos ativados por *P. syringae*, mas induz pelo menos um gene relacionado à defesa.

EXEMPLO 6

Ácido Azelaico inicia respostas de defesa

Uma vez que mutantes de sinalização de SA eram comprometidos em responder a ácido azelaico, foi investigado se ácido azelaico poderia

20 iniciar a síntese de SA ou respostas de defesa dependentes de SA em plantas. Para este teste, as plantas foram pulverizadas com ácido azelaico 1 mM ou (MES 5 mM) e após dois dias infectadas com *PmaDG3* virulenta e *PmaDG6* avirulenta (carregando *avrRpt2*) (OD600=0,01). A FIGURA 6A

25 mostra que os níveis de SA livre em plantas tratadas com ácido azelaico foram significativamente maiores do que aqueles em plantas tratadas com simulação em 6 e 18 horas após infecção por *PmaDG3* ($p < 0,05$, teste t de *student*). Uma tendência similar foi vista após infecção por *PmaDG6* (carregando *avrRpt2*), mas os resultados não foram estatisticamente significantes.

30 Adicionalmente, pré-tratamento de ácido azelaico resultou em um nível maior de acúmulo de SA total em 18 horas após inoculação com ambas as *PmaDG3* e *PmaDG6*, comparado com aqueles de plantas tratadas com si-

mulação ($p < 0,01$, teste t de *student*). O efeito de inicialização pelo ácido azelaico foi também investigado através da análise de expressão de *PR1*, um marcador molecular para sinalização de SA (FIGURA 6B). Plantas tratadas com simulação e ácido azelaico foram infectadas com *PmaDG3* virulenta (OD600=0,01) 2 dias após tratamentos por pulverização. Expressão de *PR1* foi aumentada em ambas as plantas tratadas com ácido azelaico e não-tratadas após infecção com a linhagem virulenta. No entanto, a expressão era maior em folhas pré-tratadas com ácido azelaico após infecção por patógeno, comparado com expressão em plantas tratadas com simulação seguindo infecção por patógeno (notar a escala log na FIGURA 6B). Esses dados indicam que o modo de ação de ácido azelaico é iniciar plantas para induzir defesas mais fortemente e mais rapidamente do que plantas não-tratadas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de aumento de resistência a um patógeno de planta em uma planta, o método caracterizado pelo fato de que compreende contar um componente da planta com uma composição para aumentar a resistência ao patógeno na planta, em que a composição compreende uma solução de ácido azelaico ou um derivado do mesmo.
5
2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o patógeno é selecionado de patógenos de planta bacterianos, fúngicos, oomiceto e virais.
- 10 3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a planta é uma monocotiledônea.
4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a planta é uma planta de cultura.
5. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
15 fato de que a planta é uma planta ornamental.
6. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o ácido azelaico está em uma faixa de concentração de 0,01 mM a 10 mM.
7. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
20 fato de que o ácido azelaico está em uma concentração de 1 mM.
8. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o componente da planta é selecionado do grupo consistindo em folhas, raízes, caules, frutas, flores e sementes.
9. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
25 fato de que a composição é administrada em combinação com um nutriente de planta.
10. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição é contatada na presença de luz.
11. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
30 fato de que o derivado de ácido azelaico é solúvel em água.
12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o derivado de ácido azelaico é selecionado do grupo consistindo

em azelato de sódio, azelato de potássio e ésteres do ácido azelaico.

13. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição compreende um agente umectante.

5 14. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição compreende ainda um agente para induzir um mecanismo de defesa que depende de ácido salicílico ou etileno ou ácido jasmônico ou uma combinação dos mesmos.

10 15. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que o agente é selecionado do grupo consistindo em agonistas de ácido salicílico, espécies oxigênio reativas, benzotiazol, ácido jasmônico e etileno ou um derivado dos mesmos.

16. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que :

- 15
- a composição é um exsudato de planta;
 - o patógeno é bacteriano;
 - o ácido azelaico é purificado; e/ou
 - o componente de planta consiste em folhas.

20 17. Método de inicialização de uma planta para induzir resposta de resistência contra um patógeno, o método caracterizado pelo fato de que compreende contatar um componente da planta com uma composição para preparar a planta para induzir sua resposta de resistência contra um ataque de patógeno, em que a composição compreende uma solução de ácido azelaico ou um derivado do mesmo.

