

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL CÂMPUS DOIS
VIZINHOS

MYCHELI PREUSS DA CRUZ

**POTENCIAL DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO TRATAMENTO
DE SEMENTES DE ANGICO-BRANCO (*Anadenanthera colubrina*
(Vellozo) Brenan) E NO CONTROLE DE *Fusarium sp.* EM CONDIÇÕES
*IN VITRO.***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2016

MYCHELI PREUSS DA CRUZ

**POTENCIAL DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO TRATAMENTO DE
SEMENTES DE ANGICO-BRANCO (*Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan) E
NO CONTROLE DE *Fusarium sp.* EM CONDIÇÕES *IN VITRO*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso Superior de Engenharia Florestal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Orientador: Dr. Sérgio Miguel Mazaró

DOIS VIZINHOS
2016

C957p Cruz, Mycheli Preuss da.
Potencial de indutores de resistência no tratamento de sementes e angico-branco (*Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan) e no controle de *Fusarium sp.* em condições *in vitro* / Mycheli Preuss da Cruz – Dois Vizinhos :[s.n], 2015.
38f.:il.

Orientador: Sergio Miguel Mazaro
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Engenharia Florestal, Dois Vizinhos, 2015.
Bibliografia p.31-38

1. Florestas - Reprodução. 2. Sementes - Armazenamento 3. Pragas - Controle I. Mazaro, Sergio Miguel, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos. III.Título

CDD: 631.5

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



Ministério da Educação **Universidade**
Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Dois
Vizinhos
Curso de Engenharia Florestal



TERMO DE APROVAÇÃO

Título POTENCIAL DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ANGICO-BRANCO (*Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan) E NO CONTROLE DE *Fusarium sp.* EM CONDIÇÕES *IN VITRO*.

por

MYCHELI PREUSS DA CRUZ

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 10 de junho de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro
Orientador

Prof. Dr. Alvaro Freddo
Membro titular

Prof. Dr. Flávio Endrigo Cechim
Membro titular

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar, amparar e abençoar em todos os meus dias.

À minha família, especialmente meus pais Ayrton e Janice, que me proporcionaram uma vida digna e sempre se esforçaram para meu sucesso.

A minha irmã Martyna, por estar sempre participando comigo, e por estar junto aos meus pais, nesse período em que estive longe.

Ao professor Dr. Sergio Miguel Mazaro pela orientação e amizade, paciência e pelos grandes conselhos e incentivos para meu crescimento profissional.

Aos amigos do Laboratório Nuan, Adriano, Jessica, Caliandra, Thayllane e Stheffani pela colaboração para o desenvolvimento deste trabalho e pela amizade sincera.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação em todos os sentidos. À vocês, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

CRUZ, Mycheli Preuss. **Potencial de indutores de resistência no tratamento de sementes de angico-branco (*Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan) e no controle de *Fusarium sp.* em condições *in vitro.*** 2016. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal Monografia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

A longevidade das sementes florestais armazenadas normalmente é curta, devido à perda rápida da viabilidade durante a secagem. Entre os fatores, que prejudicam a qualidade das mesmas, destacam-se os fungos fitopatogênicos, os quais deterioram as sementes, alterando o poder germinativo e suas qualidades iniciais no vigor e sanidade. Assim, é importante o tratamento de sementes no controle e prevenção de fitopatógenos. Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm demonstrando o potencial de métodos alternativos no tratamento de sementes. A indução de resistência é um método que envolve a ativação de mecanismos de defesa presentes na planta, capazes de ativar/induzir respostas de defesa. Nesse sentido, foi desenvolvido o experimento no Laboratório de Fitopatologia e de Sementes da UTFPR – Campus Dois Vizinhos, com objetivo de avaliar o potencial dos indutores ácido salicílico (2,0mM), fenilalanina (2,0mM), fosfito de potássio (0,001%) e Acibenzolar-S-Metil (0,005%). As sementes foram tratadas por imersão, por 2 minutos, com os diferentes indutores e para a testemunha utilizou-se água destilada. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a parcela constituída por 50 sementes. Após, os tratamentos, as sementes foram armazenadas por sete dias na câmara germinadora com temperatura de 25°C (± 1) com fotoperíodo de 12 horas. Após o período de armazenamento, foram avaliados os parâmetros de germinação, tamanhos de plântulas e massa fresca. Ainda, retirou-se material vegetal para as análises bioquímica, sendo proteínas totais, atividade das enzimas FAL, quitinase e β -1,3-glucanase. Para o experimento *in vitro*, o delineamento experimental inteiramente casualizado, em 4 repetições, sendo a unidade experimental composta por uma placa. Os indutores, nas mesmas concentrações do experimento do tratamento de sementes, foram adicionados ao meio de cultura BDA e vertidos em placas de Pedri[®] de 9 cm de diâmetro. Em seguida discos de 3mm de diâmetro de micélio de *Fusarium sp.* foram transferidos para o centro da placa. As placas foram fechadas e incubadas em BOD à 26 °C com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente por 6 dias, até a testemunha tomar conta de toda a placa. Os dados foram tabulados e submetidos a análise de variância, para as variáveis que apresentarem significância será realizado regressão com auxílio do *software* Assistat[®]. Os resultados demonstraram que o tratamento de sementes com os diferentes indutores não interferem sobre os parâmetros fisiológicos das sementes. E quanto a indução de resistência os tratamentos

interferem na atividade da FAL, no entanto, não apresentam ação sob a quitinase e β - 1,3 glucanase. *In vitro* o fosfito de potássio apresenta potencial de controle de *Fusarium* sp. inibindo totalmente o crescimento micelial.

Palavras-chave: Sementes florestais. Controle Alternativo. Patógeno. Parâmetros Bioquímicos.

ABSTRACT

CRUZ, Mycheli Preuss. **Potential resistance inducers in the treatment of mimosa white seeds (*Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan) and the control of *Fusarium sp.* in vitro conditions.** 2016. 29f. work Course Conclusion (Engineering Forestry Graduation) Federal Technology University - Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

The longevity of the stored tree seeds is usually short because of the rapid loss of viability during drying. Among the factors that impair their quality, we highlight the pathogenic fungi, which deteriorate the seed, changing the germination and its initial qualities in vigor and health. It is therefore essential seed treatment in the prevention and control of plant pathogens. In recent years, several studies have demonstrated the potential of alternative methods for seed treatment. Induction of resistance is a method that involves the activation of defense mechanisms present in the plant, capable of activating / inducing defense responses. In this sense, the experiment was developed in the laboratory of plant pathology and seeds UTFPR - Campus Two Neighbors, to evaluate the potential of salicylic acid inducers (2.0mm), phenylalanine (2.0mm), potassium phosphite (0.001%) and Acibenzolar-S-methyl (0.005%). The seeds were treated by immersion for 2 minutes with the various inducers and the witness used distilled water. The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications, the plot consists of 50 seeds. After treatment, the seeds were stored for seven days in germinating chamber with 25 ° C temperature (± 1) with 12 hours photoperiod. After the storage period, we evaluated the germination parameters, seedling size and fresh pasta. Still, retired plant material for biochemical analyzes, and total protein, the enzymes phenylalanine ammonia lyase (PAL), chitinase and β -1,3-glucanase. Para in vitro experiment, a completely randomized design, in 4 replications, and the experimental unit consists of a plate. The inducer in the same concentrations of the experimental seed treatment, were added to PDA culture medium and poured into plates Pedri® of 9 cm diameter. Then 3mm diameter disks of mycelium of *Fusarium sp.* were transferred to the center of the plate .. The plates were sealed and incubated in a chamber at 26 ° C with 12 hours photoperiod. The owner? Were performed daily for 6 days until the witness take care of the whole plate. Data were tabulated and submitted to analysis of variance for the variables that present significant regression will be performed with the aid of Assistat® software. The results showed that seed treatment with the various inducers do not interfere on the fisiológicos parameters of the seed. And as resistance induction treatments interfere with the ALP activity, however, do not have stock rises chitinase and β 1,3 glucanase. In vitro, potassium phosphite has control of *Fusarium sp* potential. completely inhibiting the mycelial growth.

