

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
CURSO DE AGRONOMIA**

LETÍCIA CÂMARA VIEIRA

**TRATAMENTO ALTERNATIVO DE SEMENTES DE BETERRABA COM
INDUTORES DE RESISTÊNCIA**

**CHAPECÓ
2021**

LETÍCIA CÂMARA VIEIRA

**TRATAMENTO ALTERNATIVO DE SEMENTES DE BETERRABA COM
INDUTORES DE RESISTÊNCIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dra. Vanessa Neumann Silva

CHAPECÓ
2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Vieira, Leticia Câmara
Tratamento alternativo de sementes de beterraba com
indutores de resistência / Leticia Câmara Vieira. --
2021.
63 f. : il.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Vanessa Neumann Silva
Co-orientadora: Prof.ª Dr.ª Paola Milanesi
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Chapecó, SC, 2021.

1. Indutores de resistência. 2. Qualidade
fisiológica. I. Silva, Vanessa Neumann, orient. II.
Milanesi, Paola, co-orient. III. Universidade Federal da
Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

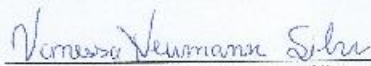
LETÍCIA CÂMARA VIEIRA

**TRATAMENTO ALTERNATIVO DE SEMENTES DE BETERRABA COM
INDUTORES DE RESISTÊNCIA**

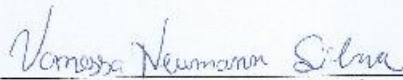
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Agronomia da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Agronomia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 21/09/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Vanessa Neumann Silva – UFFS
Orientadora



Prof. Dr. Siumar Tironi – UFFS
Avaliador



Prof. Dr. Paulo Roger L. Alves – UFFS
Avaliador

Dedico este trabalho aos meus familiares,
amigos e professores que contribuíram na
minha formação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Agradeço aos meus pais e família, que sempre me apoiaram e incentivaram e ajudaram na minha caminhada durante o período de graduação.

A minha orientadora Dr. Vanessa Neumann Silva pelos ensinamentos, tempo dedicado aos projetos, pela oportunidade de trabalho e por me auxiliar como orientadora.

Aos meus colegas de laboratório por me auxiliarem no desenvolvimento desse experimento, sem os quais dificultaria a realização deste.

Ao laboratório de Fitopatologia do *campus* Erechim, pela disponibilidade de realização das análises bioquímicas, em especial a Dr. Paola Milanesi e orientada Júlia Andrade. Agradeço pela oportunidade, ensinamentos e ajuda no desenvolvimentos das análises.

Agradeço a todos os professores, pelos ensinamentos e conhecimentos repassados, as quais foram importantes para construção do meu conhecimento.

Aos meus amigos, colegas e familiares pelo apoio e ajuda.

A injustiça em qualquer lugar é uma ameaça à justiça em todo lugar (Martin Luther King).

RESUMO

Para garantir sementes e mudas com alta qualidade fisiológica e sanitária resultando em um estande de plantas uniforme e livre de patógenos prejudiciais, procedimentos que possam melhorar o potencial da semente e sua tolerância e resiliência, como a utilização de indutores de resistência, necessitam ser estudados. Diversos tratamentos de sementes vêm se mostrando efetivos na indução de resistência e como potenciadores da qualidade fisiológica, como, por exemplo, estirpes de bactérias que colonizam a rizosfera, aplicações de etileno, quitina, quitosana e silício. Portanto, objetivo desse trabalho foi verificar o efeito tratamento de sementes de beterraba (*Beta vulgaris L.*), cultivar Vermelha Comprida, com diferentes indutores de resistência no desempenho fisiológico e qualidade sanitária. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado para análise do efeito dos indutores de resistência no potencial fisiológico e na qualidade sanitária de sementes de beterraba; e delineamento de blocos casualizado para avaliar o efeito dos indutores de resistência na sanidade de mudas de beterraba. O tratamento das sementes de beterraba foi realizado com os seguintes indutores: testemunha (somente água destilada), Ácido salicílico, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* e Quitosana, com cinco repetições. Após o recobrimento as sementes foram submetidas as seguintes avaliações: porcentagem de germinação, comprimento de plântulas, massa seca de plântulas, *Blotter Test*, quantificação de proteínas em tecidos vegetais e determinação da atividade de fenilalanina amônia-liase. Para interpretação e comparação das diferentes doses utilizadas para cada indutor de forma isolada, os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de regressão. A partir da análise dos dados, observou-se efeito significativo positivo no potencial fisiológico de sementes tratadas com Ácido salicílico e *Bacillus amyloloquefaciens*; constatou-se efeito significativo de todos os indutores avaliados para as variáveis de percentual de plântulas com *Damping-off* pré-emergente e incidência de *Fusarium sp.* e incremento na atividade de Fenilalanina amônia-liase em sementes tratadas com *T. harzianum*. Ademais, houve redução nos teores de proteínas totais nas sementes tratadas com Ácido salicílico, *B. amyloloquefaciens* e *T. harzianum*

Palavras-chave: *Trichoderma harzianum*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Beta vulgaris L.*

ABSTRACT

To ensure seeds and seedlings with high physiological and sanitary quality resulting in a uniform plant stand free of harmful pathogens, procedures that can improve the seed's potential and its tolerance and resilience, such as the use of resistance inducers, need to be studied. Several treatments have been shown to be effective in inducing resistance and enhancing physiological quality, such as bacterial strains that colonize the rhizosphere, applications of ethylene, chitin, chitosan, and silicon. Therefore, the objective of this work was to verify the treatment effect of beetroot (*Beta vulgaris L.*) seeds of the Vermelha Comprida cultivar with different resistance inducers on physiological performance and sanitary quality. The experiment was carried out in a completely randomized design to analyze the effect of resistance inducers on the physiological potential and health quality of sugar beet seeds, and a randomized block design to evaluate the effect of resistance inducers on the health of sugar beet seedlings. The treatment of beetroot seeds was carried out with the following treatments: control (distilled water only), Salicylic acid, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum*, and Chitosan, with five replications. After coating, the seeds were subjected to the following evaluations: germination percentage, seedling length, seedling dry mass, *Blotter Test*, quantification of proteins in plant tissues, and determination of phenylalanine ammonia-lyase activity. To interpret and compare the different doses used for each inducer in isolation, the data obtained were submitted to analysis of variance and regression test. From the data analysis, there was a significant positive effect on the physiological potential of seeds treated with salicylic acid and *Bacillus amyloliquefaciens*; there was a significant effect of all the evaluated inducers for the variables of seedlings with pre-emergent *Damping-off* and incidence of *Fusarium sp.* and increase in Phenylalanine ammonia-lyase activity in seeds treated with *T. harzianum*. Furthermore, there was a reduction in total protein content in seeds treated with salicylic acid, *B. amyloliquefaciens* and *T. harzianum*.

Keywords: *Trichoderma harzianum*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Beta vulgaris L.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Recobrimento de sementes de beterraba com <i>Trichoderma</i>	28
Figura 2 - Montagem do teste de germinação.....	28
Figura 3 - Medição do comprimento de plântulas.....	29
Figura 4 – Exemplificação da unidade experimental utilizada no experimento.	30
Figura 5 - Unidade experimental utilizada nos testes de mudas de beterraba.	31
Figura 6 - Plântulas utilizadas nas análises bioquímicas.	32
Figura 7 - Extrato sobrenadante.....	32
Figura 8 - Maceração da amostra com nitrogênio líquido.	34
Figura 9 - Maceração da amostra com tampão TRIS.....	34
Figura 10 - <i>Damping off</i> pós-emergente em plântulas de beterraba.	35
Figura 11 - <i>Fusarium</i> sp. em sementes de beterraba.....	36
Figura 12 - Resultado da análise de regressão para as variáveis de comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B), quantificação de proteínas (C) e percentual de plântulas com <i>Damping off</i> (D).....	39
Figura 13 - Resultado da análise de regressão para a variável massa seca de plântulas.....	42
Figura 14 - Resultado da análise de regressão para as variáveis de quantificação de Fenilalanina amônia-liase (A) e quantificação de proteína (B).	44
Figura 15 - Resultado da análise de regressão para a variável de porcentagem de germinação.....	45
Figura 16 - Resultado da análise de regressão para a variável de quantificação de proteína.	48
Figura 17. Resultado da análise de regressão para as variáveis incidência de <i>Fusarium</i> spp. (20A) e quantificação de Fenilalanina amônia-liase (20B).....	51
Figura 18 - Resultado da análise de regressão para a variável de quantificação de proteína.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios de porcentagem de germinação (G) de sementes e de massa seca de plântulas (MS), obtidas de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses de quitosana.....	37
Tabela 2 - Valores médios de porcentagem de emergência de plântulas (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE), quantificação de Fenilalanina amônia-liase (FAL) e incidência de Fusarium sp. em sementes de beterraba recobertas com diferentes doses de quitosana.....	37
Tabela 3 - Regressão das doses de ácido salicílico para a variável de porcentagem de germinação, de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.	40
Tabela 4 - Valores médios das variáveis comprimento de parte aérea (CPA) e raízes (CR) de plântulas de beterraba, obtidas de sementes recobertas com diferentes doses de ácido salicílico.....	41
Tabela 5 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE) e incidência de Fusarium sp. de sementes recobertas com diferentes doses de ácido salicílico na qualidade fisiológica e sanitária.	42
Tabela 6 - Regressão das doses de ácido salicílico para as variáveis de porcentagem de germinação e percentual de plântulas com <i>Damping off</i> pré-emergente, de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.	43
Tabela 7 - Valores médios das variáveis de massa seca de plântulas (MS), comprimento de parte aérea (CPA) e raízes (CR) de plântulas, de sementes recobertas com diferentes doses de <i>Bacillus amyloloquefaciens</i> no potencial fisiológico de sementes de beterraba.....	45
Tabela 8 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE), quantificação de fenilalanina amônia-liase e percentual de plântulas com <i>Damping off</i> pré-emergente de sementes recobertas com diferentes doses de <i>Bacillus amyloloquefaciens</i> na qualidade fisiológica e sanitária de mudas de beterraba.....	46

Tabela 9 - Regressão das doses de <i>Bacillus amyloloquefaciens</i> para a incidência de <i>Fusarium sp.</i> , de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.	47
Tabela 10 - Valores médios das variáveis de porcentagem de germinação (%), comprimento de parte área (CPA) e raízes (CR) de plântulas e massa seca (MS), de sementes recobertas com diferentes doses de <i>Trichoderma harzianum</i> no potencial fisiológico de sementes de beterraba.	49
Tabela 11 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM) e comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE) de sementes recobertas com diferentes doses de <i>Trichoderma harzianum</i> , na qualidade fisiológica sanitária de mudas de beterraba.	49
Tabela 12 - Regressão das doses de <i>Trichoderma harzianum</i> para percentual de plântulas com <i>Damping off</i> , de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	BETERRABA	17
3.2	QUALIDADE DE SEMENTES.....	18
3.3	TOMBAMENTO OU “DAMPING-OFF”	19
3.4	INDUTORES DE RESISTÊNCIA.....	20
3.4.1	Quitosana	21
3.4.2	Ácido salicílico	22
3.4.3	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	23
3.4.4	<i>Trichoderma spp.</i>	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	LOCALIZAÇÃO	26
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	26
4.3	TRATAMENTO DE SEMENTES.....	27
4.4	AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS INDUTORES NO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE BETERRABA	28
4.5	AVALIAÇÃO DO EFEITO DO RECOBRIMENTO DE SEMENTES COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA NA QUALIDADE SANITÁRIA.....	30
4.5.1	Análise da sanidade de sementes pelo método <i>Blotter test</i>	30
4.5.2	Avaliação do efeito do recobrimento de sementes com indutores de resistência na qualidade sanitária de mudas	31
4.5.3	Quantificação de proteínas em tecidos vegetais	32
4.5.4	Determinação da atividade de fenilalanina amônia-liase	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	QUITOSANA.....	36
5.2	ÁCIDO SALICÍLICO	40
5.3	<i>BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS</i>	44
5.4	<i>TRICHODERMA HARZIANUM</i>	48

6	CONCLUSÃO.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

A beterraba é uma olerícola pertencente à família Amaranthaceae e está entre as 17 hortaliças cultivadas por sementes de maior importância econômica no país. A espécie desenvolve uma raiz tuberosa de coloração púrpura devido ao pigmento antocianina sendo consideradas de qualidade quando apresentam sabor levemente doce e ausência de estrias. Sua comercialização ao longo do ano sofre pequenas variações, apresentando boa estabilidade de produção, com elevação dos preços pagos nos períodos de março e abril (TIVELLI *et al.*, 2011).