25 18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o componente de planta é folhagem de planta.

19. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que a resposta de resistência é resistência adquirida sistêmica.

30 20. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que a composição é administrada antes do ataque de um patógeno.

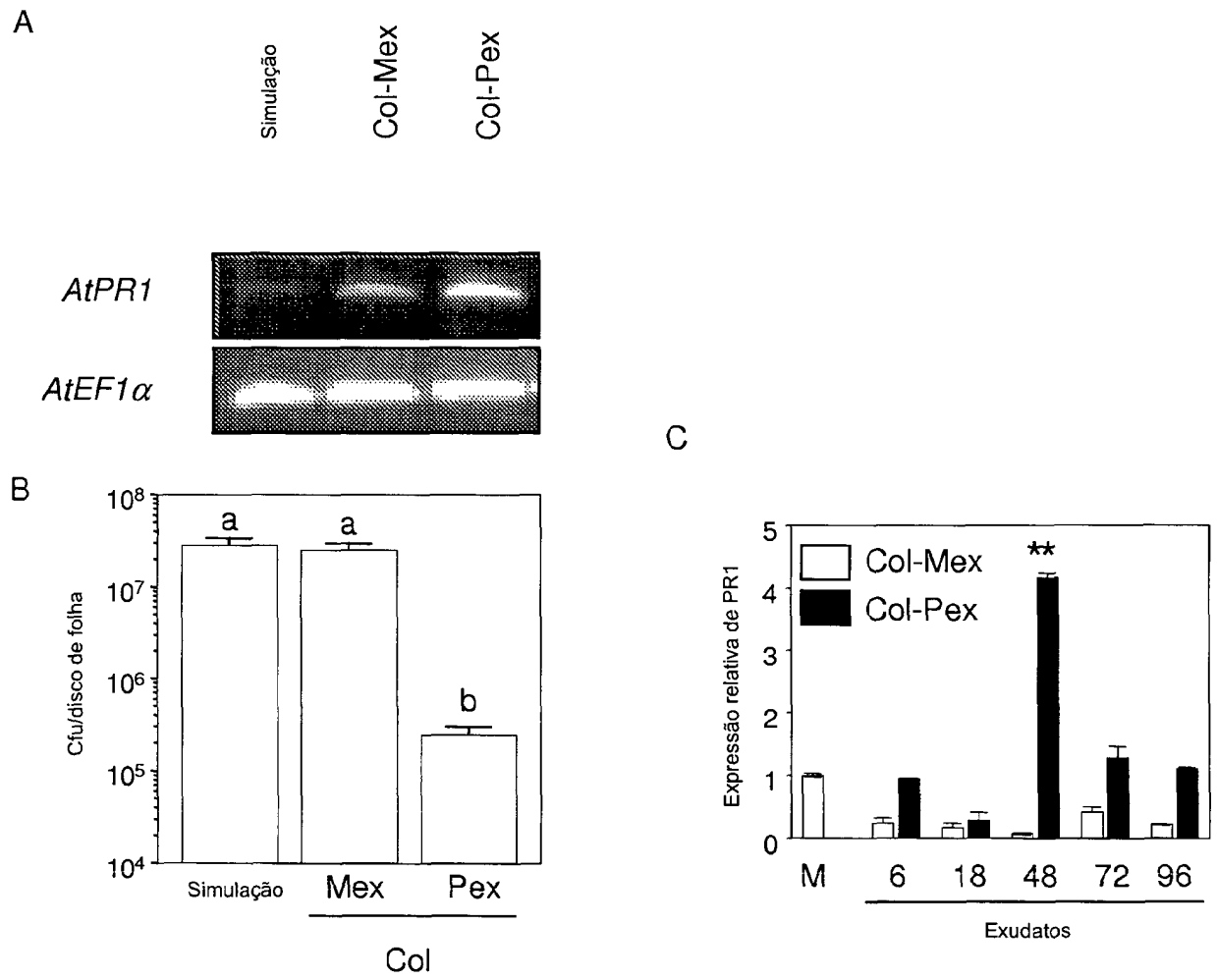
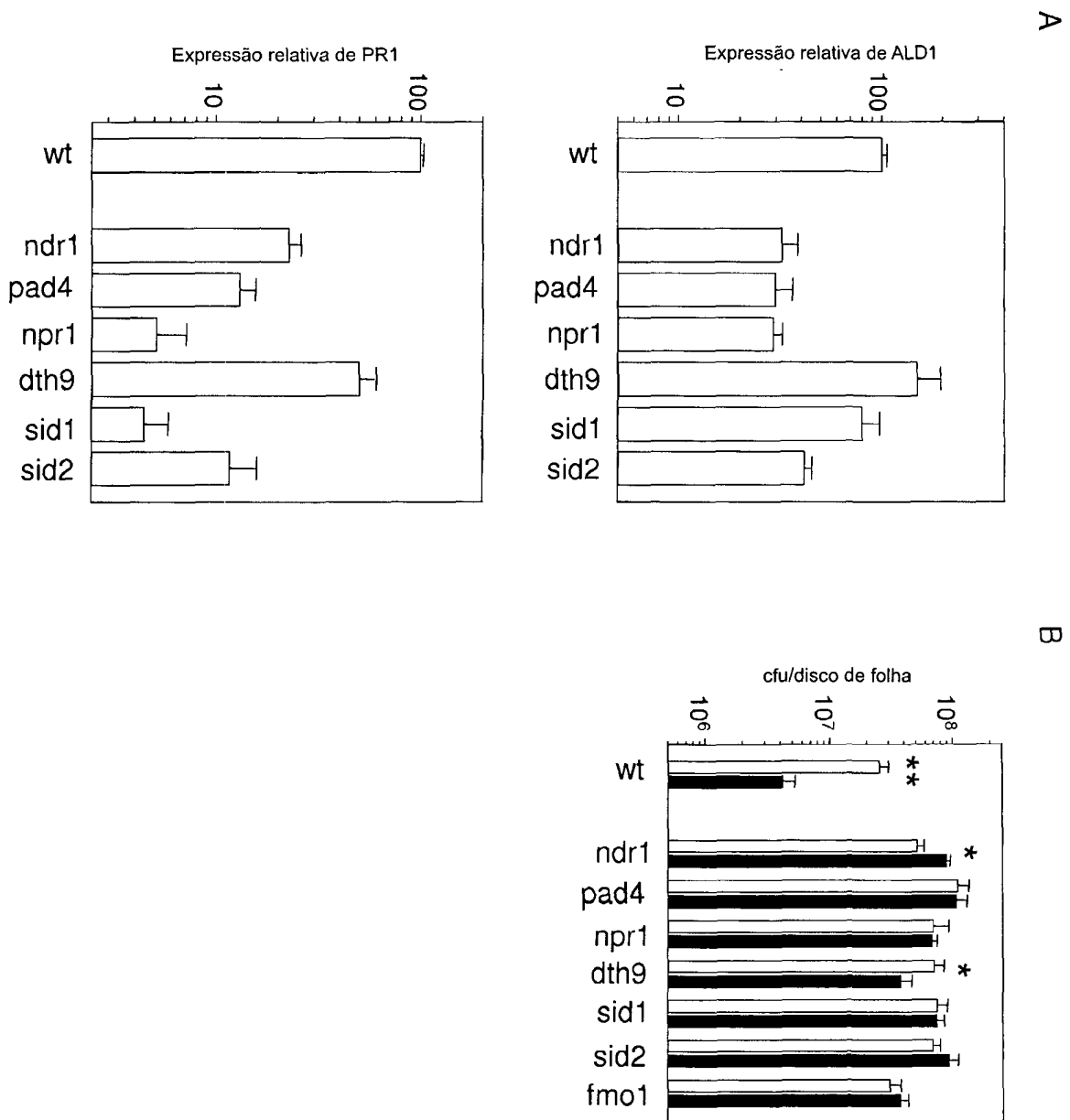
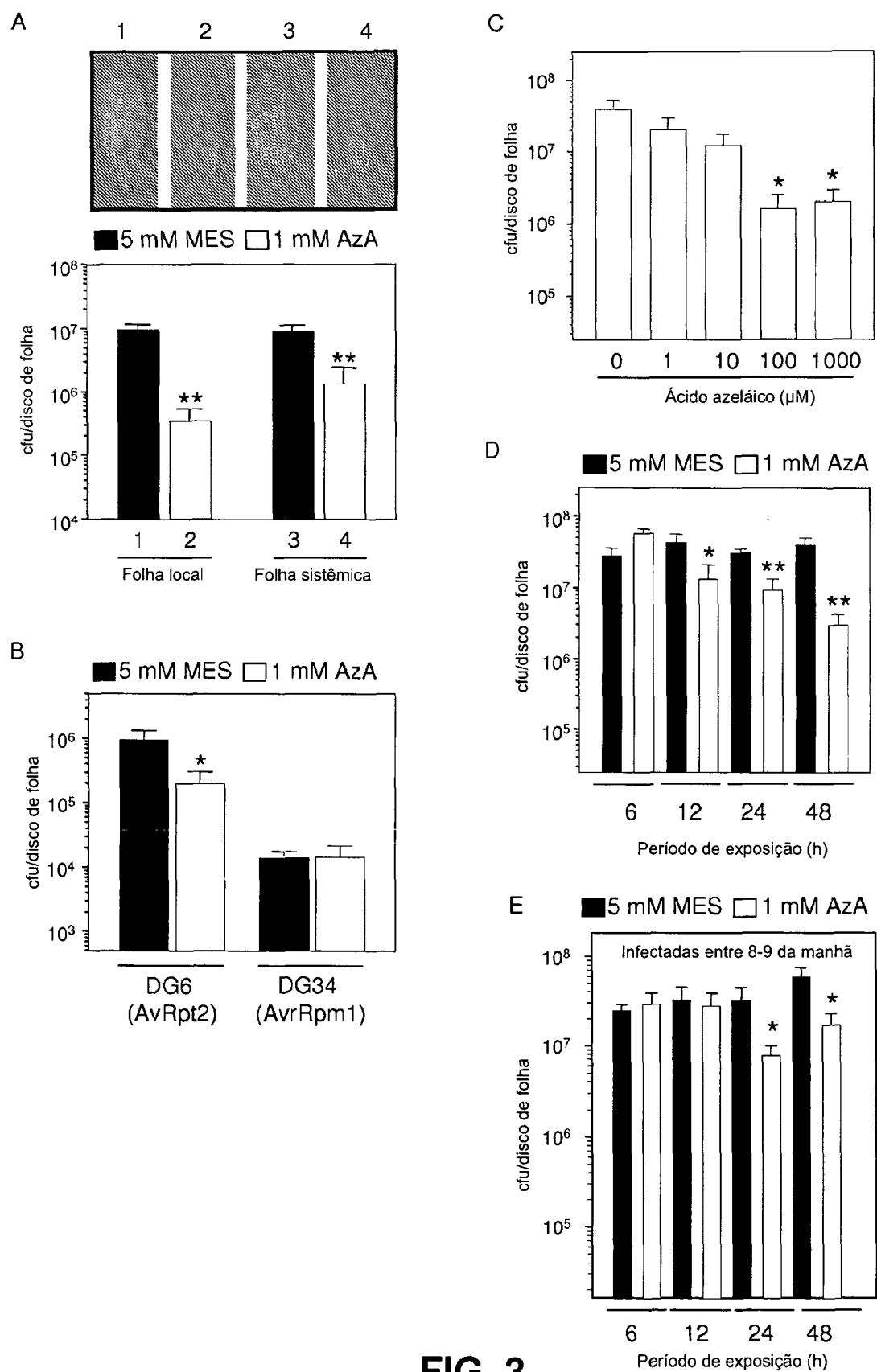