Keywords: Forest seeds. Alternative control. Pathogen. Biochemical parameters.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Crescimento Micelial de <i>Fusarium</i> sp. submetido à diferentes tratamentos <i>in vitro</i> . UTFPR –Campus Dois Vizinhos.	27
--	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Germinação, comprimento de plântula e massa fresca em sementes de Angico vermelho tratadas com indutores de resistência e submetidas ao teste de germinação. UTFPR-Dois Vizinhos-PR. 2016.....24
- Tabela 2:** Parâmetros bioquímicas de plântulas de angico branco tratadas indutores de resistência e submetidos ao teste de germinação. UTFPR,Dois Vizinhos.PR.....25
- Tabela 3:** Crescimento Micelial e Índice de Crescimento Micelial de *Fusarium sp.* submetido a diferentes tratamentos *in vitro*. UTFPR-Dois Vizinhos-PR.....27

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS.....	14
1.1.1 Objetivo Geral.....	14
1.1.2 Objetivos Específicos.....	14
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	15
2.1 ANGICO-BRANCO	15
2.2 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	16
2.3 FOSFITO DE POTÁSSIO	18
2.4 ÁCIDO SALICÍLICO (AS)	19
2.5 FENILALANINA	20
2.6 ACIBENZOLAR-S-METILICO - (ASM)	20
3. METODOLOGIA	22
3.1 EXPERIMENTO I – Tratamento de Sementes com os Indutores.....	22
3.2 EXPERIMENTO II – <i>In vitro</i>	24
3.3 ANÁLISES DOS DADOS	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 EXPERIMENTO I - Tratamento de sementes.....	25
4.2 EXPERIMENTO II - Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp.	28
5. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

As sementes florestais desempenham um grande papel nos diversos biomas, sendo o principal método de reprodução das espécies nativas da vegetação brasileira. Nesse sentido podemos destacar *Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan, conhecida popularmente como angico-branco. Pertence à família Mimosaceae é uma espécie arbórea pioneira e de fácil identificação devido ao seu grande porte e tronco com casca escamante, apresentando uma madeira com cor característica avermelhada. Essa espécie ocorre naturalmente ao longo de estradas e em beiras de rio estando presente na Floresta Estacional Semidecidual, na Floresta Ombrófila Mista, Estacional Decidual, Pantanal Mato-Grossense e no Cerradão, onde é dita rara (CARVALHO, 2003).

O interesse na propagação de espécies florestais nativas tem se intensificado devido à ênfase na problemática ambiental, e pela busca da preservação das espécies e da paisagem natural (MORAIS, 2004). Desta forma, as sementes de espécies florestais ganharam importância para a produção de mudas nos viveiros comerciais e público, em consequência da elevada demanda por mudas de qualidades para serem utilizadas em programas de reflorestamento, arborização de vias urbanas e parques, e a recuperação de vegetações perturbadas e degradadas (VECHIATO, 2010).

O conhecimento da biologia de espécies nativas é de fundamental importância para projetos de conservação e proteção de mudas para diversos fins, uma vez que a longevidade da maioria das sementes florestais é curta, sua rápida perda de viabilidade durante o beneficiamento e armazenagem. As sementes de angico não apresentam dormência, no entanto são recalcitrantes e perdem seu vigor com o passar do tempo, além de serem muito depredadas por insetos e fitopatógenos (MARCHETTI, 1984).

As condições ambientais durante o período de armazenamento e as características do lote de sementes, especialmente estado físico, teor de água e inoculo inicial, são determinantes quanto à longevidade do armazenamento e sua viabilidade. Entre os fatores, que prejudicam a qualidade das mesmas, destacam-se os fungos fitopatogênicos, os quais podem vir a deteriorar a semente na sua fase de armazenamento prejudicando o seu poder germinativo futuro, vigor e sanidade, ainda estes podem ser transmitidos por sementes e só iniciam sua atividade na semeadura e podem causar problemas, como redução da população de plântulas ocasionado por doenças como o tombamento pré e pós emergente “damping off”. Assim, é indispensável o tratamento de sementes no controle e prevenção de fitopatógenos.

O tratamento de sementes é um procedimento eficiente no controle de patógenos. O controle de doenças torna-se mais efetivo, econômico e ecológico, quando se utilizam diversas táticas de forma integrada. Dentre estas, a utilização da resistência genética representa um dos métodos de controle eficientes, de fácil acesso aos produtores e econômico, reduzindo, de forma expressiva, os prejuízos com a doença e custos de produção (REZENDE et al.,2005). Ainda como uma alternativa, métodos e produtos naturais vêm sendo utilizados com eficiência no controle de agentes fitopatogenicos. (LUCCA-FILHO,1995).

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa presentes na planta, essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agente biótico, como microrganismo inativado, ou abiótico, como produtos a base de salicilatos, fosfitos, acibenzolar-S-metil, entre outros. Essas moléculas capazes de ativar/induzir qualquer resposta de defesa nas plantas são chamadas de elicitores ou eliciadores (PASCHOLATI, 1994). As interações de plantas a esses indutores são definidas a partir de um reconhecimento, com posterior transdução do sinal externo, ativação de mensageiros secundários e expressão de genes específicos (LEITE et al., 1997).

O ácido salicílico (AS) é um mensageiro secundário endógeno que induz a expressão de genes ligados à resistência, age induzindo a ativação de genes que codificam Proteínas Relacionadas a Patogenicidade (PR-Proteínas) (RESENDE et al., 2000). O principal papel fisiológico atribuído ao AS na planta é o de funcionar como uma molécula sinalizadora, induzindo-a a expressar resistência contra o ataque de predadores. Esta função foi sugerida em decorrência do AS se acumular em plantas submetidas a condições adversas, quer seja por ataque patogênico, quer pelo tratamento da planta com elicitores químicos, e por sua propriedade de induzir a expressão de genes ligados a várias PR-Proteínas (MARTINEZ et al., 2000).

A fenilalanina é um aminoácido, que serve de substrato principal na rota dos fenilpropanóides, sendo transformada em ácido transcinâmico pela ação da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). A FAL é uma enzima chave que esta situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primários e secundários, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ;ZEIGER, 2004). Nesse sentido compreende a primeira enzima do metabolismo dos fenilpropanoides, e tem sido indicada por seu importante papel no controle de acúmulos fenólicos em resposta a infecções (STARCK, 1997).

Dentre as formas alternativas no controle de fitopatogênos tem sido muito pesquisado, com intuito de reduzir custos de produção, diminuindo a quantidade de aplicações de agrotóxicos e assim diminuir os impactos ambientais, produtos a base composto à base de fósforo e macronutriente chamados fosfitos. Tais compostos caracterizam-se por estimular o crescimento das plantas, e possuírem considerável ação fungicida e não serem fitotóxicos

quando utilizados em concentrações adequadas (COFFEY; BOWER, 1984; COHEN; COFFEY, 1986). Hoje já é comprovada, através de estudos a ação dos fosfitos, diretamente sobre o patógeno, e muitas pesquisas vem sendo realizada para estudar a possível ativação de mecanismos de defesa das plantas.

Por mais que se conhece o efeito dos indutores de resistência trabalhos com o uso de AS e fosfitos no tratamento de sementes são limitados, já com o uso da fenilalanina como indutor são inexistentes. Nesse sentido, considerando o potencial dos indutores bem como o problema de danos por fitopatógenos em sementes florestais, estudos que propões métodos alternativos no tratamento de sementes, poderão possibilitar uma melhor qualidade sobre a germinação das mesmas, ativação de mecanismos de defesa e controle de fitopatógenos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial dos indutores ácido salicílico (AS), fenilalanina, fosfito de potássio e acibenzolar-S-metil (ASM) no tratamento de sementes de angico branco.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar o efeito do ácido salicílico (AS), fenilalanina, fosfito de potássio e ASM sobre os variáveis fisiológicos de sementes de angico-branco tratadas com esses indutores;
- Avaliar bioquimicamente a capacidade dos AS, fenilalanina., fosfito e ASM em ativação de rotas metabólicas de defesa vegetal em plântulas de angico branco, provenientes de sementes tratadas com esses indutores;
- Avaliar o efeito fungicida ou fungistático dos indutores sobre *Fusarium* sp. em condições *in vitro*;

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 ANGICO-BRANCO

A *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan espécie arbórea da família Mimosaceae, apresenta porte entre 10 a 20 m de altura e 30 a 60 cm de diâmetro. É uma árvore pioneira secundária inicial, decidual, de 20 a 35m de altura, com copa corimbiforme composta por folhagem verde-escura e de madeira muito pesada, elástica e bastante durável, o que a torna própria para construções rurais (SAKITA;VALLILO, 1990).

O Angico é de fácil identificação devido ao seu porte e os enormes troncos com casca escamante e madeira vermelhada e dura. É uma espécie de crescimento rápido e muito agressiva comum em terrenos abandonados e frequentemente observada nas associações secundárias, ocupando posição importante nas capoeiras e nos capoeirões, apresenta regeneração natural abundante em clareiras abertas na floresta e sob povoamentos implantados. Sendo assim muito utilizada para restauração de áreas degradadas, arborização urbana e para extração de madeira. (BACKES, IRGANG, 2002). Além disso, possui potencial apícola e medicinal, sua madeira apresenta propriedades que a tornam excelente para a construção civil e naval, bem como para a produção de lenha e carvão (CARVALHO, 2003).