Existem três biótipos de beterraba, sendo elas: a beterraba açucareira utilizada para extração de açúcar; a forrageira sendo as folhas e raízes utilizadas na alimentação animal; e a beterraba hortícola conhecida como beterraba de mesa, sendo essa a forma cultivada no Brasil (TIVELLI *et al.*, 2011). Ainda, conforme o autor, apresenta raiz tuberosa de coloração púrpura devido à concentração do pigmento betalaína, e a beterraba de mesa é comumente utilizada para o consumo in natura ou como corante natural.

A cultura da beterraba é propagada através de sementes e diversos fatores bióticos e abióticos influenciam na sua produção. Dentre esses fatores a qualidade de sementes pode ser citada, resultado da interação dos componentes fisiológicos, genéticos, físicos e sanitários (NASCIMENTO; DIAS; SILVA, 2011).

A qualidade da semente influencia na produtividade e a formação de um estande de plantas adequado, podendo ocorrer falhas de emergência de plântulas e baixas taxas de germinação, quando as mesmas apresentam baixa qualidade (NASCIMENTO; DIAS; SILVA, 2011). Além disso, sementes com baixo vigor apresentam-se mais suscetíveis às ações de fungos fitopatogênicos, reduzindo seu desempenho fisiológico e produtividade (SOARES *et al.*, 2016).

São consideradas sementes com qualidade sanitária aquelas que se apresentam livres de fitopatógenos. Os fungos são os principais agentes causais acarretando perdas na produtividade e redução na qualidade de sementes como, por exemplo, reduções nas taxas de porcentagem de germinação, matéria seca e vigor (OLIVEIRA, 2019).

Para garantir uma elevada qualidade sanitária são utilizadas grandes quantidades de defensivos causando interferências no meio ambiente e na saúde dos

consumidores (CARVALHO, 2012). Em 2016, a produção de beterraba no Brasil movimentou cerca de US\$ 401,05 por hectare com defensivos, ligada a manutenção da sanidade da cultura (GARCIA FILHO *et al.*, 2017). Dessa forma, a utilização de controles alternativos torna-se uma possibilidade para redução dos impactos.

Uma alternativa que vem se apresentando como promissora é o uso de resistência induzida, definida pela utilização de agentes indutores que promovem aumento nos níveis de resistência da planta sem modificar o seu genoma (CARVALHO, 2012; STADNIK, 2000). Diversos tratamentos vêm se mostrando efetivos na indução de resistência e como promotores de crescimento, como, por exemplo, estirpes de bactérias que colonizam a rizosfera e promovem o crescimento de plantas (SCHIPPERS *et al.*, 1987). Ademais, os efeitos de aplicações de etileno, quitina, quitosana e silício vem sendo estudados a anos e apresentando-se eficazes em algumas culturas (ROMPF, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2002; CARVALHO, 2012).

Somando-se a isto, o período entre a semeadura e emergência de plantas é reduzido em cultivares de ciclo curto, dificultando o estabelecimento de um estande adequado (BISOGNIN *et al.*, 2016). Dessa forma, o tratamento de sementes com indutores de resistência constitui-se uma alternativa econômica para a obtenção de sementes com elevada qualidade fisiológica e sanitária, proporcionando a formação de um estande de plantas saudáveis e vigorosas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do recobrimento de sementes de beterraba com diferentes indutores de resistência no desempenho fisiológico e qualidade sanitária.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos indutores de resistência quitosana, ácido salicílico, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* no tratamento de sementes de beterraba.
- Avaliar o efeito dos indutores de resistência no potencial fisiológico de sementes de beterraba.
- Avaliar o efeito do recobrimento de sementes de beterraba com diferentes indutores de resistência na qualidade sanitária de sementes.
- Avaliar o efeito do recobrimento de sementes com indutores de resistência na qualidade sanitária de mudas de beterraba.
- Avaliar o efeito do recobrimento de sementes com os indutores de resistência na quantificação de proteínas totais e da atividade de fenilalanina amônia-liase em plântulas de beterraba.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BETERRABA

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma olerícola da família Amaranthaceae que apresenta boa adaptação a regiões frias sendo originária de regiões da Europa e norte africano (HAVEROTH; NASCIMENTO; MARCUZZO, 2020). A beterraba pode ser cultivada durante o ano todo nas áreas produtoras do país, sendo a germinação favorecida com temperaturas em torno de 20 °C podendo sofrer prejuízos na qualidade da raiz tuberosa quando as temperaturas excedem 25 °C (TIVELLI *et al.*, 2011).

Segundo Tivelli *et al.* (2011) a beterraba de mesa é uma das hortaliças mais cultivadas no Brasil apresentando uma raiz tuberosa de coloração vermelha-arroxeadada, devido à presença de betalaínas provenientes do metabolismo secundário. Segundo Filgueira (2003), a planta apresenta sistema radicular tipo pivotante, a parte tuberosa apresenta-se em formato globular se desenvolvendo entre a superfície do solo podendo atingir uma profundidade de até 60 cm.

Grande parte das cultivares de mesa produzidas no país são de origem europeia ou norte-americana, variando em formato, tamanho, coloração e tolerância a condições bióticas e abióticas de acordo com cada cultivar (TIVELLI *et al.*, 2011). Ainda segundo os autores, as principais cultivares e híbridos comercializados são: *Early Wonder*, Chata do Egito, *Early Wonder Tall Top*, Katrina, Itapuã, Maravilha, Vermelha Comprida e Rubra.

Conforme o PIB de 2016, a produção de hortaliças no Brasil atingiu cerca de 5,3 bilhões de dólares (GARCIA FILHO *et al.*, 2017). Os mesmos autores relatam que o cultivo de beterraba produziu uma movimentação financeira no segmento de sementes de US\$ 5,40 e 3,15 milhões em 2016, apresentando uma produção de 218.765 toneladas em uma área produtiva de 10.938 ha. O estado de Santa Catarina produz em média 65% do consumo da cultura, produzido principalmente na região do Alto Vale do Itajaí com uma área em torno de 1.000 hectares (HAVEROTH; NASCIMENTO; MARCUZZO, 2020).

Como produção de beterraba apresenta maior participação no segmento de sementes a baixa taxa de germinação e vigor de sementes apresentam-se como

problemas para formação do estande final de plantas. Finch-savage e Bassel (2015) descrevem o processo entre a sementeira e o estabelecimento de plantas como período crítico para o sucesso da produção. Dessa forma, tratamentos que visem o aumento do poder germinativo e velocidade de germinação são importantes para o obter o estabelecimento máximo do estande de plantas e tornar a atividade rentável ao produtor.

3.2 QUALIDADE DE SEMENTES

A qualidade de sementes inclui diversos fatores como, por exemplo, a viabilidade, pureza, sanidade e vigor (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015; PERRY, 1980). De acordo com a Associação Internacional de Análise de Sementes (ISTA), o vigor de sementes pode ser definido como *“a soma das características da semente que irão determinar o seu desempenho e potencial durante a germinação e emergência de plântulas aceitáveis em diferentes ambientes”* (ISTA, 2015).

O vigor de sementes é determinado principalmente pela taxa e uniformidade de germinação e crescimento de plântulas, desempenho após armazenamento e capacidade de germinar em condições desfavoráveis (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015); os mesmos autores relatam que a germinação tardia resultam em mudas menores, Podlaski e Chomontowski (2019) corroboram afirmando que beterrabas que emergem primeiro apresentam maior peso de massa seca, sendo influenciado também pela densidade de plantas.

Conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009a), para culturas de ciclo curto a utilização de sementes com alta qualidade fisiológica é essencial para obter um estande de plantas uniforme e com alta produtividade. Para determinar a qualidade das sementes são realizados testes de vigor, germinação, primeira contagem e comprimento de plântulas (GUEDES *et al.*, 2009).

A sanidade também é um fator crucial para a qualidade de sementes visto que 90% das plantas cultivadas são propagadas por sementes e, além disso, sementes com inóculos podem introduzir novas doenças em áreas livres do patógeno (HENNING, 2005). Os fungos são os patógenos que apresentam maior associação a sementes, seguidos por bactérias, vírus e nematoides (BRASIL, 2009b). A associação dos fungos em sementes pode ocorrer por adesão passiva a superfície da semente,

pela presença de inóculo nos tecidos ou no embrião, ou presença na fração impura de um lote. A incidência de patógenos causam grandes perdas e gastos na produção. De acordo com Garcia Filho *et al.*, (2017), a produção de beterraba teve uma movimentação na cadeia de defensivos agrícolas de US\$ 401,05 por hectare. Entre os principais agentes causais de tombamento de plântulas em beterraba citados na literatura destacam-se *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium oxysporum* e *Verticillium* (HARVESON, 2016).

3.3 TOMBAMENTO OU “DAMPING-OFF”

O tombamento de plântulas tem como agente causal principalmente o fungo do gênero *Rhizoctonia* podendo ser causado também por fungos dos gêneros *Pythium*, *Phytophthora*, *Colletotrichum*, *Fusarium* e pelas bactérias dos gêneros *Xanthomonas* e *Pseudomonas* (BEDENDO, 2011).

De acordo com Dias, Berbara e Fernandes (2013), o fungo *Rhizoctonia solani* apresenta estruturas de resistência chamadas esclerócios que podem sobreviver por anos no solo, restos culturais e sementes, além disso, não produzem esporos sendo encontrados geralmente na forma micelial.

Os principais sintomas da doença são lesões nos tecidos jovens observados na região do colo da plântula rente ao solo causando contração do caule, acarretando então o tombamento da muda (MAZARO *et al.*, 2009). De acordo com Bedendo (2011), a sua importância está relacionada com o estabelecimento da cultura no campo ou no viveiro, pois ocorrem nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta. Conforme esse autor, os agentes que provocam *damping-off* são principalmente fungos parasitas facultativos, que vivem saprofiticamente no solo, sendo que quando os sintomas da doença aparecem após a emergência das plântulas a doença é chamada de *damping-off* de pós-emergência.

A disseminação da maioria dos patógenos ocorre principalmente por sementes e mudas contaminadas, água de irrigação e equipamentos agrícolas (TIVELLI *et al.*, 2011). O mesmo autor relata que a temperatura ideal para o desenvolvimento do fungo é entre 15 e 25 °C em condições de alta umidade, favorecido também por altas densidades de plantio e solos compactados e mal drenados.

As principais medidas de controle da doença são rotação de culturas, utilizar sementes saudáveis, realizar o plantio em áreas que não tenham ocorrência da doença e solos bem drenados (TIVELLI *et al.*, 2011). Corriqueiramente, os produtores utilizam tratamento químico de sementes e fungicidas como medida preventiva, no entanto, devido à crescente demanda por produtos orgânicos tem-se buscado alternativas sustentáveis para reduzir a incidência da doença na cultura (MAZARO *et al.*, 2009).

3.4 INDUTORES DE RESISTÊNCIA

Em resposta a demandas por cultivos mais sustentáveis, uma alternativa que vem sendo usada para controle de doenças de plantas é o uso de indutores de resistência. A indução de resistência são mecanismos de defesa que podem ser estimulados tanto por agentes bióticos quanto abióticos (MAZARO, 2007).

Conforme Mazaró *et al.*, (2009), *“indução de resistência é caracterizada pela ativação de ampla gama de genes latentes relacionados aos mecanismos de defesa da planta contra patógenos”*.

De acordo com Pascholati (2011) fatores de resistência podem ser divididos em pré-formados e pós-formados. Os fatores que já estão na planta antes da ocorrência do patógeno são chamados pré-formados, sendo considerados a primeira linha de defesa para dificultar a entrada do patógeno (cutículas, tricomas, estômatos, fibras e vasos condutores); já aqueles que são produzidos ou ativados em resposta à presença do patógeno, são chamados pós-formados (papilas, lignificações, fitoalexinas, proteínas relacionadas a patogênese, espécies ativas de oxigênio, etc.).

Na natureza, a efetividade da resistência depende da expressão dos seus mecanismos após o contato com o patógeno, da mesma forma o nível da resistência dependerá da ação diferentes mecanismos que atuam simultaneamente (PASCHOLATI, 2011). Dessa forma, os danos causados pelas doenças podem ser reduzidos mesmo com uma pouca resistência.

Segundo Stangarlin *et al.*, (2011), a indução de resistência ocorre por meio da ativação de mecanismos já existentes na planta de defesa vegetal, envolvendo o reconhecimento da molécula eliciadora até a ativação e formação de compostos bioquímicos pós-formados, como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies ativas de oxigênio.