FIG. 1

**FIG. 2**



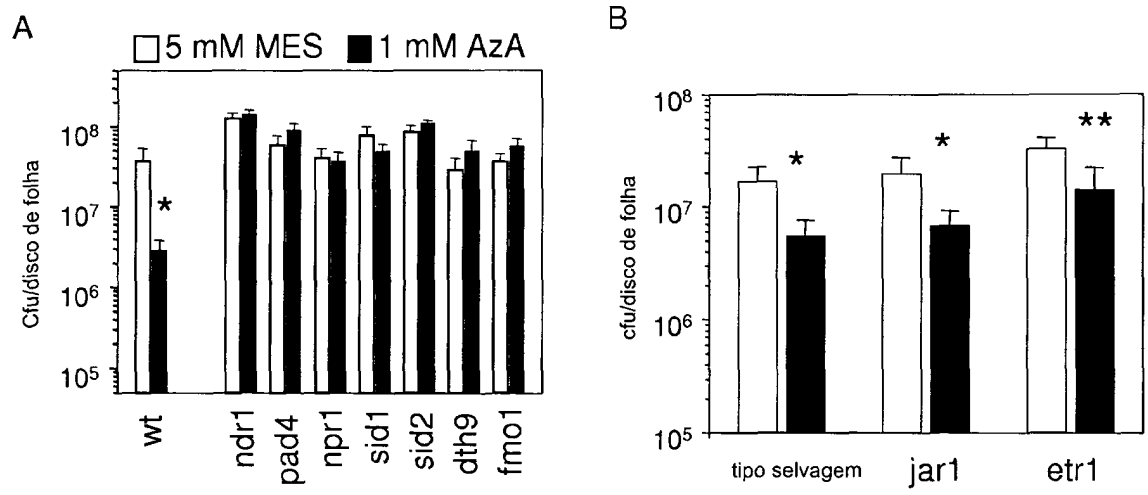


FIG. 4

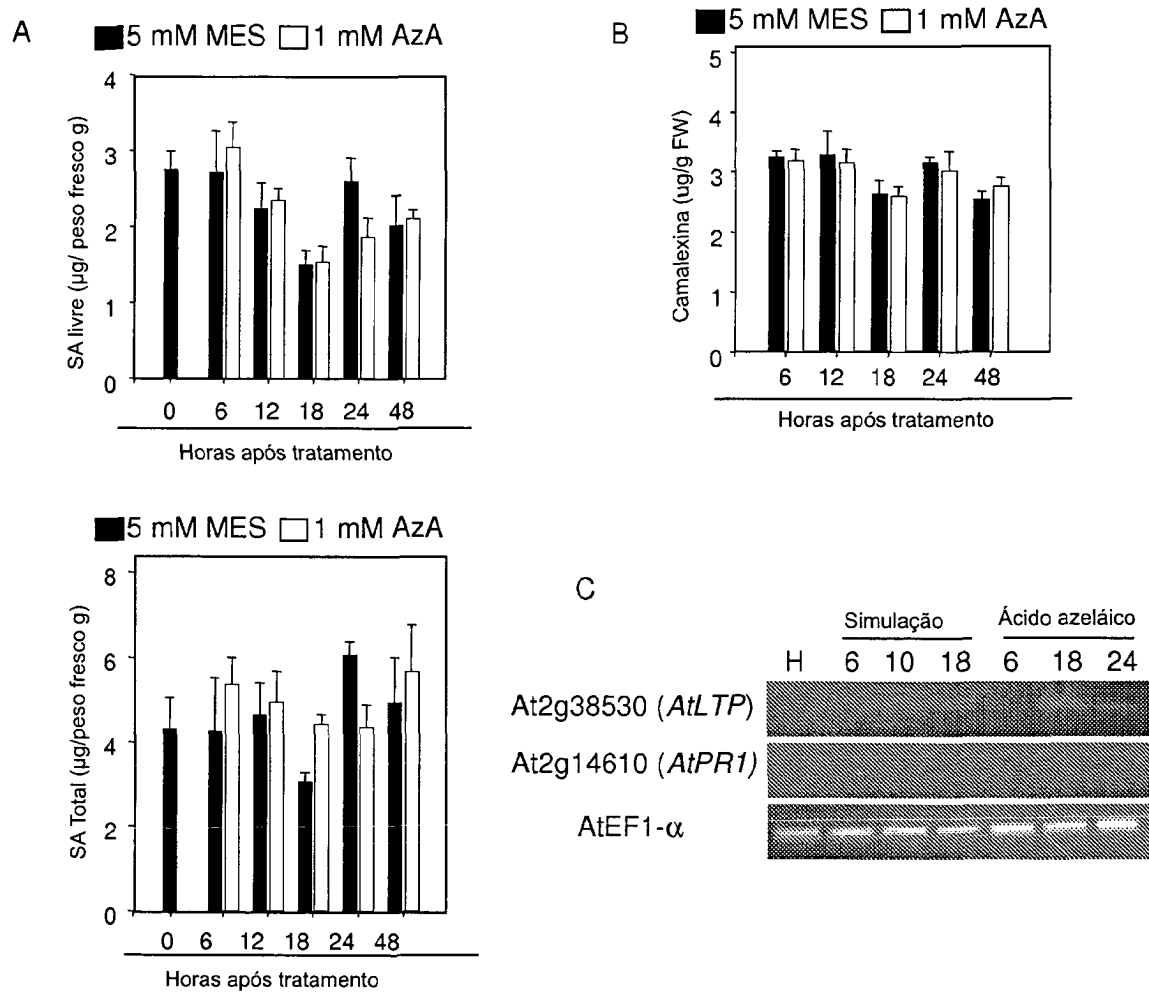
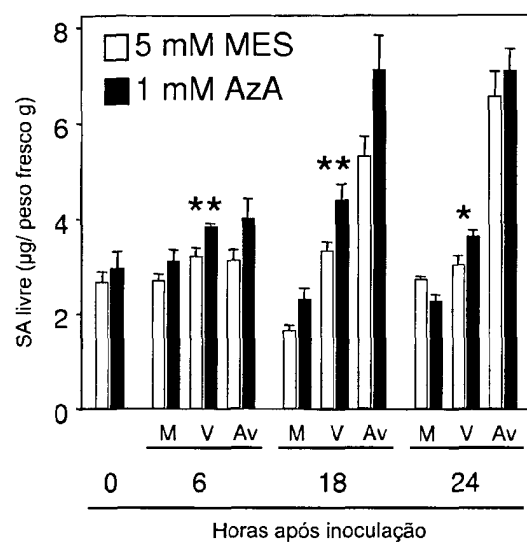