Suas sementes medem de 7 a 15 mm de comprimento e 12 a 15 mm de largura, lisa, brilhante, muito comprimida lateralmente, plana e são facilmente extraída da vagem (Longhi, 1995). Apresentam comportamento recalcitrante, perdendo sua viabilidade em pouco tempo, além de serem altamente depredadas por insetos e fitopatógenos. (EIBL et al., 1994).

O período em que as sementes desta espécie se mantêm viáveis após a coleta dificulta sua utilização. A perda da viabilidade ocorre em 60 dias a 120 dias (Marchetti, 1984), quando estocadas em ambientes não controlados. Fowler & Carpanezzi (1998) preconizam que as sementes desta espécie podem ser armazenadas por doze meses em câmara fria, sendo obtida germinação inicial de 100%, armazenadas em câmara fria (4°C e 96% de UR) em saco de plástico, após 12 meses a germinação cai para 90%. (RAMOS, BIANCHETTI, 1984)

As sementes de essências florestais possuem, na sua maioria baixas porcentagens de germinação, pois os microorganismos podem causar anormalidades e lesões nas plântulas, bem como deterioração de sementes. Os maiores problemas ligados a doenças ocorrem durante a

germinação e formação de mudas em viveiro, e são geralmente causados por fungos. (VECHIATO,2010).

2.2 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

As plantas sempre estiveram expostas a fatores do ambiente, como variações em temperatura, umidade e radiação e a agentes biológicos, como fungos, bactérias, vírus, nematoides, insetos e herbívoros. Essa exposição faz com que elas necessitem reagir contra esses estresses. No processo de evolução as plantas desenvolveram mecanismos diferenciados de defesa, acionados quando ocorre a agressão por parte de fungos, bactérias e vírus, traduzindo essa percepção em uma resposta (PIETERSE et al., 2005).

“Na natureza, a resistência é uma regra e a susceptibilidade uma exceção” (AGRIOS, 1997). As plantas podem desencadear a capacidade de reconhecer a invasão de agentes patogênicos e desenvolver mecanismos de defesas contra a ameaça. A resistência natural de plantas a patógenos baseia-se em barreiras e mecanismos de defesa já existentes, independente da chegada do patógeno ao sítio de infecção, que permanecem inativos ou latentes, sendo apenas acionados ou ativados quando expostos a agentes indutores (BONALDO, 2005).

Sendo assim, fica evidente que as plantas não permitem passivamente a entrada do patógeno, pelo contrario elas percebem a agressão, transformando essa percepção em uma resposta, de forma adaptativa (MARGIS-PINHEIRO et al 1999). A resistência da planta a um determinado patógeno é a capacidade que ela desenvolve em atrasar ou evitar a entrada de um microrganismo em seu interior, criando condições adversas que impeçam sua colonização através da ativação de mecanismos de defesa vegetal (PASCHOALATI ; LEITE, 1995).

No processo da interação patógeno-hospedeiro, existe a ativação do sistema de defesa da planta por vários meios, resultando na produção de substâncias tóxicas aos patógenos, impedindo o estabelecimento destes. Alguns compostos produzidos pelas plantas possuem ação antimicrobiana, enquanto outros restringem o desenvolvimento de patógenos pela formação de barreiras estruturais (OLIVEIRA et al., 2001).

A resistência a patógenos é usualmente complexa e os fatores relacionados com as repostas de defesa ocorrem por um conjunto de mecanismos ou barreiras pré-formadas e pós-formadas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Ambas designam o mecanismo pelo qual a planta, após a exposição a um agente indutor, tem seus mecanismos de defesa ativados. Os fatores de resistência pré-formados são aqueles presentes na planta antes do contato com o patógeno. Já os pós-formados, estão ausentes ou em baixo nível antes da infecção, sendo ativados em resposta à presença do patógeno (PASCHOLATI; LEITE, 1994).

De maneira geral, para que os mecanismos de defesa sejam induzidos, a planta desencadeia certos processos, que resumidamente inicia pelo reconhecimento do patógeno, emissão de um sinal primário ou mensageiro que irá desencadear uma série de outros sinais e por fim ativar genes ligados à defesa ou aumento da atividade de enzimas importantes para reações de defesa (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999).

A resposta da planta ao hospedeiro ocorre por meio da ligação de um elicitador a um receptor que está presente na membrana plasmática da parede celular. Com essa ligação ocorre a sinalização e a síntese de compostos de defesa (LABANCA, 2002). O elicitador é definido como uma molécula capaz de induzir qualquer resposta de defesa, essa ativação pode ser obtida por agentes bióticos como microrganismo inativado, ou abiótico, como produtos a base de salicilatos, fosfitos, quitosana, acibenzolar S metil, entre outros. (PASCHOLATI, 1994). Os indutores podem atuar de diferentes formas, porém, sempre levando à ativação do sistema de defesa das plantas.

As plantas também possuem estruturas de defesa constitutiva, que são representadas por ceras, cutículas, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, que tornam a planta naturalmente mais resistente a infecções. Mas também são capazes de produzir substâncias químicas pré-formadas, como fenóis, alcaloides, fitotoxinas, inibidores proteicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Outra resposta de defesa está relacionada à produção de enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular dos fungos, composta do polímero quitina. Com a invasão do fungo na planta, várias hidrolases são produzidas, dentre elas a quitinase e glucanase. Esse grupo de enzimas hidrolíticas é conhecido como proteínas relacionadas à patogênese (PR) (TAIZ; ZEIGER, 2004). Além das enzimas quitina e β -1,3-glucanase, a peroxidase também é ativada com uso de indutores, atuando na oxidação de compostos fenólicos e na lignificação da parede celular (OLIVEIRA, et al., 2001).

As estruturas induzidas, no processo de indução de resistência são formadas de papila, halos, lignificação e camadas de cortiça, tiloses, gomas, além da produção de composto fenólico. (PASCHOLATI; LEITE, 1995)

Com exposição da planta a um agente indutor, a mesma tem seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de infecção, como também, em outros locais distante dele. (STICHER et al., 1997). Atualmente, existe a distinção das formas através das quais esses mecanismos de resistência são induzidos, pode ser do tipo resistência sistêmica adquirida (RSA) ou resistência sistêmica induzida (RSI), sendo fenômenos distintos, embora fenotipicamente semelhantes.

Sendo assim a RSA ocorre de forma localizada ou sistemicamente, em resposta a patógenos que causam lesões necróticas ou em função de aplicação exógena de ácido salicílico ou compostos sintéticos. A resistência sistêmica adquirida é efetiva contra amplo espectro de

patógenos e esta associada à produção de PR proteínas. (VAN LOON; BAKKER; PIERTERSE, 1998). Em contra partida na RSI não há acúmulo de PR, a planta que sofreu indução não exibe alterações, o agente indutor é usualmente um microrganismo não-patogênico e sua indução não é salicilato dependente, parecendo haver uma outra rota de sinalização (STICHER et al., 1997).

Além das barreiras estruturais, diversas barreiras químicas também são formadas quando ocorre a indução de resistência, que levam a ativação de genes que codificam proteínas que apresentam atividades diversas e agem para impedir a invasão do patógeno. Entre as proteínas estão às proteínas-PR, que são um grupo de enzimas sintetizadas em resposta a infecção ou situações de estresse (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999). As proteínas-PR acumulam-se em locais de infecção e em sítios remotos, pode-se dizer que são induzíveis no hospedeiro em resposta à infecção por um patógeno ou por estímulos abióticos, e podem estar correlacionadas com a resistência não específica do hospedeiro ao patógeno (STICHER et al., 1997).

Dentre as principais PR proteínas relacionadas a RSA, destacam-se as quitinases que hidrolisam quitina, principal componente da parede celular de muitos fungos. As B-1,3glucanase, compostos que juntamente com a quitina conferem resistência a parede celular dos fungos. Também as peroxidases e fitoalexinas, que aumentam a resistência a patógenos, e estão envolvidas na formação da parede celular vegetal, na suberização e na lignificação, processo que interfere no desenvolvimento do patógeno (AGRIOS, 2005). A lignina, que esta no grupo dos fenilpropanoides, apresenta função primária e secundária, proporcionando suporte mecânico e pode se depositar e bloquear o desenvolvimento do patógeno (TAIZ; ZEIGER, 2004), e a fenilalanina amônia liase (FAL), que junto com as peroxidases estão diretamente envolvidas no processo de lignificação da parede celular (OLIVEIRA et al., 2001).