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é uma enzima relacionada ao processo de resistência de plantas visto que está envolvida na síntese e conversão de fenilpropanóides em ácido trans-cinâmico, sendo a principal rota para de síntese de fitoalexinas (VALENTE, 2012). Dessa forma, o aumento da atividade da FAL resulta no aumento da concentração de fenilpropanóides, que são moléculas precursoras de compostos fenólicos (GOMES *et al.*, 2008). Além disso, a fenilalanina amônia-liase atua na formação dos precursores da lignina que reforçam as paredes celulares, atuando na resposta de defesa das plantas (RAES *et al.*, 2003).

A atividade da FAL é influenciada tanto por fatores externos quanto internos, como, por exemplo: radiação solar, nutrientes, hormônios, infecção por patógenos ou ferimentos causados nos tecidos vegetais. A infecção por fungos estimula a produção de compostos fenólicos, dado que induz a transcrição do mRNA codificando para esta enzima, aumentando sua síntese, conseqüentemente (JONES, 1984).

As plantas possuem famílias com multi-genes que codificam pequenos peptídeos e proteínas, que possuem ação anti-microbiana. Como exemplo, podemos citar as proteínas relacionadas a patogênese (Proteínas – RP), induzidas devido à defesa contra patógenos em potencial, tratamento com elicitores e reguladores de desenvolvimento vegetal, além de situações de estresse abiótico. O sinal para o acúmulo sistêmico dessas proteínas é desconhecido, embora haja estudos sobre o ácido salicílico, etileno, sistemina e jasmonato (PASCHOLATI, 2011).

3.4.1 Quitosana

De acordo com Mazaro (2009) a quitosana tem como origem a quitina que está presente em invertebrados marinhos, fungos e leveduras sendo obtida através de uma reação de desacetilação. A quitosana é utilizada como forma de defesa das plantas por ter capacidade desencadear respostas de defesa através da formação de substâncias químicas e físicas que funcionam como barreiras contra o patógeno (KATIYAR; HEMANTARANJAN; SINGH, 2015); os mesmos autores indicam a semelhança de quitosana e celulose sendo que o que as diferencia é a posição do grupo amina, além disso, a quitosana também apresenta cargas iônicas positivas.

Segundo com Katiyar, Hemantaranjan e Singh (2015) a quitosana possui propriedades antimicrobianas e é um dos elicitores mais importantes na indução de

resistência. Diversas pesquisas comprovam a eficácia da molécula de quitosana: em beterraba, concentrações acima de 0,5% acarretaram aumento no ganho de massa e induziram resistência ao tombamento causado pelo fungo *Rhizoctonia solani* (MAZARO, 2009). O autor também relata incremento no desenvolvimento e menor incidência de tombamento no tomate em concentrações acima de 2%.

Além de estimular mecanismos de defesa natural na planta a quitosana também promove melhorias na germinação de sementes, tendo incrementos na porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento de hipocótilo (KATIYAR; HEMANTARANJAN; SINGH, 2015). Além disso, a quitosana também pode manter a umidade das sementes por mais tempo devido à formação de um filme permeável na superfície da mesma, facilitando a germinação (ZENG; LUO, 2012).

A utilização de quitosana estimula a defesa das plantas e é uma alternativa viável e sustentável para reduzir a utilização de produtos químicos para proteção nas plantas, além de ter efeitos positivos no crescimento de plantas, na tolerância a seca, na produção de metabólitos secundários, aumentos nos níveis de ácido abscísico (ABA) e prolongar o tempo de armazenamento de frutas (KATIYAR; HEMANTARANJAN; SINGH, 2015).

3.4.2 Ácido salicílico

A salicilina foi isolada da casca do salgueiro (*Salix*) em 1828, dando origem ao nome do ácido salicílico (AS) sendo comercialmente conhecido como aspirina (JANDA; HORVÁTH; SZALAI; PÁLDI, 2007). O ácido salicílico é um composto fenólico considerado um elicitador que estimula processos fisiológicos e de defesa contra patógenos (BERTONCELLI *et al.*, 2016). Este é sintetizado a partir do aminoácido fenilalanina que pode ser isolado de plantas atacadas por patógenos (CASTRO & VIEIRA, 2001).

A aplicação do AS atua na expressão de genes de defesa das plantas, induzindo a síntese de quitinases e β -1,3 glucanases que promovem a degradação da parede celular de fungos resultando em uma resistência sistêmica na planta (DURRANT; DONG, 2004; BERTONCELLI *et al.*, 2016). A aplicação exógena do ácido salicílico também aumenta o vigor de sementes por estimular a produção de compostos

fenólicos (lignina) através de vias pentose-fosfato e chiquimato (PACHECO *et al.*, 2006).

De acordo com Bertoncelli *et al.* (2016), em sementes de beterraba o tratamento com ácido salicílico não resultou inibição na germinação, não apresentando fitotoxicidade e, além disso, não reduziu o comprimento de plântulas. Os autores também relatam que o tratamento induziu resistência ao fungo do gênero *Fusarium sp.* através da ativação da β -1,3 glucanase. O ácido salicílico também demonstra efeito fungicida no controle do fungo *Penicillium expansum* em testes *in vitro* quando aplicado em concentrações superiores a 0,6 mM e apresentou efeito inibitório no crescimento de *C. laurentii* na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (YU; ZHENG, 2006). Além disso, Dotto e Silva (2017) observaram que o tratamento de sementes de beterraba, através de condicionamento fisiológico, com doses entre 1 e 2 mMol L⁻¹ de ácido salicílico promove melhoria no potencial de germinação.

3.4.3 *Bacillus amyloliquefaciens*

No solo podem ser encontrados diversos micro-organismos que podem causar efeitos prejudiciais, benéficos ou neutros nas plantas. A espécie *Bacillus amyloliquefaciens* é uma das rizobactérias mais estudadas da agricultura, sendo geralmente associadas ao ambiente rizosférico. As espécies do gênero *Bacillus* são classificadas com bactérias promotoras de crescimento em plantas e podem proporcionar acréscimos no comprimento de raiz (BENIZRI *et al.*, 2001).

A atividade de promoção de crescimento está associada a capacidade de supressão dos patógenos do solo, além da produção de compostos antimicrobianos, antivirais e nematocidas induzindo a resistência sistêmica das plantas (DOORNBOS *et al.*, 2012). O uso de rizobactérias no biocontrole é uma alternativa aos pesticidas químicos, além de proporcionar um manejo mais racional e seguro, colaborando para uma agricultura mais sustentável (CHOWDHURY *et al.*, 2015). As bactérias promotoras de crescimento podem ser utilizadas tanto em tratamentos de sementes e mudas, como incorporadas ao substrato ou pulverizadas na parte aérea da planta (BERNARD, 2017).

O *Bacillus amyloliquefaciens* possui potencial em associar-se com as raízes de plantas realizando a supressão de patógenos, além de produzir metabólitos

secundários, antibióticos lipopeptídicos e enzimas hidrofílicas extracelulares, estimulando o crescimento das plantas, conseqüentemente (CHEN *et al.*, 2009; RAGAZZO-SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

Conforme os dados obtidos por Karimi *et al.* (2016), os isolados de *Bacillus amyloliquefaciens* são capazes de reduzir efetivamente o tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*, inibindo seu crescimento micelial (51,7% a 68,5%) em relação ao controle. Ademais, na pesquisa realizada por Szilagyi-Zecchin *et al.* (2015), em mudas de tomate a bactéria promoveu a síntese de compostos indólicos e sideróforos, aumentou os teores de clorofila e proporcionou acréscimos na parte área.

Outras bactérias do gênero *Bacillus* são estudadas na agricultura, como as da espécie *Bacillus subtilis*, usados na prevenção e controle de doenças devido a sua atuação antagônica, inibindo a germinação de esporos, micélios e induzindo resistência na planta hospedeira (AGOSTINO, 2009).

3.4.4 *Trichoderma spp.*

Trichoderma spp. são fungos filamentosos classificados como Ascomycota, de crescimento rápido e que produzem colônias de coloração verde. Na agricultura são considerados agentes de controle biológico, e utilizados como promotores de crescimento vegetal, no controle de doenças, devido a sua ação de antibiose e parasitismo, e na indução de resistência (MACHADO *et al.*, 2012).

Os fungos do gênero *Trichoderma* têm ação hiperparasita, pois tem a capacidade de detectar e localizar as hifas de fungos que são suscetíveis, crescendo até a sua direção formando estruturas semelhantes a apressórios, penetrando e digerindo a hifa (MELO, 1998). Além disso, muitas espécies de *Trichoderma* tem o potencial de produzir compostos metabólicos secundários que são tóxicos, capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos (HARMAN, 2000).

O tratamento com *Trichoderma* possibilita maior incremento na produção vegetal devido à solubilização de nutrientes próximos às raízes aumentando a assimilação destes pelas plantas (HARMAN, 2000). A eficácia do tratamento com produtos à base de *Trichoderma* para controlar fungos tem grande variabilidade, apresentando mais sucesso no controle de fungos que acometem mudas (ETHU *et al.*, 2008).

A utilização de *Trichoderma* em grandes culturas apresentam bons resultados, utilizados como substitutos para o tratamento fungicida de sementes. Após a germinação dos esporos é formado uma manta de micélio que recobre a semente, protegendo-a de ataque de patógenos, podendo reduzir em até 90% de sementes de feijão infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum* tratadas com *Trichoderma* (LAZZARETTI; BETTIOL, 1997). O autor também relata que o tratamento tem efeito na redução de tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani* e na severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* inativando os escleródios evitando a esporulação do fungo.

De acordo com Carvalho *et al.* (2011) sementes de feijão tratadas com *Trichoderma harzianum* obtiveram redução de 90 a 92% na incidência de *S. esclerotiorum* em testes *in vitro*, além disso, proporcionou aumento no comprimento total da planta quando comparado com o tratamento testemunha. Tortelli *et al.* (2020) encontraram resultados semelhantes, onde a microbiolização com *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma harzianum* foram eficientes quando comparado com o teste positivo no controle *Sclerotinia sclerotiorum*, além disso, proporcionou melhorias na germinação, vigor e sanidade das sementes. Estudos realizados por Ethu *et al.* (2008) relatam que mudas de tomate tratadas com *T. harzianum* apresentaram menor incidência e severidade da fusariose.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO

O experimento foi conduzido na Universidade Federal da Fronteira Sul, no laboratório de Sementes e Grãos do campus Chapecó e no laboratório de Fitopatologia do campus Erechim. O experimento para avaliar o efeito do recobrimento de sementes com indutores de resistência na qualidade sanitária de mudas foi realizado em uma área privada no município de Planalto Alegre – Santa Catarina, em função das restrições impostas pelo protocolo de biossegurança devido ao Covid-19 e pela indisponibilidade de casa-de-vegetação na área experimental do *campus* Chapecó.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O experimento foi conduzido no primeiro semestre do ano de 2021. Foram realizados testes laboratoriais e a campo, sendo estes divididos em três etapas:

- a) Etapa 1: Efeito de indutores de resistência no potencial fisiológico de sementes de beterraba;
- b) Etapa 2: Efeito de indutores de resistência na qualidade sanitária de sementes de beterraba;
- c) Etapa 3: Efeito de indutores de resistência na sanidade de mudas de beterraba.

Nas etapas 1 e 2 foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado, e na etapa 3 foi utilizado o delineamento de blocos casualizado. Para todas as etapas os tratamentos utilizados foram: testemunha (somente água destilada), Ácido salicílico, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* e quitosana.

4.3 TRATAMENTO DE SEMENTES

Foram utilizadas sementes de beterraba (*Beta vulgaris L.*) da cultivar Vermelha Comprida. Para avaliar o efeito no desempenho fisiológico e qualidade sanitária, utilizou-se as seguintes concentrações:

- Quitosana: utilizou-se a metodologia adaptada de Mazaro (2009) onde a quitosana foi dissolvida em ácido acético a 1% e diluída com água destilada para obter as concentrações de 0,5; 1; 2 e 4% e a testemunha foi água destilada.