FIG. 5

A



B

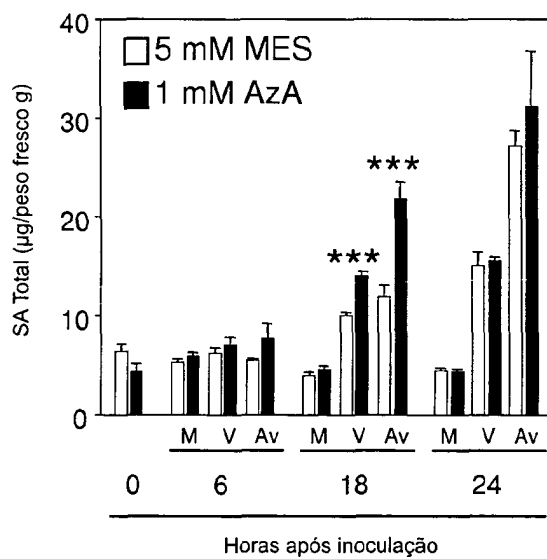
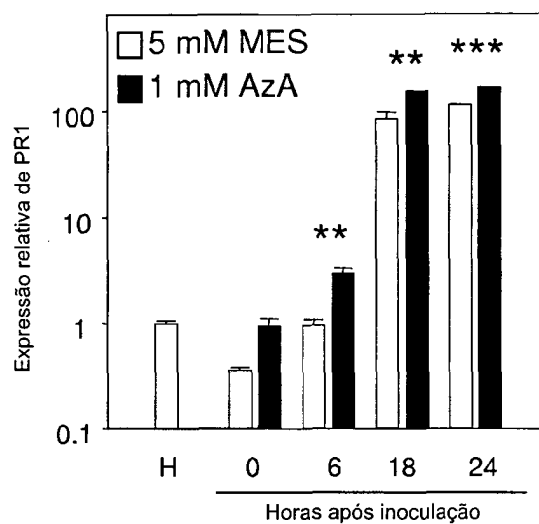
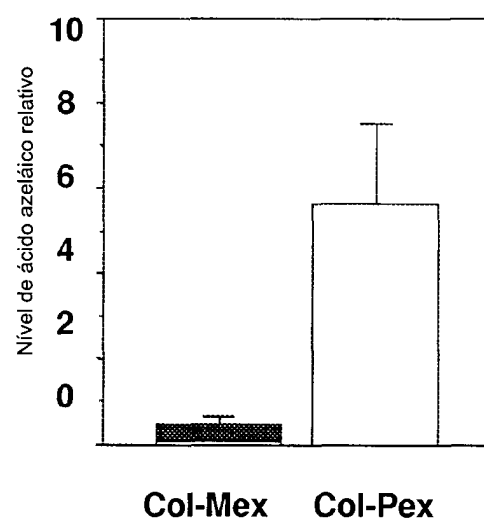


FIG. 6

**FIG. 7**