Vimos que os mecanismos de defesa das plantas contra fitopatógenos envolvem alterações metabólicas que estão correlacionadas com mudanças na atividade de enzimas chaves nos metabolismos primário e secundário. Assim as duas dessas enzimas chaves o ácido salicílico (AS) e a fanilalanina serão abordados.

2.3 FOSFITO DE POTÁSSIO

Dentre as formas alternativas no controle de fitopatogênos tem sido muito pesquisado, com intuito de reduzir custos de produção e diminuir impactos ambientais o uso de produtos a base de fosfitos. Os fosfitos são compostos derivados do ácido fosforoso que podem se

combinar com elementos potássio, cálcio, magnésio, alumínio, manganês e zinco. Tais compostos caracterizam-se por estimular o crescimento das plantas, possuem considerável ação fungicida (COFFEY; BOWER, 1984; COHEN; COFFEY, 1986) e não serem fitotóxicos quando utilizados em concentrações adequadas.

Um produto que é utilizado no manejo de doenças de plantas, inclusive em espécies arbóreas sendo indicado no controle de oomycetos como *Phytium* spp. e *Phytophthora* spp. e de fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos (MCDONALD et al., 2001). Os sais de fosfito também estão sendo usados com sucesso em doenças causadas por outros fungos como míldio em crucíferas, de maneira dependente da dose utilizada. (BÉCOT et al., 2000).

Quanto ao modo de ação dos fosfitos, alguns autores consideram a sua ação direta sobre o patógeno (FENN; COFFEY, 1984). Também sendo pesquisado quanto a ativação de mecanismos de defesa da planta (SAINDRENAN et al., 1990). Hoje existem varias formulações de fosfito de potássio no mercado brasileiro, entretanto, poucos são os trabalhos que descrevem o seu potencial de ação e controle.

2.4 ÁCIDO SALICÍLICO (AS)

Para que um composto seja dito um sinalizador, é necessário que este seja sintetizado pela planta e aumente significativamente após o ataque de um patógeno ou após o tratamento com um indutor, seja móvel pelo floema e induza a síntese de substâncias de defesa, como as proteínas-PR e aumente a resistência a patógenos (BOSTOCK, 1999).

Os eventos de sinalização levam a produção de mensageiros secundários (AS, FAL entre outros) o que ocasiona a transcrição de genes de defesa e o consequente estabelecimento da resposta de defesa (LEITE et al, 1997). Mensageiros como o ácido salicílico (AS) e a fenilalanina amônia-liase (FAL) terão grande importância para a sinalização, sendo que cada um destes atuara em uma via sinalizadora diferente.

AS é um mensageiro secundário endógeno que induz a expressão de genes relacionados à resistência sistêmica adquirida (RSA), ou seja, expressão de proteínas-PR. (BONALDO et al., 2005), possuindo propriedades ativadores de mecanismos de defesa. De acordo com estudos, é sintetizado na via dos fenilpropanoides, o AS tem o ácido benzoico como precursor. Quando aplicado de forma exógena é capaz de induzir o aumento da síntese do próprio AS nos tecidos vegetais, como também a fenilalanina amônio-liase (FAL), devido ao aumento da atividade de enzimas da via dos fenilpropanoides (BOSTOCK, 1999).

Trabalhos. Realizados, por Murphy et al (2001) relatam que o aumento da concentração de AS nos tecidos vegetais leva a aumento da resistência não só de fungos e bactérias mas também de vírus. Podendo ativar duas rotas diferentes no processo de indução, enquanto uma conferiria resistência a fungos, outra levaria ativação de uma rota alternativa conferindo resistência a vírus. Assim fica evidente que a acumulação de AS é essencial para expressão dos mecanismos de resistência.

2.5 FENILALANINA

A biossíntese de AS nas plantas, assim como o da maioria dos compostos fenólicos depende da biossíntese de fenilalanina que é aminoácido, que serve de substrato principal na rota dos fenilpropanóides, sendo transformada em ácido transcinâmico pela ação da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). A FAL é uma enzima que esta situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primários e secundários, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Nesse sendo, compreende a primeira enzima do metabolismo dos fenilpropanoides, e tem sido indicada por seu importante papel no controle de acúmulos fenólicos em resposta a infecções (STARCK, 1997).

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é a enzima do metabolismo secundário mais intensivamente estudada em plantas, devido à importância nas reações do metabolismo dos compostos fenólicos e estabilidade e facilidade de preparação para os ensaios enzimáticos.

A FAL já foi isolada de algas, fungos e principalmente de plantas superiores, não tendo sido ainda detectada em células bacterianas ou tecidos animais. A enzima FAL esta diretamente ligada à via dos fenilpropanóides, assim a sua atividade ou síntese pode ser aumentada pelo tratamento com elicitores e inibida por fenóis (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008). No entanto estudos com essa enzima ainda são pouco realizados e praticamente inexistentes.

2.6 ACIBENZOLAR-S-METILICO - (ASM)

O ASM comercialmente conhecido como BION 500 WG é um indutor de resistência abiótico de baixa toxicidade desenvolvido pela empresa Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo-SP. Hoje é o único produto que possui registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento como ativador de plantas (ADAPAR, 2016).

O ASM é um produto comercial que já se tem comprovado o seu potencial e eficiência como elicitador de mecanismo de resistência, sendo considerado o primeiro ativador sintético registrado de plantas. Tal indução, já comprovada a diversos patógenos nas culturas de tabaco, tomate, pepino, trigo e *Arabidopsis thaliana* (MAZARO, 2007,)

Acibenzolar-S-metílico (ASM) é um composto sintético, análogo funcional do ácido salicílico, capaz de ativar defesas de plantas como proteínas relacionadas à patogênese, β ,1-3 glucanase e quitinase (KESSMANN et al., 1995). E vem demonstrando aumento da eficiência de muitos fungicidas com a inclusão de ASM no controle químico de doença, reduzindo o número de aplicações dos fungicidas.

3. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitossanidade e no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), no Campus Dois Vizinhos, Paraná (PR). As sementes de angico-branco foram coletadas no mês de agosto do ano 2015, no município de Francisco Beltrão, Sudoeste do Paraná, após a coleta dos frutos, as sementes foram separadas e eliminadas aquelas com danos e lesões. As sementes permaneceram armazenadas em câmara fria, no viveiro municipal de Francisco Beltrão, e acondicionado em embalagens plásticas, vedadas, com temperatura constante de aproximadamente 5° C e 12% de umidade relativa do ar.

Previamente a implantação dos experimentos, foi realizado um teste de sanidade de sementes, onde observou-se a presença de patógenos, entre eles, com maior predominância o *Fusarium* sp. Nesse sentido, foi isolado o *Fusarium* sp. para utilização no experimento *in vitro*.

3.1 EXPERIMENTO 1 – Tratamento de Sementes com os Indutores

As sementes de angico, que já estavam naturalmente com a presença de patógenos, foram tratadas por imersão, por 2 minutos, em solução de ácido salicílico (2,0mM), fenilalanina (2,0mM), fosfito de potássio (0,001%) e Acibenzolar-S-Metil (0,005%). Como testemunha foi utilizada água destilada. Após os tratamentos, as sementes foram dispostas rolos de papel Germitest® e armazenadas por sete dias na câmara germinadora com temperatura de 25°C (±1) com fotoperíodo de 12 horas. Após o período de armazenamento, foram avaliados os parâmetros de germinação, tamanhos de plântulas e massa fresca.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e quatro repetições, sendo a parcela constituída por 50 sementes cada.

A porcentagem de germinação foi calculada com base nas Regras de Análises de Sementes – RAS (BRASIL, 2009, p.399). A avaliação do comprimento de plântula (em centímetro) foi realizada com auxílio de papel milimetrado, conforme proposto por Nakagawa (1999, p.18), onde foram utilizadas 4 repetições com 20 sementes cada. Após as análises de germinação, tamanho e massa matéria fresca as amostras de plântulas foram armazenadas em papel alumínio e congeladas até as avaliações bioquímicas. As amostras foram constituídas de uma mescla entre todas as partes do vegetal (cotilédones ou folhas, talo e raízes).

Nas análises bioquímicas para quantificação de proteínas totais, as amostras das plântulas foram maceradas em almofariz com 10 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado (14.000g / 10min a 4°C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras foi empregado o teste de BRADFORD (1976). A leitura de proteínas totais foi realizada em espectrofotômetro a 630nm, utilizando soro albumina bovina como padrão.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por KUHN (2007), aonde se indica utilizar 0,25g da amostra com mais 3,0mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe e centrifugado por 10 minutos, a 4°C a 6000rpm. Após, uma alíquota de 200µL foi transferida para tubo de ensaio, acrescentando-se mais 3,0mL do tampão de extração. Agitou-se a solução em vórtex, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0mL do tampão de extração e 0,5mL de fenilalanina. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim serem realizadas a leitura em espectrofotômetro a 290nm.