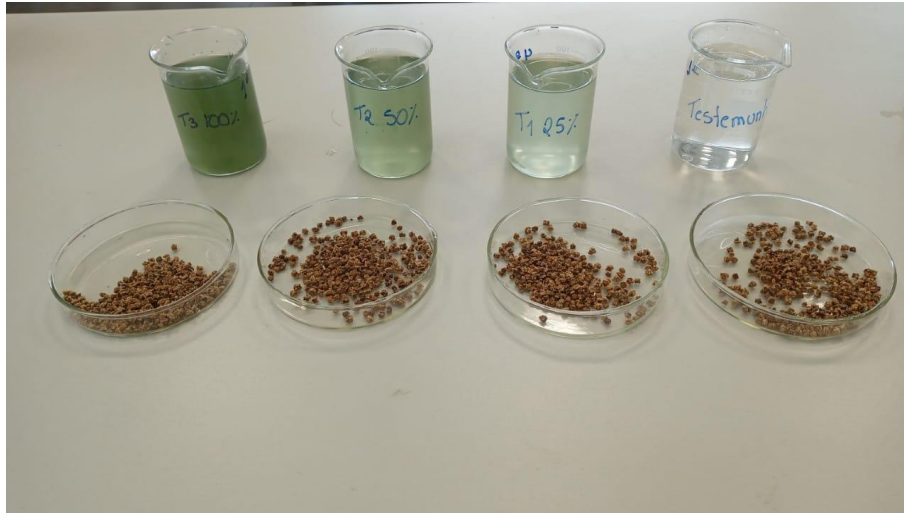
- *Bacillus amyloliquefaciens*: utilizou-se o produto comercial NemaControl® nas concentrações: (testemunha – água destilada) 1,5, 3, e 6 mL L⁻¹ do produto comercial, seguindo as recomendações do fabricante.

- Ácido salicílico: seguiu-se a metodologia de Bertocelli et al. (2016) com a imersão das sementes nas concentrações de 0,0 (testemunha- água destilada); 0,138, 0,207 e 0,276 g/L de ácido salicílico.

- *Trichoderma*: para os testes utilizou-se o produto Trichodermil formulado a partir de *Trichoderma harzianum*. As sementes foram tratadas nas concentrações de 0,0 (testemunha – água destilada); 0,125, 0,25 e 0,50 mL L⁻¹ do produto, seguindo recomendações do fabricante.

Para indutores de resistência quitosana, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum*, em uma placa de petry realizou-se a distribuição da calda preparada com os tratamentos sobre as sementes, sendo posteriormente deixadas para secagem natural em bancada durante 24 horas (figura 1). Para o tratamento com Ácido salicílico, realizou-se a imersão das sementes por 5 minutos nas concentrações, posteriormente deixadas para secagem natural por 24 horas.

Figura 1 - Recobrimento de sementes de beterraba com *Trichoderma*.



Fonte: Autora.

Para o teste de germinação foi seguido a metodologia descrita a seguir no item 4.4 e para a avaliação dos indutores de resistência na qualidade sanitária de sementes utilizou-se a metodologia do item 4.5 e 4.6.

4.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS INDUTORES NO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE BETERRABA

Foram realizados os testes descritos a seguir para essa etapa:

Teste de germinação: foi utilizada a metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009a); cinco repetições de 50 sementes, para cada tratamento, distribuídas em caixas plásticas do tipo gerbox (11,5 x 11,5 x 3,5 cm), sobre substrato de papel para germinação (Figura 2), sendo umedecidos previamente com água destilada em um volume de 2,5 vezes o peso do papel seco, as quais foram mantidas em câmara de germinação na temperatura de 20 °C. Durante o teste de germinação as avaliações foram realizadas conforme os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes, aos quatro e 14 dias após a semeadura (DAS), contabilizando-se as plântulas normais, anormais, e sementes mortas.

Figura 2 - Montagem do teste de germinação.

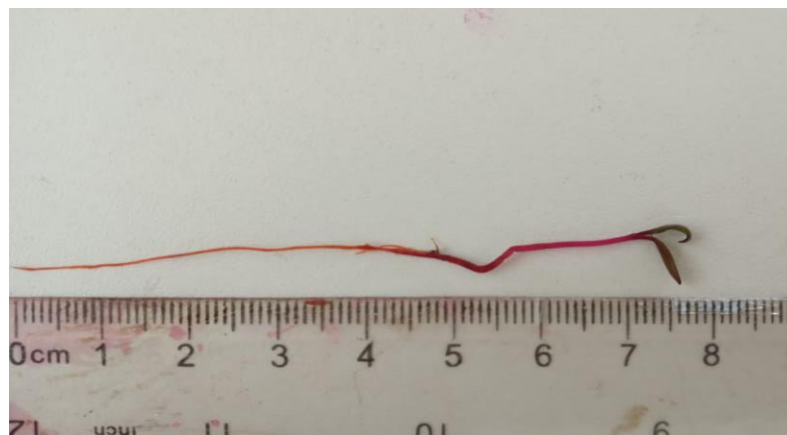


Fonte: Autora.

Crescimento e massa seca de plântulas: Foram utilizadas 20 plântulas por unidade experimental, a partir das quais foi determinado o comprimento de raízes e de parte aérea, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros (Figura 3).

Para obtenção da massa seca, as 20 plântulas avaliadas quanto ao comprimento, foram pesadas em balança de precisão de cinco casas após a vírgula e, em seguida, colocadas em sacos de papel, e submetidas a secagem em estufa à 65 °C durante 72 horas; posteriormente, realizou-se a pesagem e determinação da massa seca.

Figura 3 - Medição do comprimento de plântulas.



Fonte: Autora.

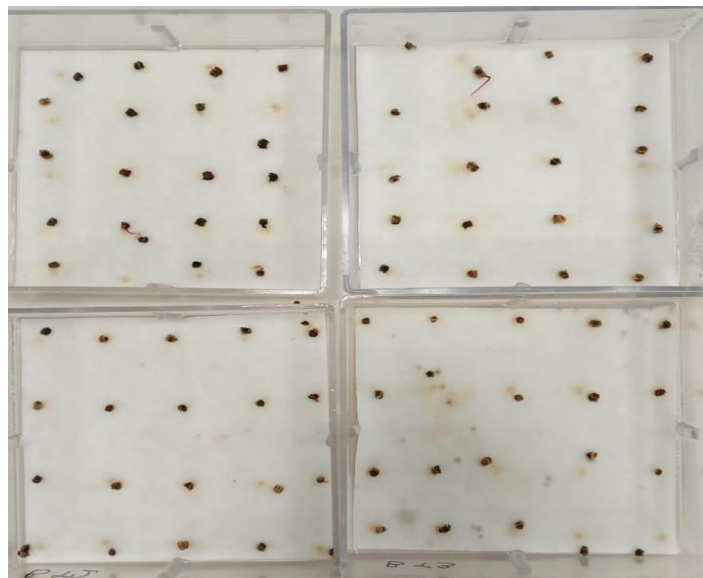
4.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO RECOBRIMENTO DE SEMENTES COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA NA QUALIDADE SANITÁRIA.

4.5.1 Análise da sanidade de sementes pelo método *Blotter test*

Foram utilizadas 20 repetições com 20 sementes, totalizando uma unidade experimental de 400 sementes por tratamento. As sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel germitest no interior de uma caixa plástica do tipo gerbox. Para reduzir o processo de germinação, os gerbox foram mantidos em câmara de germinação durante 24 horas à 20°C, em seguida em congelador (-20°C) por 24 horas, retornando a câmara de germinação na temperatura de 20°C sob luz fluorescente branca por mais 5 dias (BRASIL, 2009b).

Analisou-se as sementes individualmente com auxílio de um estereomicroscópio a resolução de 30-80X, identificando a presença de fungos patogênicos. Os resultados foram expressos em percentual de ocorrência dos fungos com duas casas decimais.

Figura 4 – Exemplificação da unidade experimental utilizada no experimento.



Fonte: Autora.

4.5.2 Avaliação do efeito do recobrimento de sementes com indutores de resistência na qualidade sanitária de mudas

Inicialmente, foi realizado o recobrimento das sementes de beterraba com as doses dos indutores de resistência utilizados e, então, semeadas em bandejas plásticas de produção de mudas de hortaliças, com 162 células cada (Figura 4); foi utilizado o substrato para hortaliças da marca MECPLANT®. As semeaduras foram feitas manualmente, utilizando-se uma semente por célula nas bandejas de cultivo. A unidade experimental foi de 50 células por bandeja, com quatro repetições em cada tratamento.

As bandejas foram mantidas em uma estrutura de telado de sombrite sendo realizados os devidos manejos de irrigação, limpeza. As avaliações foram realizadas 14 dias após a semeadura seguindo a metodologia adaptada de Mazaro (2009), determinando-se: a incidência de tombamento após a emergência (porcentagem de plântulas tombadas) e medição do comprimento de parte aérea de plântulas, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros.

Para as análises bioquímicas foram utilizadas amostras de 20 plântulas de beterraba, de cada tratamento e repetição, previamente coletadas ao final do experimento a campo. Imediatamente após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer até a realização das análises de determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) e proteínas totais. Etapa posteriormente realizada no laboratório de Fitopatologia, na UFFS *campus* Erechim.

Figura 5 - Unidade experimental utilizada nos testes de mudas de beterraba.



Fonte: Autora.

Figura 6 - Plântulas utilizadas nas análises bioquímicas.



Fonte: Autora.

4.5.3 Quantificação de proteínas em tecidos vegetais

A determinação de proteínas nas amostras foi mensurada pelo método Coomassie Blue de Bradford (1976). Inicialmente, obteve-se a curva padrão de proteína a partir de uma solução de soro de Albumina Bovina (BSA). Foi realizado a maceração de 0,5 gramas do material vegetal com nitrogênio líquido, em seguida macerado novamente com 5 mL da solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5 para obtenção do extrato. A solução tampão Fosfato foi obtida a partir da solução de fosfato de potássio dibásico 0,2 Molar (solução A) preparada com 50g de K_2HPO_4 P.A. em 1 L de água destilada, e a solução fosfato de potássio monobásico 0,2 Molar (solução B) preparada com 30g g de KH_2PO_4 P.A. em 1 L de água destilada. Misturou-se 420 mL da solução A + 80 mL da solução B + 500 mL de água destilada, ajustando para pH 7,5.

Após esse processo, o extrato foi colocado em tubos “ependorfe” (Figura 6) devidamente identificados, acondicioná-los na centrífuga e centrifugar durante 10 minutos a 14.000 rpm e a 4 °C. Retirou-se da centrífuga e transferiu-se 50 microlitros do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, e adicionou-se 2,5 mL do Coomassie. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595nm.

Figura 7 - Extrato sobrenadante.



Fonte: Autor.

4.5.4 Determinação da atividade de fenilalanina amônia-liase

Aproximadamente 1,0 g de material vegetal foi macerado com nitrogênio líquido em almofariz previamente gelado (Figuras 7 e 8), com 6,0 mL do tampão TRIS – HCL Ph 8,00 (contendo 22,2 g de Tris; 0,37 g de EDTA; 85,5 g de sacarose; 10 g de PVP e o volume foi completado para 1000 mL de água destilada, após ajustar o pH para 8,0 com ácido clorídrico 2,0 N). A mistura foi centrifugada a 6000 rpm por 10 min a 4 °C. Transferiu-se uma alíquota de 200 microlitros para um tubo de ensaio, acrescentando mais 5,0 mL do tampão de extração, agitando em vórtex para obtenção do extrato enzimático.

Transferiu-se para um tubo de ensaio devidamente identificado 1,5 mL do extrato enzimático, 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina, na prova em branco utilizar água no lugar do extrato enzimático, agitando em vórtex para homogeneização. Posteriormente, foi incubado em banho-maria por uma hora à 40 °C. Após o tempo de incubação, interrompeu-se a reação colocando os tubos em banho de gelo.

A atividade da FAL foi avaliada com base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (RODRIGUES *et al.*, 2006) e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm.

Figura 8 - Maceração da amostra com nitrogênio líquido.



Fonte: Autora.

Figura 9 - Maceração da amostra com tampão TRIS.



Fonte: Autora.

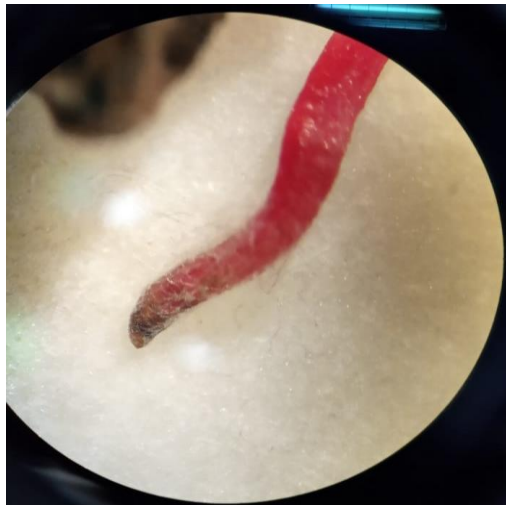
Para interpretação e comparação das diferentes doses utilizadas para cada indutor de forma isolada, os dados obtidos em todos os experimentos foram submetidos a análise de variância e teste de regressão com nível de significância de 0,05%, separadamente para cada indutor, com o auxílio do programa estatístico SISVAR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não foram observados sintomas de *damping-off* pós-emergente em mudas de beterraba para nenhum dos indutores avaliados, ou no tratamento testemunha, não sendo verificado os sintomas característicos da doença, como pontos encharcados localizados no caulículo na altura do colo da plântula, constrições ou plântulas tombadas durante o experimento (BEDENDO, 2011).