Para a quantificação das atividades de quitinase e β -1,3-glucanase as amostras foram maceradas em 2,0mL de tampão acetato 100mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000g por 25 min, a -4°C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas. A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de fragmentos solúveis de “CM-chitin-RBV”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta. Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato solução de carboximetilcurdlan-remazol azul brilhante (CM-Curdlan-RBB 4 mg.ml⁻¹, Loewe Biochemica GmbH), de acordo com metodologia desenvolvida por WIRTH E WOLF (1992) e com o procedimento descrito por GUZZO (1996).

3.2 EXPERIMENTO II – *In vitro*

Os isolados fúngicos de *Fusarium* sp. foram obtidos de isolamento prévio de sementes de angico, em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e mantidos a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h de luz. Para o experimento *in vitro*, o delineamento experimental inteiramente casualizado, em 4 repetições, sendo a unidade experimental composta por uma placa. Os indutores, nas mesmas concentrações do experimento do tratamento de sementes, foram adicionados ao meio de cultura BDA e vertidos em placas de Pedri[®] de 9 cm de diâmetro. Em seguida discos de 3mm de diâmetro de micelio de *Fusarium* sp. foram transferidos para o centro da placa.. As placas foram fechadas, e incubadas em BOD à 26°C com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente, por 6 dias, até a testemunha tomar conta de toda a placa.

3.3 ANÁLISES DOS DADOS

Os dados foram tabulados e submetidos a análise de variância, para as variáveis que apresentarem significância será realizado o teste de Tukey ($p=0,05$) com o auxílio do *software* Assistat[®]

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO I - Tratamento de sementes

Os resultados demonstraram que o tratamento de sementes com os diferentes indutores não interferiu sobre as variáveis fisiológicas das sementes (Tabela 1). Tal resultado é positivo, considerando que os produtos avaliados não causaram danos nas plântulas, o que poderia ser um limitante no tratamento de sementes, como citado por Pascholati (1999) efeitos colaterais de indutores de resistência podem, em alguns casos afetar negativamente a fisiologia da planta, uma vez que, acredita-se que a ativação de rotas de defesa possam causar perda energética para a planta.

Tabela 1: Germinação, comprimento de Plântula e massa fresca em sementes de angico tratadas com indutores de resistência e submetidas ao teste de germinação, após 10 dias em câmara de germinação. UTFPR-Dois Vizinhos-PR.

Tratamentos	Germinação (%)	Comprimento de Plântula (cm)	Massa Fresca (g)
Testemunha	92.5* ^{NS}	7.67230 * ^{NS}	2.94000* ^{NS}
Bion	86.1	7.58924	2.24250
As	88.5	7.22226	2.27500
Fenilalanina	86,2	7.40424	2.62750
Fosfito	95,1	7.95584	2.50750
CV%	4.73	11.02	12.81

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. *NS não significativo pelo teste Tukey, com 95% de significância. **Fonte: O Autor, 2016.**

Em relação as variáveis bioquímicos, os tratamentos não demonstraram efeito sobre as proteínas totais, atividade da quitinase e β 1,3 Glucanase. Ocorreu interferência somente sobre a atividade da enzima FAL (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros bioquímicas de plântulas de angico tratadas indutores de resistência e submetidos ao teste de germinação. UTFPR – Dois Vizinhos.

Tratamento	Proteína (mg.g-1 de tecido)	FAL (UAbs/minmg prot)	Quitinase (uni enzimática/min/ mg/protéina)	Glucanase (uni enzimática/min/ mg/protéina)
Testemunha	6,701879 ^{ns}	0,020416 a	0,0468787 ^{ns}	0,0021926 ^{ns}
Fosfito	6,057188	0,011279 ab	0,0758765	0,0019627
Fenilalanina	6,874922	0,014606 ab	0,0675233	0,0013083
AS	7,836349	0,006313 b	0,0428196	0,0017774
ASM	7,808526	0,009883 ab	0,0390069	0,0020746
CV(%)	11.62	21.09	19.10	24.60

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. *NS não significativo pelo teste Tukey, com 95% de significância. **Fonte: O Autor, 2016.**

Tais resultados demonstram que os indutores avaliados apresentam reduzida ação de indução de resistência quando aplicados em sementes de angico branco. Outro fator que pode ser considerado, é que as análises bioquímicas foram realizadas somente no final do experimento, com 7 dias, sendo que pode ter ocorrido atividade de indução em período anterior ao término do experimento, desta forma não foi possível quantificar tal ação indutora.

Outro fator que pode ter interferido é o tempo de embebição das sementes na solução de indutores, quando comparado com outros trabalhos como, desenvolvido por Cruz et al.(2014) testando AS em sementes de beterraba, deixando as imersas por 20 minutos na solução, obteve se a ativação da enzima β -1,3-glucanase, e também por Bertoncetti et al.(2016), onde as sementes de beterraba foram tratadas com AS, durante 5 minutos, também obtendo a ativação da enzima β -1,3-glucanase.

Tais avaliações bioquímicas, como a atividade da FAL, quitinase e β -1,3 glucanase, são fundamentais na avaliação de atividade indutora. A quantificação da FAL nos permite verificar se ocorreu a ativação da rota dos fenilpropanóides, para formação de compostos fenólicos, envolvidos na defesa vegetal, como fitoalexinas, lignina, entre outros (SILVA, 2007, p.97)..

Ainda a quantificação das enzimas quitinase e β -1,3 glucanase, demonstra a ativação de rotas de produção de enzimas hidrolíticas, capazes de hidrolisar a parede celular de fungos. No caso, em estudo o *Fusarium* sp, um ascomiceto rico em quitina e glucana na parede celular.

Diferente dos resultados obtidos nesse experimento, outros trabalhos, demonstraram o potencial dos fosfitos, ASM e AS na indução de resistência, ativando defesas vegetais quando as sementes foram tratadas com os indutores.

Na maioria das pesquisas se confirma a ação direta do fosfito contra patógenos e também em alguns estudos, que o fosfito também teria uma ação indireta e preventiva, induzindo a resposta de defesa na planta. Em trabalhos realizados por Dalacosta et al (2014), testando fosfito de potássio em sementes de beterraba, se obteve aumento da enzima FAL e ativação de β -1,3-glucanase, já as quitinases não apresentaram diferença significativa. E também trabalho realizado por Muller (2015) tratando semente de soja com fosfito de potássio, o mesmo exerceu influencia na quantificação de atividade da FAL e β -1,3-glucanase.

Outro indutor com grande potencial, e muito estudado é o acibenzolar-S-methyl (ASM), é comprovado que o mesmo ativa mecanismos de defesa, como demonstrado em trabalho desenvolvido por Boski (2003), onde ocorreu a ativação dos mecanismos de defesa promovidas pelo ASM envolve o aumento na atividade de determinadas proteínas (proteínas PR), como β -1,3-glucanases. Bertonecelli et al. (2014) ao tratarem sementes de soja com Acibenzolar-S-metil, observaram que na concentração máxima utilizada (20,0 g. i.a./100 L) houve aumento da atividade da FAL, não havendo resultados igualmente positivos para quitinases e β -1,3 glucanase. Dallagnol et al.(2006) também demonstraram o efeito da utilização de ASM associado a fungicidas, indicando que este produto também pode aumentar a eficiência de controle das doenças foliares, quando aplicado antes do surgimento dos sintomas da doença.

O ácido salicílico (AS), é um mensageiro secundário que induz a expressão de genes relacionados à resistência sistêmica adquirida (RSA), ou seja, expressão de proteínas-PR. (BONALDO et al.,2005). Em trabalho desenvolvido por Bertonecelli et al.(2016) quando aplicando ácido salicílico (AS) em sementes de beterraba, ativou a enzima β -1,3-glucanase, e na concentração de 2mM obteve os melhores resultados. Da mesma maneira que observado por Cruz et al (2014). Porém em trabalhos desenvolvidos por Lewandowski et al (2014), aplicando AS em sementes de pepino não obteve se a ativação das enzimas quitinases, β 1,3 glucanase e FAL.

4.2 EXPERIMENTO II - Crescimento micelial de *Fusarium* sp.

Os resultados demonstraram que o fosfito de potássio inibiu totalmente o crescimento micelial de *Fusarium* sp. em condições *in vitro*. Ainda os indutores ASM e fenilalanina não diferiram da testemunha. (Tabela 3 e Figura 1).

Tabela 3: Crescimento Micelial e Índice de Crescimento Micelial de *Fusarium* sp. submetido a diferentes tratamentos *in vitro* após seis(6) dia em BOD. UTFPR-Dois Vizinhos-PR.

Tratamento	Crescimento Micelial	Índice de Crescimento Micelial
Testemunha	7.33 a	2.09 a
Fenilalanina	6.98 ab	1.99 ab
AS	6.57 ab	1.87 b
ASM	5.51 b	1.57 c
Fosfito	0.0 c	0.0 d
CV%	8,20	4,02

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade..

Fonte: O Autor, 2016

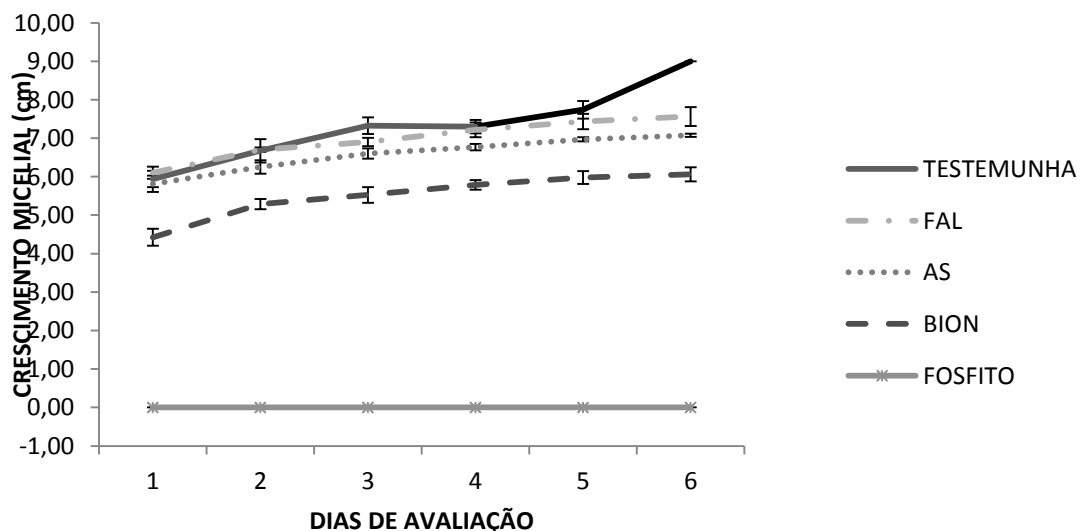


Figura 1: Crescimento Micelial de *Fusarium* sp. submetido a diferentes tratamento *in vitro*. UTFPR-Dois Vizinhos-PR. Fonte: O autor, 2016.

O efeito diretos dos indutores sobre patógenos é algo importante, pois pode inviabilizar o mesmo, em processo anterior a infecção de sementes.

O efeito *in vitro* de indutores sobre patógenos já foi observado com o uso de fosfitos, como no trabalho desenvolvido por Caixeta et al (2012) avaliando diferentes

concentrações de fosfito de potássio no controle dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli* e *Sclerotinia sclerotiorum*, observou que houve inibição quase total do crescimento micelial do fungo, e menor velocidade no crescimento nas maiores concentrações utilizadas (0,5 µL mL). No entanto já foi confirmado por Araujo et al.(2008) ,que os fosfitos se comportam diferentemente para cada fungo, onde poderão ter ação fungistática ou fungicida de acordo com a dosagem e o fungo testado. Dalacosta, et al. (2014) trabalhando com diferentes concentrações de fosfito sobre crescimento micelial de *Fusarium sp* e *Rhizoctinia solani sp in vitro*, observaram que o aumento das concentrações no meio, reduziu o crescimento micelial dos patógenos em estudo.

O modo de ação direto e indireto dos fosfitos sobre *Phytophthora cinnamomi* foi relatado por Jackson et al. (2000), onde esses, em altas concentrações, atuaram como inibidores diretos do patógeno e em baixas foram capazes de estimular a produção de enzimas de defesa do hospedeiro. Guest (2006) relata que ocorrer duas formas de ação dos fosfitos, podendo ser expressa de forma indireta, pela indução de resistência na planta (formação de fitoalexinas) ou pela ação direta sobre patógenos, inibindo o crescimento micelial e esporulação

Essa ação direta dos fosfitos também já foi descrita por Ribeiro Junior et al (2006) e OUIMETTE; COFFEY, 1989). E por Muller (2015) observou redução do crescimento micelial para os fungos *Fusarium semitectum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, mas não afetou para *Pythium sp*. Em trabalho semelhante realizado por Dalacosta et al (2014), testou fosfito de potássio no controle in vitro de *Fusarium sp in vitro*, onde a aplicação também apresentou um efeito fungistático do fungo.

Em relação ao efeito do ASM *in vitro* trabalho desenvolvido por Guzzo et al (2001), observaram que o ASM não possui ação antimicrobiana direta aos patógenos, mas sim a capacidade de induzir expressões genéticas de resistência formando compostos que interferem negativamente sobre a infecção e o desenvolvimento dos patógenos. Assim como em trabalho realizado por Dinis et al. (2012), a aplicação do ASM não interferiu sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum* em nenhuma das concentrações avaliadas.

Em relação ao AS, Lewandowski et al. (2014) também não observou efeito sobre crescimento de *Pythium sp. in vitro* em diferentes concentrações ácido salicílico no meio de cultura. O AS atuou no controle de *Fusarium sp in vitro* e apresentou ação fungitóxica, com supressão do crescimento micelial. (Bertoncelli et al, 2016) . Para Zheng (2006), que trabalha com ácido salicílico e leveduras contra *Penicillium expansum* demonstrou que o ácido salicílico apresenta efeito fungicida sobre o fungo quando aplicada a concentrações maior do que 0,6 mM.

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que o tratamento de sementes com os diferentes indutores não interfere sobre os parâmetros fisiológicos das sementes. E quanto a indução de resistência os tratamentos interferem na atividade da FAL, no entanto, não apresentam ação sobre a quitinase e β 1,3 glucanase. Em condição *In vitro* o fosfito de potássio apresenta potencial de controle de *Fusarium* sp. inibindo totalmente o crescimento micelial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. Associação Brasileira de Produtos de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico**: ano base 2008. Brasília, 2009. 120 p.

AGRIOS, George. **Patologia de Plantas**. 4 ed. San Diego: Academic. 1997.

ALFENAS, Acelino Couto. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 442p.

ALFENAS, Acelino Couto; MAFIA, Reginaldo Gonçalves. Controle integrado de doenças em viveiros clonais e aspectos relativos à ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira** 28:156-163. 2003.

ALVARES, Clayton Alcarde et al. ppe's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*. V. 22, n. 6, p. 711-728. Jan. 2013. 717 p.

ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J.; BORSATO, L. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Trop. plant pathol.**, Brasília, v. 33, n. 2, abr. 2008.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul. Guia de identificação & interesse Ecológico. As principais espécies nativas Sul-Brasileiras**. Santa Cruz do Sul. Instituto Souza Cruz, 2002. P 2002-2003

BACKES, Paulo; IRGANG, Bruno. **Árvores do sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2009. 332p.

BARREIROS, SOUZA. H; SOUZA, da Silva.E. Notas Geográficas e Taxonômicas sobre *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. no Brasil (Meliaceae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 46, n.1, p. 17-26, 1986.

BERTONCELLI, D. J. ; MAZARO, S. M. ; ROCHA, R. C. D. S. DALACOSTA, N. L, LEWANDOWSKI, A, JUNIOR, A. W. **Ácido salicílico na indução de resistência ao tombamento de plântulas de beterraba e atividade antifúngica contra Fusarium sp., in vitro**. Ciências Agrárias. Ciências Agrárias, Londrina, v. 37, n. 1, 2016.

BERTONCELLI, D.J.; ROCHA, R.C.D.S.; MAZARO, S.M.; DALACOSTA, N.L.; LEWANDOWSKI, A.; WAGNER-JUNIOR, A.; BORSATTI, F.C. Tratamento de sementes com Acibenzilar-S-metilico e o efeito sobre *Pythium spp. in vitro*. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos. **Anais...** Maringá, 2014.

BETTIOL, Wagner; MORANDI, Marcelo A. B; Biocontrole de Doenças de Plantas – Uso e Perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariuna (SP) n. 1, p139-150, 2009.

BOKSI, A.I.; Morris, S.C.; Deverall, B.J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on 1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology**, Bangor, v.52, p.22- 27, 2003.

BONALDO, Solange M. ; Schwan-Estrada, Kátia R. F.; Stangarlin José R.; Tessmann, Dauri J.; Scapim, Carlos A. Fungitoxicidade, Atividade Elicitora de Fitoalexinas e Proteção de Pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo Extrato Aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**. Piracicaba (SP), v. 1, n. 29, p. 128-135, 2003.