Em relação ao *blotter test*, de forma geral, não foram observados presença de micélios ou hifas de *Rhizoctonia solani* associados as sementes, para nenhum dos indutores analisados, bem como no tratamento testemunha, pelo blotter test. No entanto, foram observados sintomas característicos de *damping-off* pré-emergente pelo método *blotter test*, como aparecimento de machas encharcadas e apodrecimento da radícula, associado a estruturas de fungos para todos os tratamentos avaliados (figura 10).

Figura 10 - *Damping off* pós-emergente em plântulas de beterraba.

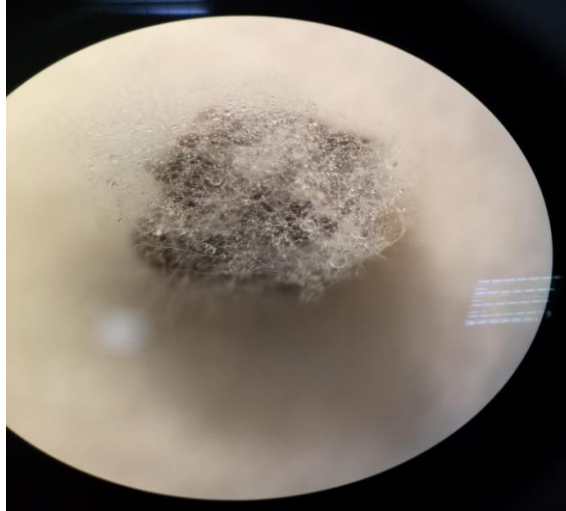


Fonte: Autora.

O controle do *Damping-off* ou tombamento de plântulas é dificultado pelo envolvimento de diversos patógenos que podem atuar isoladamente ou combinado. Os agentes causais mais comuns dessa doença são os fungos dos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Phytophthora* (BEDENDO, 2011). Devido a isto, não foi possível verificar o agente causal da doença através do método *blotter test*, apenas a ocorrência dos sintomas em plântulas de beterraba. Dessa forma, os resultados foram expressos como percentual de plântulas com *Damping off*.

Outro patógeno associado ao tombamento de plântulas é o *Fusarium sp.*, e este foi observado associado às sementes de beterraba em todos os tratamentos avaliados, com presença de micélio branco com aspecto algodinoso denso, como pode ser observado na figura 11.

Figura 11 - *Fusarium sp.* em sementes de beterraba.



Fonte: Autor.

Também não foi constatado a presença de plântulas normais aos quatro dias após a semeadura para nenhum dos tratamentos avaliados, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009a). Esse resultado pode ser um indicativo de baixo vigor do lote utilizado, visto que o desenvolvimento de plântulas normais ocorreu após o período indicado pelo manual para realização do teste.

5.1 QUITOSANA

Em relação aos resultados do recobrimento de sementes com quitosana, não foram observadas diferenças entre as doses do indutor no potencial fisiológico de sementes de beterraba, em relação às variáveis de porcentagem de germinação e massa seca de plântulas (Tabela 1). As doses de quitosana utilizadas não foram eficientes para incrementar a germinação e o desenvolvimento de plântulas de beterraba.

Tabela 1 - Valores médios de porcentagem de germinação (G) de sementes e de massa seca de plântulas (MS), obtidas de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses de quitosana.

Doses (%)	G (%)	MS (g/plântula)
0	58 ^{ns}	1,33 ^{ns}
1	50	1,37
2	52	1,48
4	55	1,46

*NS: não significativo na análise de variância ($p < 0,05$).

Resultados semelhantes foram relatados por outros autores. Tanada-Palmu *et al.* (2005), analisando o efeito do recobrimento de sementes de brócolis e salsa com quitosana, verificaram que este não teve influência na capacidade de germinação e o vigor das sementes tratadas. Em experimento avaliando o tratamento de sementes de pepino com quitosana, as concentrações utilizadas não apresentaram efeito significativo para massa fresca de plântulas (ROCHA, 2015).

Em relação à qualidade fisiológica e sanitária de mudas, também não se observou diferenças significativas para as variáveis de porcentagem de emergência, comprimento de parte aérea de plântulas emersas, quantificação de Fenilalanina amônia-liase e incidência de *Fusarium sp.* (Tabela 2). Esse resultado indica que o tratamento de sementes com quitosana não foi eficiente para incrementar o potencial fisiológico de sementes de beterraba, bem como promover indução de resistência.

Tabela 2 - Valores médios de porcentagem de emergência de plântulas (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE), quantificação de Fenilalanina amônia-liase (FAL) e incidência de *Fusarium sp.* em sementes de beterraba recobertas com diferentes doses de quitosana.

Doses (%)	EM (%)	CPAE (cm)	FAL (uabs)	<i>Fusarium sp.</i> (%)
0	88 ^{ns}	5,95 ^{ns}	0,05 ^{ns}	4,0 ^{ns}
1	86	6,03	0,05	6,0
2	80	6,02	0,05	7,0

4	85	5,91	0,05	7,0
---	----	------	------	-----

*NS: não significativo, na análise de variância ($p < 0,05$).

Observou-se maior porcentagem de emergência quando comparado com a porcentagem de germinação, e isso pode ser relacionado a sanidade, visto que não foi observado *Damping-off* pós-emergente em mudas de beterraba. Esses resultados podem ser explicados pelo mecanismo de escape das plântulas, sendo que ao emergirem do solo solta o tegumento infectado, ao contrário do teste de germinação em papel *germitest*, onde os cotilédones permanecem em contato com o tegumento infectado, causando sua deterioração e reduzindo sua qualidade fisiológica (GOULART, 2018). Esse efeito também foi observado para os demais indutores de resistência avaliados.

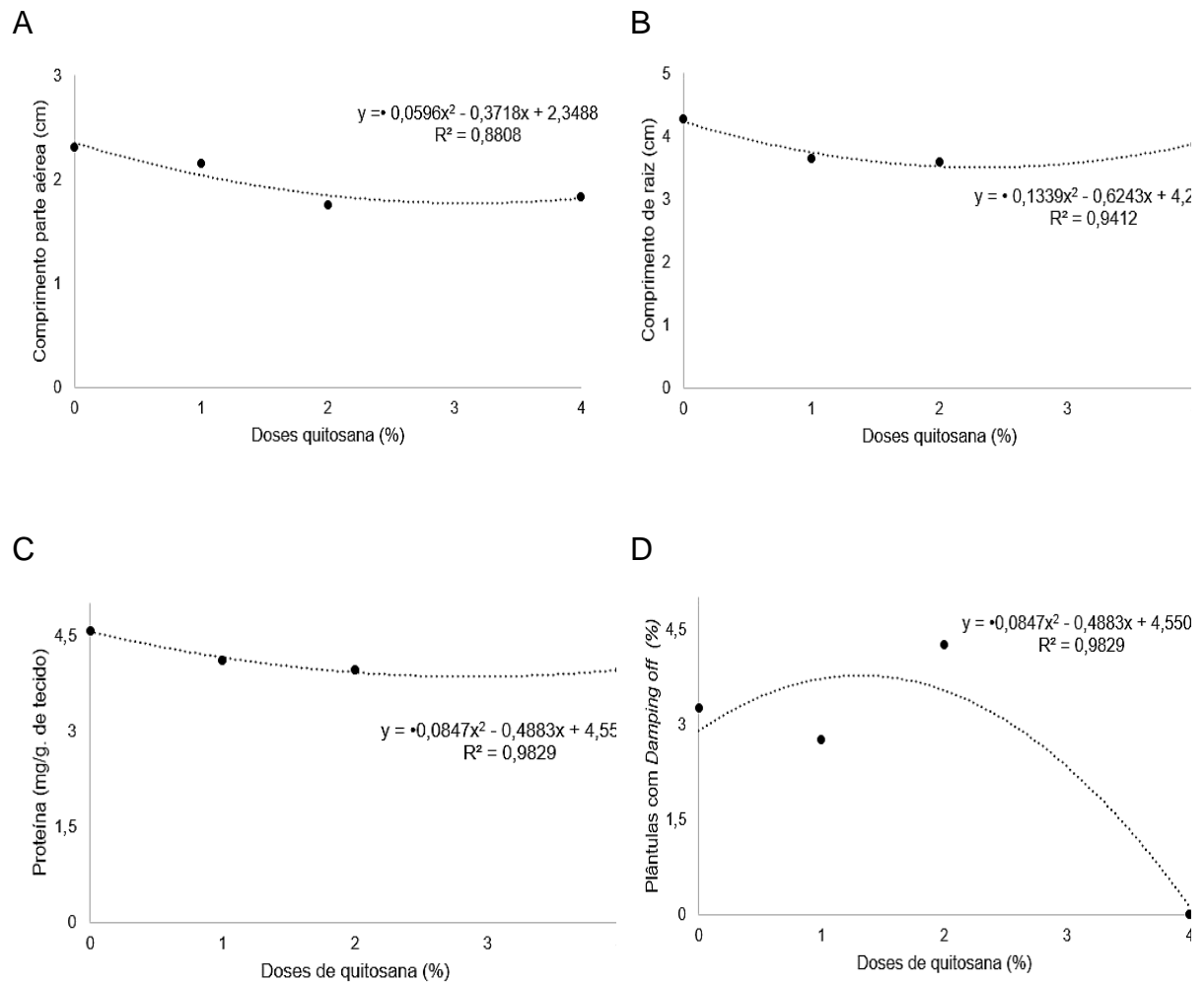
Freddo *et al.* (2012), avaliando o efeito da quitosana na emergência e desenvolvimento de plântulas de acácia-negra, descreveram que as concentrações de quitosana aplicadas às sementes não resultaram em efeito significativo para emergência de plântulas, no entanto, observou-se efeito significativo para altura de plântulas e teor da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). Mazaro *et al.* (2009), também observou estímulo na atividade da enzima FAL pela aplicação de quitosana em sementes de beterraba e tomate, indicando que a enzima pode ter atuado induzindo resistência nas plântulas, conseqüentemente reduzindo a incidência de tombamento.

O efeito não significativo na análise de quantificação de FAL nos tecidos vegetais das plântulas de beterraba observado (tabela 2) pode indicar ausência de condições de estresse nos tecidos vegetais, pois o estresse aumenta a quantidade da enzima na planta devido à transcrição do RNA mensageiro, estimulando conseqüentemente a síntese de compostos fenólicos (COLTRO, 2012).

Em relação ao crescimento de plântulas, observou-se efeito significativo das doses de quitosana no comprimento de parte aérea e raízes de plântulas (figura 12A e 12B). De maneira geral, observou-se curva decrescente em relação à concentração do indutor, apresentando maiores comprimentos no tratamento testemunha. Rocha (2015) observou efeito semelhante em sementes de pepino tratadas com quitosana; neste caso o aumento da concentração causou diminuição linear do comprimento das plântulas.

Esse resultado pode ser explicado devido à constituição da quitosana, por ser um biopolímero do tipo polissacarídeo, não apresenta potencial bioestimulante, utilizado principalmente devido ao seu efeito indutor de resistência.

Figura 12 - Resultado da análise de regressão para as variáveis de comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B), quantificação de proteínas (C) e percentual de plântulas com *Damping off* (D).



Quanto ao teor de proteínas, observa-se que o aumento da concentração de quitosana na semente tem efeito decrescente no teor de proteínas nos tecidos das plântulas, e isso pode ser relacionado à redução observada no comprimento de plântulas, ocasionando redução da amostra utilizada para a quantificação de proteínas (figura 12C). Observou-se maior percentual de plântulas com *Damping-off* pré-emergente na concentração de 2,88%, reduzindo-se a incidência com o aumento da concentração, como pode ser observado na figura 12D. Esse resultado pode indicar que o efeito indutor da quitosana em beterraba pode estar restrito a uma faixa de

concentração mais elevada. Mazaro (2009) também observou maior teor proteico no tratamento testemunha em tomateiro tratado com quitosana, verificando maior efeito de indução de resistência no controle de tombamento de plântulas na concentração de 1,1% de quitosana, indicando que a faixa ideal pode variar de acordo a cultura avaliada.

5.2 ÁCIDO SALICÍLICO

Observou-se resultados significativos ($< 0,05$) pela análise de regressão para a variável de porcentagem de germinação, no entanto, como os ajustes dos modelos de regressão não foram adequados devido aos baixos valores de coeficiente de determinação (R^2) observados, os dados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Regressão das doses de ácido salicílico para a variável de porcentagem de germinação, de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.