BONALDO, Solange. M. Controle alternativo de doenças de plantas por indutores de resistência em plantas. in: congresso paulista de fitopatologia, XXXVI, 2013, São Paulo. **ANAIS...** São Paulo, 2013. p 1-3

BONALDO, Solange. M. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, Piracicaba: FEALQ, p. 11-28, 2005.

BOSTOCK, Richard.M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55, p. 99-109, 1999.

BRADFORD, Marion M.; A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando (Fl), v. 72, p. 248 - 254, 1976.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. p. 399, 2009

CAIXETA, A. O. ; VIEIRA. B.S. ;CANEDO. E.J; **Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro**. Revista do Centro Universitário de Patos de Minas., UNIPAM, (3):35-43, nov. 2012.

CARNEIRO, Sandoval Jr. Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.557-566, 1986.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: EMBRAPA/CNPR, Brasília: EMBRAPASPI, v.1, 2003. 1039 p. il.

COFFEY, M.D.; BOWER, L.A. In vitro variability among isolates of eight Phytophthora species in response to phosphorous acid. *Phytopathology*, v.74, p.738-742, 1984.

COHEN, M.D.; COFFEY, M.D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, v.24, p.311-338, 1986.

COLARES, Mario. R. N.; BONALDO, Solange. M.. Uso de biofertilizantes na indução de resistência em plantas a patógenos. in: schwan-estrada, k. r. f.; silva, c. m. da; maia, a. j.; farias, c. m. d. r.; colella, j. c. t. **indução de resistencia em plantas a patogenos**. Maringá: Suprema Gráfica & Editora Ltda, 2014. Cap. 3. p. 56-57.

CORDEIRO, Maria Cristina Rocha.. Biotecnologia e resistência a patógenos. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 2, n. 10, p. 34-39, 1999.

COSTET, L., CORDELIER, S.; DOREY, S.; BAILLIEUL,F; FRITIG,B.; KAUFFMANN, S. Relationship between localized acquired resistance (LAR) and the hypersensitive response (HR). **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v 12, n.8, p 655-662, 1999;

COT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Phytogard (K₂HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Surrey, v. 19, p. 417-425, 2000.

CRUZ, Mycheli Preuss ;ROCHA,Rita Dosciatti Serrão .; BERTONCELLI, Douglas Junior.; LEWANDOWSKI, Adriano.; REY, Maristela . BUSO, Cleverson ;MAZARO, Sérgio. Miguel. **Ácido salicílico na indução de resistência em plântulas de beterraba e sobre fusarium sp in vitro**. In: VII Reunião Brasileira de Indução de Resistência em Plantas e Patógenos, 2014, Maringá. Indução de Resistência em Plantas e Patógenos, 2014.

DALACOSTA, Nean Locatelli.; MAZARO, Sérgio Miguel .;ROCHA, Rita Dosciatti Serrão; BERTONCELLI, Douglas Junior.; LEWANDOWSKI, Adriano.; ZORZZI, Ivan.; CRUZ, Mycheli Preuss. Fosfito de potássio na indução de resistência em plântulas de tomate e sobre *Rhizoctonia solani in vitro*. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos. **Anais...** Maringá, 2014b.

DALACOSTA, Nean Locatelli.; ROCHA, Rita Dosciatti Serrão.; BERTONCELLI, Douglas Junior .; MAZARO, Sérgio Miguel .; LEWANDOWSKI, Adriano.; ZORZZI, Ivan.; BORSATTI, F.C.; PADILHA, Matheus Fosfito de potássio na indução de resistência em plântulas de beterraba e sobre *Fusarium sp. in vitro*. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos. **Anais...** Maringá, 2014a.

DALLAGNOL, L.J., NAVARINI, L., UGALDE, M.G., BALARDIN, R.S., CATELAM, R. Use of Acibenzolar-S-Methyl to control foliar diseases of soybean. **Summa Phytopathologica**, v.32, n.3, 2006.

DANIEL, R. GUEST, D.I. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.67, n.1, p. 194-201. London, 2006.

DEBONA, D., FIGUEIRÓ, G.G., CORTE, G.D., NAVARINI, L., DOMINGUES, L.DA S., BALARDIN, R.S., **Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja**. Summa Phytopathologica, v.35, n.1, , 2009

DINIZ, N. B. ; PAZ, D. S. ; SARDINHA, D.H.S, PEREIRA, T.S. ; RODRIGUES, A. A. C. **Influência in vitro de asm e agro-mos sobre o crescimento micelial de Fusarium oxysporum associado a flores tropicais. 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM, 2012.**

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.

FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Fosetyl-Al and Phosphorous acid. *Phytopathology*, v.74, p.606-611, 1984.

ORLACH, GJ.; VOLRATH, S.; KNAUFBEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell*, v.8, 1996.

GUEST, D.I, GRANT, B.R. “**The complex action of phosphonates anti-fungal agents**”, **Bio- cal Review**, 157, 1991.

GUZZO, Sylvia Dias.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144. 1996.

GUZZO, Sylvia Dias; MARTINS, Eliane Maurício Furtado. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileiavastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, , 1996.

HACK, Cristiano.; LONGHI, Solon Jonas.; BOLIGON, Alexandra Augusti.; MURARI, Augusto Bolson.; PAULESKI, Dalva Teresinha. Análise fitossociológica de um fragmento de

floresta estacional decidual no município de Jaguari, RS. **Ciência Rural** 2005; 35(5): 1083-1091.

JORRIN, J.; DIXON, A. Stress responses in alfafa (*Medicago sativa* L.). Purification characterization, and induction of phenylalanine ammonia-lyase isoforms from elector-treated cell suspension cultures. **Plant Physiology**, v.92. 1990.

KESSMANN H, Ryals J, Stausb T, Oostendorp M, Aha Goy P, Hoffmann CJ, Friedrich L, Delaney T, Lawton K, Ryals L, Weymann K, Ligon H, Vernoi B, Uknes S (1995) CGA245704: Mode of action of new plant activator. In: International Plant Protection Congress, Proceedings... The Hague The Netherlands. ISPP

KLEIN, Ruben. M. Meliáceas. In: **Flora Ilustrada Catarinense**. R. Reitz (ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1984.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007

KUNIYOSHI, Yoshiko Saito. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com araucária**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1983. 233p. Tese Mestrado.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharmyces cerevisia*: atividade como indutores de resistência em pepino (*cucumis sativus*) contra *colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. 2002.118p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

LEITE, Breno.; RONCATTO. L. D.B.; PASCHOLATI, Sérgio Florentino. LAMBAIS, M. R. Reconhecimento e transdução sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. V 5, p 235-280, 1997.

LEWANDOWSKI, Adriano. ; BERTONCELLI, Douglas Junior. ; ROCHA, Rita. Rita Dosciatti Serrão. ; DALACOSTA, Nean Locatelli. ; MAZARO, Sérgio Miguel. ; BUSSO, Cleverson. ; POSSENTI, Jean Carlos. . **ÁCIDO SALICÍLICO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLÂNTULAS DE PEPINO E O EFEITO SOBRE *Pythium* sp. IN VITRO**. In: VII Reunião Brasileira de Indução de Resistência em Plantas e Patógenos, 2014, Maringá. Indução de Resistência em Plantas e Patógenos, 2014. p. 32.

LONGHI, R. A.; MARQUES, S. E.; BISSANI, V. Época de colheita, tratamento de sementes e métodos de semeadura utilizados no viveiro florestal de Nova Prata. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 5., 1984, Nova Prata. **Anais...** Nova Prata: 1984. v.2, p.533-553.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, 2002, 368p.

LUCCA-FLHO, Orlando Antônio. Curso de tecnologia de sementes. Brasília: **ABEAS**,1995. 53p.

MARCHETTI, E.R. Época de coleta, semeadura, tratamento pré-germinativo e métodos de semeadura de espécies florestais cultivadas no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 5., 1984, Nova Prata. **Anais**. Nova Prata: Prefeitura Municipal de Nova Prata, 1984. v.2, p.524-532.

MARCHETTI, E.R. Época de coleta, sementeira, tratamento pré-germinativo e métodos de sementeira de espécies florestais cultivadas no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 5., 1984, Nova Prata. Anais. Nova Prata: Prefeitura Municipal de Nova Prata, 1984. v.2, p.524-532.