Doses (g/L)	G (%)
0	26,4
0,138	26,4
0,207	40
0,276	30,6
Equação	$-119,34x^2 + 60,83x + 25,525$
R^2	0,3182

*NS: não significativo, na análise de variância ($p < 0,05$).

O recobrimento de sementes com ácido salicílico (AS) resultou em aumento na porcentagem de germinação na concentração de 0,207 g/L, considerada uma informação importante, visto que não houve efeito inibitório na germinação, tornando-o viável para a utilização como indutor de resistência em sementes de beterraba. No entanto, apesar de não promover efeito inibitório, observou-se valores baixos de porcentagem de germinação em todas as concentrações, o que pode ser explicado devido à incidência de *Fusarium sp.*, favorecido pelas condições de umidade e

temperatura, prejudicando a germinação de sementes de beterraba e desenvolvimento das plântulas.

As doses de ácido salicílico não foram eficientes para incrementar o crescimento de plântulas de beterraba, não apresentando efeito significativo para as variáveis de comprimento de parte aérea e raízes de plântulas (tabela 4). Bertonceli *et al.* (2015), observaram resultados semelhantes no tratamento de sementes de pepino com ácido salicílico, considerando-os como positivo, visto que representa que não houve efeito fitotóxico ou perda metabólica por desvio da rota para indução de resistência.

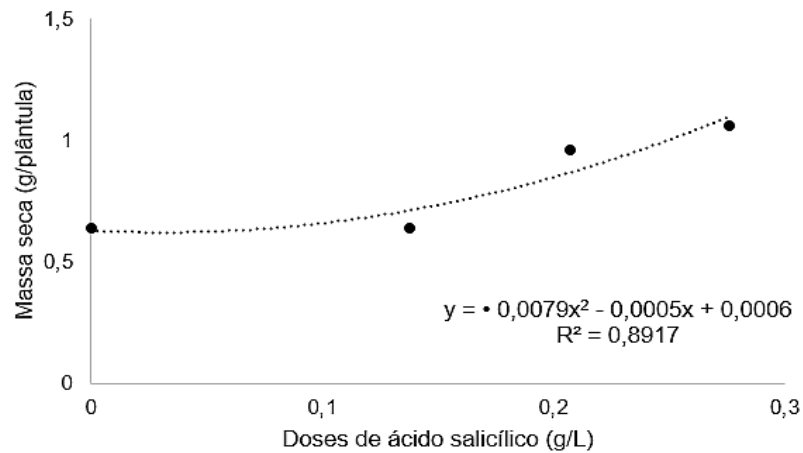
Tabela 4 - Valores médios das variáveis comprimento de parte aérea (CPA) e raízes (CR) de plântulas de beterraba, obtidas de sementes recobertas com diferentes doses de ácido salicílico.

Doses (g/L)	CPA (cm)	CR (cm)
0	2,05 ^{ns}	2,40 ^{ns}
0,138	2,12	2,16
0,207	2,77	3,09
0,276	1,85	2,24

* NS: não significativo, na análise de variância ($p < 0,05$).

Em relação à massa seca de plântulas, apesar dos valores próximos, observou-se efeito significativo das doses utilizadas de ácido salicílico pela análise de regressão, observando melhor incremento na variável na maior concentração, em comparação a testemunha (figura 13). O tratamento com AS pode reduzir o crescimento de plantas, e seu efeito é dependente do ambiente, sendo geralmente associado a uma resposta do AS em induzir a resistência das plantas e alterações nas rotas metabólicas (PAULO JUNIOR, 2018).

Figura 13 - Resultado da análise de regressão para a variável massa seca de plântulas.



Para os parâmetros de porcentagem de emergência, comprimento de parte aérea de plântulas emersas e incidência de *Fusarium sp.*, o tratamento de sementes de beterraba com o ácido salicílico não resultou em alterações estatisticamente significativas (tabela 5). Resultados semelhantes foram observados em outras culturas, como em melancia e girassol (NÓBREGA *et al.*, 2020; BRUNES *et al.*, 2015). O teste de emergência é um parâmetro importante para atestar o vigor, devido às condições adversas em que as sementes são submetidas, podendo considerar-se os resultados observados como positivos, pois o AS não causou reduções nas variáveis de porcentagem de emergência e nem no comprimento de plântulas emersas (NASCIMENTO; SILVA; CANTLIFFE, 2016).

Tabela 5 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE) e incidência de *Fusarium sp.*, de sementes recobertas com diferentes doses de ácido salicílico na qualidade fisiológica e sanitária.

Doses (g/L)	EM (%)	CPAE (cm)	<i>Fusarium sp.</i> (%)
0	92 ^{ns*}	6,13 ^{ns}	5,85 ^{ns}
0,138	88	5,40	6,75
0,207	88	6,42	5,0
0,276	89	5,5	6,25

* NS: não significativo, na análise de variância ($p < 0,05$).

Da mesma forma que observado para a variável de germinação, observou-se efeito significativos pela análise de regressão para percentual de plântulas com incidência de *Damping-off* pré-emergente, no entanto, como os ajustes dos modelos de regressão não foram adequados devido aos baixos valores de coeficiente de determinação (R^2) observados, os dados estão apresentados na tabela 6.

Apesar da baixa incidência, o percentual de plântulas de beterraba com sintomas de *Damping-off* pré-emergente observadas por meio do *blotter test* reduziu a partir da concentração de 0,138 g/L de AS, indicando que a indução de resistência ocorre em concentrações mais elevadas de ácido salicílico (tabela 6). Resultados semelhantes foram observados por Bertocelli *et al.* (2015) e Al-Sohaibani *et al.* (2011), corroborando com a hipótese de que o AS pode atuar como indutor de resistência contra o ataque de patógenos.

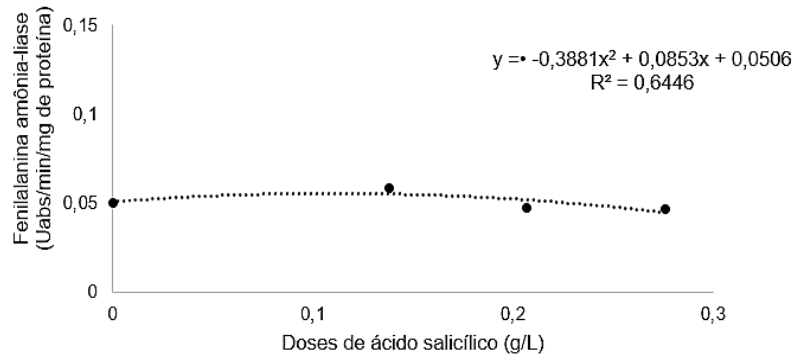
Tabela 6 - Regressão das doses de ácido salicílico para as variáveis de porcentagem de germinação e percentual de plântulas com *Damping off* pré-emergente, de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.

Doses (g/L)	Plântulas com <i>Damping off</i> (%)	
0	1,75	
0,138	0,75	
0,207	0,0	
0,276	0,0	
Equação	$-9,5377x^2 + 3,027x + 2,3363$	
R^2	0,0664	

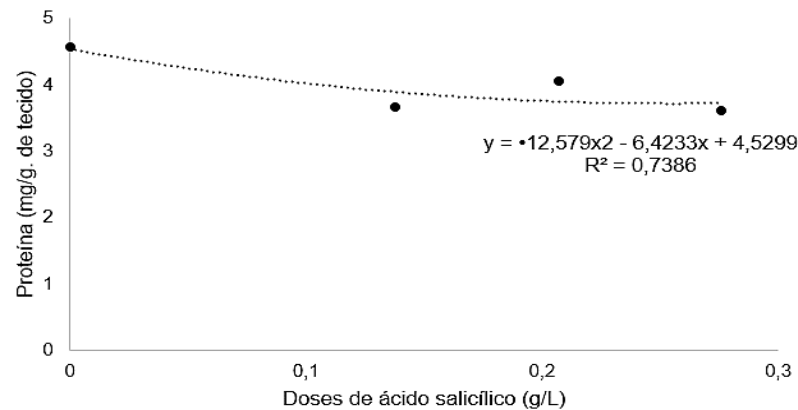
De maneira geral, o aumento na concentração de ácido salicílico resultou em uma pequena redução nos teores de Fenilalanina amônia-liase e proteínas (figuras 14A e 14B), no entanto, existe a possibilidade de que a ativação da enzima FAL tenha ocorrido antes dos 14 dias após a semeadura e reduzido seus teores até o final do experimento (BERTOCELLI *et al.*, 2015).

Figura 14 - Resultado da análise de regressão para as variáveis de quantificação de Fenilalanina amônia-liase (A) e quantificação de proteína (B).

A



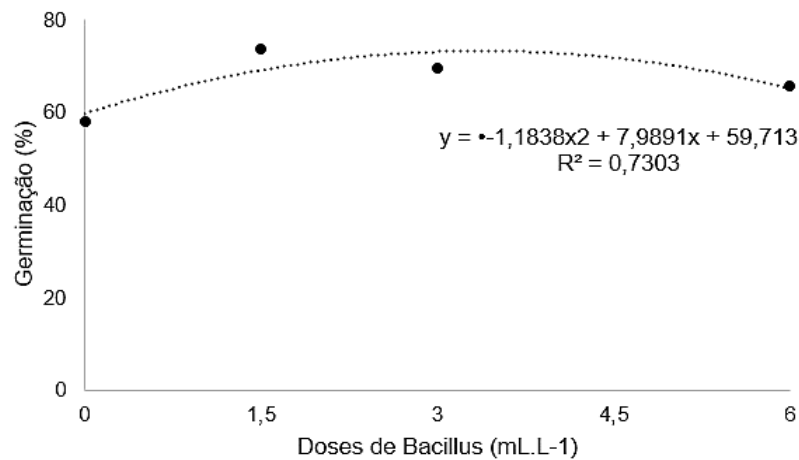
B



5.3 BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS

De maneira geral, o recobrimento de sementes com *Bacillus amyloliquefaciens* resultou em incrementos na variável de porcentagem de germinação em comparação ao tratamento testemunha, com melhor desempenho na dose de $1,5 \text{ mL L}^{-1}$ (figura 15). Em tomate, sementes tratadas com *B. amyloliquefaciens* tiveram a porcentagem de germinação aumentada em 14,37% em relação ao controle (SULTANA *et al.*, 2020). De acordo com Diaz (2018), esses resultados ocorrem devido ao aumento de produção de fitormônios, como citocinina, auxinas e giberelinas.

Figura 15 - Resultado da análise de regressão para a variável de porcentagem de germinação.



As variáveis de comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa seca de plântulas não sofreram influência das doses utilizadas de *Bacillus amyloloquefaciens* (tabela 7). O efeito não significativo observado pode ser explicado devido a uma possível incompatibilidade com o genótipo testado, pois os microrganismos apresentam interações diferentes com cada genótipo, e essa interação pode ser anulada caso não ocorra compatibilidade (MELO & AZEVEDO, 1998). Em sementes de girassol, os isolados de *Bacillus sp.* resultaram em efeito diferentes para cada genótipo analisado para as variáveis de germinação e crescimento de plântulas (SILVA, 2019).

Tabela 7 - Valores médios das variáveis de massa seca de plântulas (MS), comprimento de parte aérea (CPA) e raízes (CR) de plântulas, de sementes recobertas com diferentes doses de *Bacillus amyloloquefaciens* no potencial fisiológico de sementes de beterraba.

Doses (mL.L ⁻¹)	MS (g/plântula)	CPA (cm)	CR (cm)
0	1,4 ^{ns} *	2,30 ^{ns}	4,06 ^{ns}
1,5	1,3	2,53	4,38
3	1,4	2,42	4,26
6	1,4	2,50	4,56

* NS: não significativo, na análise de variância (p<0,05).

As doses de *Bacillus amyloloquefaciens* não resultaram em efeito significativo para os parâmetros de porcentagem de emergência, comprimento de parte aérea de plântulas emersas, como pode ser observado na tabela 8. De acordo com Biswas *et al.*, (2000), os fitormônios produzidos apenas estimulam o crescimento em uma determinada faixa de concentração, podendo ser ineficaz em concentrações mais baixas (BISWAS *et al.*, 2000), como observado em outras culturas tratadas com *Bacillus spp.*, como cenoura e tomate (DOGNINI, 2017; ARAÚJO & CARVALHO, 2009).

Tabela 8 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM), comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE), quantificação de fenilalanina amônia-liase e percentual de plântulas com *Damping off* pré-emergente de sementes recobertas com diferentes doses de *Bacillus amyloloquefaciens* na qualidade fisiológica e sanitária de mudas de beterraba.

Doses (mL.L ⁻¹)	EM (%)	CPAE (cm)	FAL (uabs)	Plântulas com <i>Damping off</i> (%)
0	88 ^{ns*}	5,95 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,95 ^{ns}
1,5	86	5,94	0,04	2,0
3	87	5,31	0,05	1,85
6	83	5,76	0,06	1,95

*NS: não significativo, na análise de variância (p<0,05).

Também não foi observado efeito significativo para quantificação de fenilalanina amônia-liase e percentual de plântulas com sintomas de *Damping-off* pré-emergente (tabela 8). Na cultura do tomate, o tratamento com *B. amyloliquefaciens* supriu significativamente a incidência de *Damping-off* causado por *Sclerotium rolfsii* (SULTANA *et al.*, 2020). Isso demonstra que seu efeito antagonista pode variar entre culturas, agentes causais, e até mesmo isolados de rizobactérias, como foi observado em pepino, sendo que apenas dois isolados de 37 analisados foram capazes de reduzir os sintomas de tombamento pré-emergente (LUCON *et al.*, 2008).

Em experimento para verificar a indução de resistência de *Bacillus cereus* em sementes de tomate, também não foi observado alterações na atividade da fenilalanina amônia-liase (SILVA *et al.*, 2004). A FAL é uma enzima importante para indicar estresses nas plantas, e esta aumenta em resposta aos estresses (RITTER;

SHCULZ, 2004; KUHN, 2007). Nesse caso, devido à baixa porcentagem de incidência dos patógenos e estresses, a mesma pode não ter sido induzida. Outra hipótese seria que a enzima FAL tenha reduzido seus teores até o final do experimento (BERTOCELLI *et al.*, 2015).

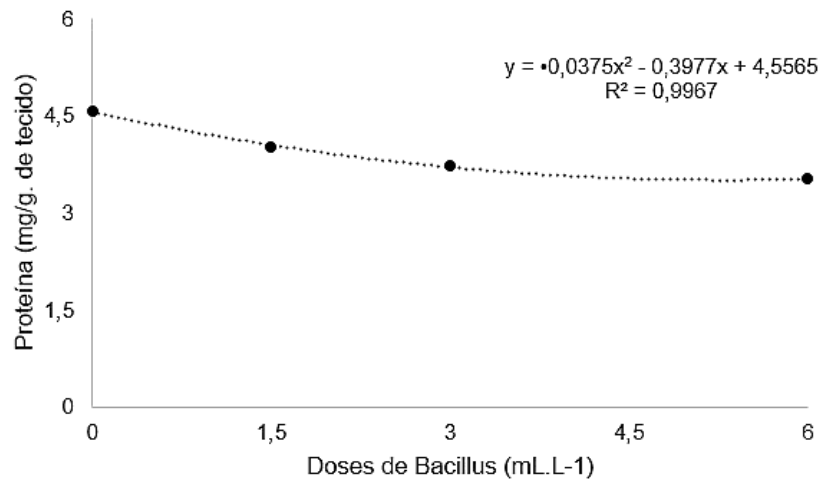
Observou-se resultados significativos pela análise de regressão para a variável de incidência de *Fusarium sp.*, no entanto, devido à presença de médias zero, a linha de tendência ficaria em cima da linha X. Dessa forma, os dados estão apresentados na tabela 9 para melhor entendimento, observando-se melhores resultados na dose de 3 mL L⁻¹. Estudos relatam que genes envolvidos na biossíntese de agentes antifúngicos são encontrados em *Bacillus amyloloquefaciens*, capazes de inibir a germinação de esporos e suprimir o crescimento de *Fusarium oxysporum* (ZHAO *et al.*, 2013), efeito observado também em hifas de *Rhizoctonia solani* (YU *et al.*, 2002).

Tabela 9 - Regressão das doses de *Bacillus amyloloquefaciens* para a incidência de *Fusarium sp.*, de sementes de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.

Doses (mL.L ⁻¹)	<i>Fusarium sp.</i>
	0
1,5	0,75
3	0,00
6	0,75
Equação	$-1,1838x^2 + 7,9891x + 59,713$
R ²	0,7303

Em relação à quantificação de proteínas, observou-se apenas um pequeno decréscimo nos valores analisados com o aumento da concentração de *Bacillus amyloloquefaciens*, em relação à testemunha (figura 16). Uma hipótese para essa redução nos teores de proteínas, é que as proteínas sintetizadas poderiam ser de membrana, não sendo solúveis em tampões aquosos (VOET; VOET, 2006; KUHN, 2007).

Figura 16 - Resultado da análise de regressão para a variável de quantificação de proteína.



5.4 TRICHODERMA HARZIANUM

Não foram observadas diferenças entre as doses do indutor no potencial fisiológico de sementes de beterraba, para as variáveis de germinação, comprimento de parte aérea e de raízes e massa seca de plântulas, como pode ser observado na tabela 10.

Esse efeito pode ser considerado positivo, visto que na literatura é citado que o tratamento com *T. harzianum* é capaz de prejudicar o desenvolvimento de plântulas, como observado na cultura do tomate, resultando em decréscimo no crescimento das plântulas produzidas (ROMAGNA *et al.*, 2019). O efeito negativo causado por isolados de *Trichoderma* pode ser causado devido à produção de compostos que possuem efeito de inibir o desenvolvimento de plântulas, quando em concentrações maiores que a faixa ideal (VINALE *et al.*, 2008). Dessa forma, até a concentração de 0,50 g/L de *Trichoderma harzianum*, não são observados efeitos prejudiciais ao crescimento e desenvolvimento de plântulas de beterraba.

Tabela 10 - Valores médios das variáveis de porcentagem de germinação (%), comprimento de parte aérea (CPA) e raízes (CR) de plântulas e massa seca (MS), de sementes recobertas com diferentes doses de *Trichoderma harzianum* no potencial fisiológico de sementes de beterraba.

Doses (mL.L ⁻¹)	G (%)	CPA (cm)	CR (cm)	MS (g/plântula)
0	55 ^{ns} *	3,25 ^{ns}	3,83 ^{ns}	0,92 ^{ns}
0,125	68	3,60	3,65	0,92
0,25	59	3,08	3,39	0,96
0,50	64	3,23	3,48	0,98

*NS: não significativo na análise de variância (p<0,05).

Em relação à porcentagem de plântulas emersas e comprimento de parte aérea de plântulas emersas, as doses utilizadas de *T. harzianum* não promoveram efeito significativo (tabela 11). Considerando que não foram observados efeitos prejudiciais no potencial fisiológico e desenvolvimento de plântulas de beterraba, o tratamento com *Trichoderma harzianum* é viável para utilização como indutor de resistência.

Tabela 11 - Valores médios das variáveis de porcentagem de emergência (EM) e comprimento de parte aérea de plântulas emersas (CPAE) de sementes recobertas com diferentes doses de *Trichoderma harzianum*, na qualidade fisiológica sanitária de mudas de beterraba.

Doses (mL.L ⁻¹)	EM (%)	CPAE (cm)
0	92 ^{ns} *	6,13 ^{ns}
0,125	89	5,09
0,25	91	6,09
0,50	92	6,07

*NS: não significativo, na análise de variância (p<0,05).

Observou-se resultados significativos pela análise de regressão para percentual de plântulas com *Damping off* pré-emergente, no entanto, devido à presença de médias zero a linha de tendência ficaria em cima da linha X, sendo os valores apresentados na tabela 12 para melhor entendimento. Pode-se observar que percentual de plântulas com *Damping-off* pré-emergente em sementes de beterraba

observadas por meio do *blotter test* reduziu a partir da dose de 0,125 mL L⁻¹ de *T. harzianum*, comprovando seu potencial no controle de doenças fúngicas (tabela 12). Resultados semelhantes foram observados por Sales (2011), no biocontrole de *R. solani* em tomate, fungo associado à ocorrência de *Damping-off*, observando crescimento agressivo do *Trichoderma spp.* confirmando seu potencial antagonista.

Tabela 12 - Regressão das doses de *Trichoderma harzianum* para percentual de plântulas com *Damping off*, de beterraba recobertas com diferentes doses do indutor de resistência.

Doses (mL.L ⁻¹)	Plântulas com <i>Damping off</i> (%)
	0
0,125	0,0
0,25	0,0
0,50	0,0
Equação	$-0,0535 x^2 + 0,0552x + 0,049$
R ²	0,892

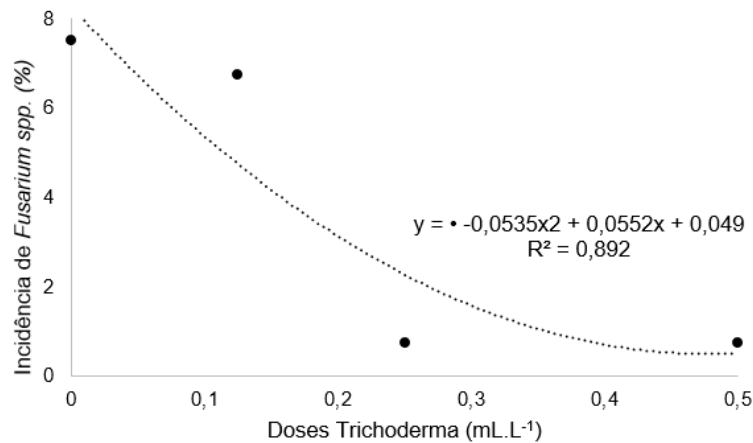
Quanto ao controle de *Fusarium spp.*, observou-se efeito significativo das doses utilizadas do indutor de resistência *T. harzianum*, com queda acentuada na porcentagem de incidência do patógeno (Figura 17A). Em estudo avaliando a eficácia do *T. harzianum* na inibição de fungos produtores de micotoxinas, os autores observaram sinais de lise e desintegração nas espécies atacadas, ocorrendo devido à excreção de enzimas envolvidas na lise, como quitinases, capaz reduzir o crescimento dos fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus carbonarius*, *Alternaria alternata* e *Fusarium oxysporum* (BRAUN *et al.*, 2018).

Observou-se incremento na atividade de Fenilalanina amônia-liase com o aumento das doses utilizadas, coincidindo a concentração de maior atividade da FAL com a menor incidência de *Fusarium spp.*, demonstrando que o tratamento de sementes de beterraba com *Trichoderma harzianum* pode promover alterações bioquímicas em resposta à defesa das plântulas (figura 17B). A fenilalanina amônia-liase é codificada pelo gene *PAL*, resultando na síntese de compostos como a lignina,

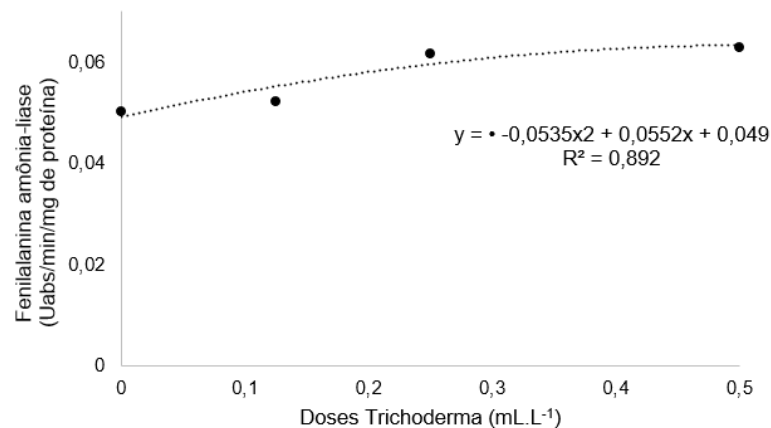
compostos fenólicos e fitoalexinas, que conferem maior resistência à parede celular das plantas ao ataque de patógenos (RAES *et al.*, 2003).

Figura 17. Resultado da análise de regressão para as variáveis incidência de *Fusarium sp.* (20A) e quantificação de Fenilalanina amônia-liase (20B).

A

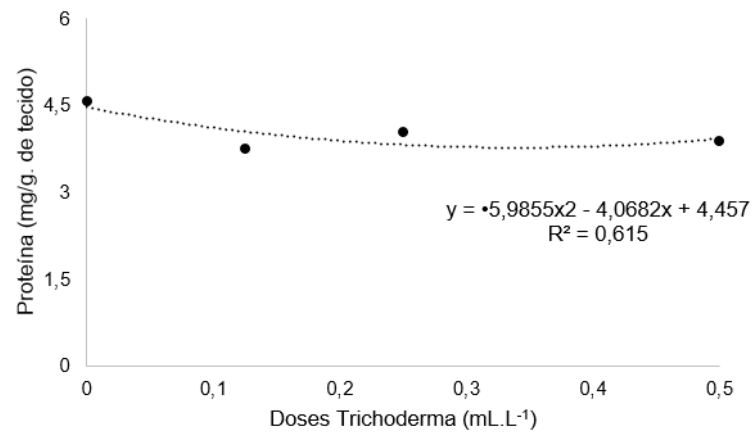


B



Em relação à quantificação de proteínas, observou-se decréscimo nos valores analisados com o aumento da concentração de *T. Harzianum*, assim como foi observado com *Bacillus amyloloquefaciens* (figura 18). Da mesma forma, as proteínas sintetizadas podem ter sido insolúveis em tampões aquosos ou, até mesmo, tenha reduzido seus teores até o final do experimento, quando foi realizado a sua quantificação (VOET; VOET, 2006; KUHN, 2007).