MARGIS-PINHEIRO, Marcia.; SANDRONI, M.; LUMMERZEIN, M.; OLIVEIRA, D. A Defesa das plantas contra as doenças. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, 2008 v.25, n 147

MATSUNO, Hiroshi; URITANI, Ikuzo. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v.23, p.1091-1101, 1972

MAZARO, Sergio Miguel . **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. 2007. 105p. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Agronomia (área de concentração em Produção Vegetal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

MAZARO, Sergio Miguel; CITADIN, Idemir; GOUVÊA, Alfredo de; LUCKMANN, Daiane; GUIMARÃES, Sabrina Santos. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**. Santa Maria (SC), v. 38, n. 7, p. 1824-1829, 2008.

McDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, n. 10, p. 1505–1519, 2001.

MÉTRAUX, J.P. **Sistemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge**. **European Journal of Plant Pathology**, v 107,n.1, p.13-18, 2001.

MONTEIRO, M. J.; Almeida, C. F. C. B. R.; Albuquerque, U. P.; Lucena, R. F. P.; Florentino, A. T. N.; Oliveira, R. L. C. (2006), *Use and traditional management of Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan in the semi-arid region of northeastern Brazil*. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 1-7.

MORAES, Walkiria . B. C. Controle alternativo de fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27, S/N: 175-190. abr. 1992.

MULLER,I. **Indução de resistência e tratamento de sementes de soja com fosfitos de potássio**. Tese. (Mestrado em Agronomia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná,Pato Branco,2015.

MUNIZ, Marlove Fátima Brião; SILVA, Lorenzo Melo e; BLUME, Elena, Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes, Campinas**, v. 29, n. 1, p. 140-146, 2007.

MURPHY, J.F.; GILLILAND, A.; WONG, C.E; WEST, J.; SINGH, P., CARR, J.P. Signal transduction in resistance to plant viroses. **European Journal of Plant Pathology**, v 107, n.1. 2001.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina (PR), n. 2. 1999.

NOJOSA, G. B.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, 2006. 263 p

OUIMETTE, D.G.; COFFEY, M.D. Comparative antifungal activity of four phosphonate compounds against isolates of nine Phytophthora species. *Phytopathology*, v. 79, p.761-767, 1989.

PASCHOALI, Sérgio Florentino.; LEITE, Breno. **Hospedeiros: mecanismos de resistência.** In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 3.ed. São Paulo: CERES, 1995. V 1.

PASCHOLATI, Sérgio Florentino., Bioquímica fitopatológica e indução de resistência. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, v.24, supl., p.241, 1999

PASCHOLATI, Sérgio Florentino. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos.** Piracicaba, 1998. 123p. Tese de Livredocencia. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PASCHOLATI, Sérgio Florentino. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos.** Piracicaba, 1998. 123p. Tese de Livredocencia. Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PASCHOLATI, Sérgio Florentino.; LEITE, Breno. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 2, p. 1-51, 1994.

PIETERSE,C.M.J; VAN PELT,J.A; VAN WEES,S.M.; TON,J.;VERHAGEN, B.W.M.; LEON-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OSSTEN, V.; POZO, M.; PIZO, Dispersão e predação de sementes de *Cabralea canjerana* (Meliaceae) em duas áreas de mata do Estado de São Paulo. In: **Anais do Congresso Nacional de Botânica**; 1995; Ribeirão Preto, SP. p. 167

PIVETA, G.; MUNIZ, M.F.B. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de angicovermelho (*parapiptadenia rigida benth.*) durante armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 16 ,2005, Foz do Iguaçu. CD... ABRATES, 2005.

RAMOS, A.; BIANCHETTI, A. Influência da temperatura e do substrato na germinação de sementes florestais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL: MÉTODOS DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE SEMENTES E MUDAS FLORESTAIS, 1984, Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1 IUFRO, 1984. p.252-276.

RESENDE, M. L. V. ; CAVALCANTI, F. R. ; SANTOS, F. S ; AMARAL, Daniel Rufin ; JUNIOR, P.M. R. ; COSTA, J. de C. Do B. ; CAMILO, F. R. . **Novos indutores de resistência contra doenças em cafeeiro, cacaueteiro, algodoeiro e tomateiro: perspectivas de utilização (Cap. 8).** In: Universidade Federal de Viçosa. (Org.). (Org.). *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos*. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2007, v. 1.

RIBEIRO JUNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PADUA, M.A. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* em mudas de cacaueteiro. *Ciência Agrotécnica*, v.30, p.629-636, 2006.

RIZZINI, Carlos Toledo. **A germinação de *Cabralea canjerana* (Meliaceae).** *Leandra*, Rio de Janeiro, v.6/7, n.7. 1977.

RIZZINI, Carlos Toledo. **Árvores e madeiras úteis do Brasil. Manual de dendrologia brasileira.** São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 1971.

RODRIGUES, Antônia Alice Costa; NETO, Egídio Bezerra; COELHO, Rildo Sartori Barbosa. Indução de Resistência a *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: Eficiência de Indutores Abióticos e Atividade Enzimática Elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, Recife (PE), v. 31, n.5, p. 492-499, 2006.

SAINDRENAN, P.; BARCHIETTO, T.; BOMPEIX, G. Effects of phosphonate on the elicitor activity of culture filtrates of *Phytophthora cryptogea* in *Vigna unguiculate*. *Plant Science*, v.67, p.245-251, 1990.

SAKITA, M.N.; VALLILO, M.I. Estudos fitoquímicos preliminares em espécies florestais do Parque Estadual do Morro do Diabo, Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.2, n.2. 1990.

SANTOS, Fabiana Silva dos. Biometria, germinação e qualidade fisiológica de sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. Dc.) Standl. provenientes de diferentes matrizes. Jaboticabal (SP), p.1-57, 2007.

SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; STANGARLIN, José Renato; CRUZ, Maria Eugênia da Silva. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; STANGARLIN, José Renato; CRUZ, MARIA Eugênia Da Silva. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 12, 1997.

SILVA, Ricardo Ferrari; PASCHOLATI, Sérgio Florentino; BEDENDO, Ivan Paulo. **Indução de resistência em plantas de berinjela por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*: aspectos bioquímicos e biomassa vegetal**. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, Piracicaba, SP. 2008

SILVA, Danielle Mariana. M.H; BASTOS, Cleber N. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de *Piper* Sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Macapá (AP), p. 143-145, 2007.

SILVA, J.L. Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*, *Vernonia polyanthes* e fosfito de potássio no controle da antracnose do feijoeiro. **Dissertação** (mestrado). 76p, Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2013.

SILVA, Paulo Henrique Müller da; BRITO, José Otávio; JUNIOR, Francides Gomes da SILVA, R. A. da; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. **Defesa de plantas contra o ataque de patógenos**. (Documentos/ Embrapa Agrobiologia, ISSN 1517-8498; 250). Seropédica-RJ: 2008. 56 p.

SINGH, K.V.; SHUKLA, N.P. Activity on multiple resistant bacteria of garlic (*Allium sativum*) SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, n. 9, p. 921–926, Sept. 1989

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. 639 p
SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNEEF, A.; HALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na

rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v 13, 2005.

STANGARLIN, José Renato.; KUHN, Odair Jose.; SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas . Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.16. 2008.

STEFFEN, Ricardo Bemfica. Óleo essencial de eucalipto como bioestimulador da micorrização e do estabelecimento de mudas de eucalipto e sibipiruna em solo contaminado com cobre. **Tese de Doutorado**. p. 229, 2010.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J.P. **Systemic acquired resistance**. **Annual Review of Phytopathology**, Gainesville, v.35.1997.

TAZI, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2004. 721 p cap.13.

TRIGIANO, Roberto N.; WINDHAM, Mark T.; WINDHAM, Alan S. Fitopatologia: Conceitos e Utilização de Acibenzolar-S-Methyl para Controle de Doenças Foliares da Soja

VAN LOON, L.C; VAN STRIEN,E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55,1999.

VECHIATO, M.H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm>.

VENTUROSO, Luciano dos Reis ; BACCHI, Lilian Maria Arruda; GAVASSONI, Walber Luiz; CONUS , Lenita Aparecida; PONTIM, Bruno Cesar Alvaro; BERGAMIN, Anderson Cristian. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathol.**, Botucatu (SP) , v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VITTI, Andrea M. Silveira; BRITO, José Otávio. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos WENDLING**, Ivar; FERRARI, Márcio Pinheiro; GROSSI, Fernando. Curso intensivo de viveiro e produção de mudas. Documentos 79. Colombo: **EMBRAPA** - CNPF, 2002, 48p.

WIELEWSKI, Patrícia; AUER, Celso Garcia; JUNIOR, Albino Grigoletti. Levantamento de doenças em ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha*) em Curitiba, PR. **Revista Floresta**. Curitiba (PR), p.277-281, 2002.

ZAMBONELLI A, DAULERIO AZ, BIANCHI A, ALBASINI A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **J Phytopathol**, p. 491-494, 1996.