Figura 18 - Resultado da análise de regressão para a variável de quantificação de proteína.



6 CONCLUSÃO

Em relação ao potencial fisiológico de sementes de beterraba, apenas os tratamentos com Ácido salicílico e *Bacillus amyloloquefaciens*, resultaram em efeito significativo positivo.

Quanto à qualidade sanitária de sementes, não foi observado presença de *Rhizoctonia solani* associados as sementes, no entanto, observou-se sintomas de *Damping-off pré-emergente* em plântulas e presença de *Fusarium sp.* Em relação à qualidade sanitária de mudas de beterraba, não foram observados sintomas de *Damping-off pós-emergente*. Observou-se efeito significativo de todos os indutores avaliados para as variáveis de plântulas com *Damping-off pré-emergente* e incidência de *Fusarium sp.*

Observou-se efeito significativo redução nos teores de proteínas totais nas sementes tratadas com Ácido salicílico, *Bacillus amyloloquefaciens* e *T. harzianum*. Ademais, observou-se incremento na atividade de Fenilalanina amônia-liase em sementes tratadas com *Trichoderma harzianum*.

As variáveis bioquímicas avaliadas (teor de proteínas, FAL) podem não ter tido suas atividades evidenciadas, devido ao fato de as avaliações terem sido realizadas apenas aos 14 dias após o tratamento das sementes. Isto ressalta a importância de se realizar mais análises antes dos 14 dias.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINO, F. D. **Análise de viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para o Controle de Fitopatógenos no Brasil.** In: BETTIOL, Wagner. **Biocontrole de Doenças de Plantas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 299-316. BEDENDO, I.P. Damping-off. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.820-828.
- Al-Sohaibani, S.A.; Mahmoud, M.A.; Al-Othman, Monira, R.; Ragab, Mona, M.M.; Saber, M.M. and Abd El- Aziz, Abeer, R.M. Influence of some biotic and abiotic inducers on root rot disease incidence of sweet basil. **African J. Microbiol**, v.22, n. 5, p. 3628-3639, 2011.
- ANDRADE, D.E.G.T., GOMES, A.M.A., SILVA, E.B., PEIXOTO, A.R., FERREIRA, A.S., MICHEREFF, S.J. & MARIANO, R.L.R. Bean seed bacterization with *Bacillus spp.* and fluorescent pseudomonads for *Rhizoctonia solani* biocontrol. In: RYDER M.H., STEPHENS, P.M., BOWEN, G.D. (Ed.) **Improving plant productivity with rhizosphere bacteria.** Dordrecht. Kluwer. 1994. p.77-79.
- ARAÚJO, F. F.; CARVALHO, M. H. M. Crescimento de tomateiro após tratamento de mudas com *Bacillus subtilis* e carbofuran. **Biosci. J**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 59-64, 2009.
- AZEVEDO, V.V.V; CHAVES, S.A; BEZERRA, D.C; LIA FOOK, M.V; COSTA, A.C.F.M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Matérias e Processos**, v.2, n.3, p.27-34. 2007.
- BEDENDO, Ivan P. *Damping off.* In: AMORIM, Lilian; REZENDE, Jorge Alberto Marques; BERGAMIN FILHO, Armando. **Manual de Fitopatologia.** São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2011. Cap. 22. p. 435-441.
- BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, p.557-574, 2001.
- BERNARD, M. F. **Promotores de crescimento na produção de mudas de alface com e sem fertirrigação.** 2017. 39 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2017.
- BERTONCELLI, D. J.; MAZARO, S. M.; ROCHA, R. D. C. D. S.; DALACOSTA, N. L.; LEWANDOWSKI, A.; WAGNER JUNIOR, A. Salicylic acid in the induction of resistance to beet seedling *damping-off* and antifungal activity against *Fusarium sp.*, *in vitro*. Semina: **Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 1, p. 67-76, 29 fev. 2016. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p67>.
- BERTONCELLI, D. J.; MAZARO, S. M.; ROCHA, R. D. C. D. S.; POSSENTI, J. C.; REY, M. D. S.; ZORZZI, I. C. Ácido salicílico na indução de resistência a doenças em pepino e controle de *Pythium sp. in vitro*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 14, n. 2, p. 124-131, 2015.

- BISOGNIN, M. B. et al. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. **Revista de Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 39, n. 3, p. 349-359, set. 2016. Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal. <http://dx.doi.org/10.19084/rca15163>.
- BISWAS, J.C. et al. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, Madison, v.92, n.5, p.880-886, 2000.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- BRANDÃO, R. S. **Avaliação dos aspectos fisiológicos, bioquímicos e moleculares no feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) com o uso do indutor biótico *Trichoderma harzianum* contra *Sclerotinia sclerotiorum***. 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395p (a).
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília, 2009. 200p (b).
- BRAUN, H.; WOITSCH, L.; HETZER, B.; GEISEN, R.; ZANGE, B.; SCHMIDT-HEYDT, M.. *Trichoderma harzianum*: inhibition of mycotoxin producing fungi and toxin biosynthesis. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 280, p. 10-16, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.021>.
- BRUNES, A. P.; DIAS, L. W.; LEITZKE, I. D.; SILVA, A. S. D; SOARES, V. No. TRATAMENTO DE SEMENTES DE GIRASSOL COM ÁCIDO SALICÍLICO. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 18-47, 2015.
- CARVALHO BARROS, F.; SAGATA; DE CASTRO FERREIRA, L. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas à fitopatógenos . **Bioscience Journal** , v. 26, n. 2, 23 Mar. 2010.
- CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, , p. 28-34, 2011.
- CARVALHO, D. D. C.; DE MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; GERALDINE, A. M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 46, n. 8, p.822-828, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2011000800006>.
- CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)**, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, 2012.

- CARVALHO, P. R.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Ácido salicílico em sementes de calêndula (*calendula officinalis* L.) sob diferentes estresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 114-124, 2007.
- CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. **Editora Agropecuária**, Guaíba, 2001. 132p.
- CHEN, X. H.; KOUMOUTSI, A.; SCHOLZ, R.; SCHNEIDER, K.; VATER, J.; SÜSSMUTH, R.; PIEL, J.; BORRISS, R. Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens. **Journal of biotechnology**, v. 140, n. 1, p. 27–37, 2009.
- CHOWDHURY, S. P. et al. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. **Frontiers In Microbiology**, [Si], v. 6, n. 780, p. 1-11, jun. 2015.
- COLTRO, S. **Efeito do tratamento térmico e do ácido salicílico na atividade de polifenoloxidase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase, nas características físico-químicas e na incidência de patógenos em morangos durante o armazenamento**. 2012. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012.
- DE SOUZA, E. P. et al. Alta dosagem de *Trichoderma harzianum* em tomateiro influencia negativamente a produção de mudas e produção. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, [S.l.], v. 34, n. esp., p. 20-36, set. 2018. ISSN 2596-2809.
- DIAS, P. P.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, M. C. A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 39, n. 4, p.258-262, dez. 2013.
- DIAZ, P. A. E. **Bacillus spp. como promotores de crescimento na cultura do algodão**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, 2018. 61 p
- DOGNINI, A. C. **Interferências das aplicações de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. na qualidade das sementes de cenoura**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2017.
- DOORNBOS, R. F; VAN LOON, L. C; BAKKER, P. A. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. **A review. Agron. Sustain. Dev.** 32, 227–243. doi: 10.1007/s13593-011-0028-y.
- DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, **Palo Alto**, v. 42, n. 1, p. 185-209, 2004.
- DOTTO, L.; SILVA, V. N. Beet seed priming with growth regulators. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 075-080, 4 ago. 2017. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p1785>.
- ETHU, L. Z. et al. *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose do tomateiro. **Ciência e Natura**, Rio Grande do Sul, v. 30, n. 2, p.1-14, fev. 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2ª edição revista e ampliada. Viçosa: UFV, 412 p. 2003.

FINCH-SAVAGE, W.e.; BASSEL, G.w.. Seed vigor and crop establishment: extending performance beyond adaptation: extending performance beyond adaptation. **Journal Of Experimental Botany**, [s.l.], v. 67, n. 3, p. 567-591, 19 nov. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erv490>.

FREDDO, A. R. et al. Efeito da quitosana na emergência, desenvolvimento inicial e caracterização bioquímica de plântulas de *Acacia mearnsii*. **Revista Árvore**, [s.l.], v. 36, n. 6, p. 1039-1046, dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-67622012000600005>.

FREDDO, A. R. **Potencial do óleo de *aloyisia citriodora palau* no controle de fitopatógenos e na indução de resistência ao tombamento de plântulas de feijão, pepino e beterraba**. 2015. 130 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

FREDDO, A. R.; MAZARO, S. M.; BRUN, E. J.; WAGNER JÚNIOR, A. Efeito da quitosana na emergência, desenvolvimento inicial e caracterização bioquímica de plântulas de *Acacia mearnsii*. **Revista Árvore**, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 1039-1046, dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-67622012000600005>.

FREDDO, A. R.; MAZARO, S. M.; WAGNER JÚNIOR, A.; BRUN, E. J. Indução de resistência ao tombamento de plântulas de eucalipto pelo tratamento das sementes com quitosana. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 5, n. 2, p. 33-46, 2012.

GARCIA FILHO, E. et al. **Mapeamento e qualificação da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**. Brasília: Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2017. 79 p.

GOMES, Flávia B.; MORAES, Jair C.; SANTOS, Custódio D. dos; ANTUNES, Cristiana S. Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: aphididae). **Neotropical Entomology**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 185-190, abr. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2008000200013>.

GOULART, A. C. P. **Fungos em Sementes de Soja**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2018.

GUEDES, R.S; ALVES, E.U.; GOLÇALVES, E.P.; VIANA, J.S.; MEDEIROS, M.S.; LIMA, C.R.; Teste de comprimento de plântulas na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, b.4, p.793 – 802, 2009.

HARVESON, R. M. **Diseases of Beet (*Beta vulgaris L.*)**. 2016. Disponível em: <https://www.apsnet.org/edcenter/resources/commonnames/Pages/Beet.aspx>. Acesso em: 14 jul. 2021.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, p.377-393, 2000.

HAVEROTH, R.; NASCIMENTO, A.; MARCUZZO, L. L. **Efeito de temperaturas e horas de molhamento foliar na severidade da cercosporiose (*cercospora beticola*) da beterraba.** Disponível em: <http://eventos.ifc.edu.br/micti/wp-content/uploads/sites/5/2015/10/EFEITO-DE-TEMPERATURAS-E-HORAS-DE-MOLHAMENTO-FOLIAR-NA-SEVERIDADE-DA-CERCOSPORIOSE-CERCOSPORA-BETICULA-MICTI.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2020.

HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais.** 2.ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264).

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário de 2006:** Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasil. 2009. 777 p.

ISTA. 2015. International rules for seed testing. Basserdorf, Switzerland: International Seed Testing Association.

JANDA, T.; HORVÁTH, E.; SZALAI, G.; PÁLDI, E.. Role of Salicylic Acid in the Induction of Abiotic Stress Tolerance. Salicylic Acid: A Plant Hormone. [s.l.], **Springer Netherlands** p.91-150, 2007.. http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-5184-0_5.

JONES, D.H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry** 23: 1349-1359. 1984.

KARIMI, E.; SAFAIE, N.; SHAMS-BAKSH, M.; MAHMOUDI, B. *Bacillus amyloliquefaciens* SB14 from rhizosphere alleviates *Rhizoctonia damping-off* disease on sugar beet. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 192, p. 221-230, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.011>.

KATIYAR, D.; HEMANTARANJAN, A.; SINGH, B. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. **Indian Journal Of Plant Physiology**, [s.l.], v. 20, n. 1, p.1-9, 5 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40502-015-0139-6>.

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) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LAZZARETTI, e; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 54, n. 1-2, p.89-96, jan. 1997. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-90161997000100013>.

LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, Milena A.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 691-697, jun. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2008000600004>.

MACHADO, D. F. M. et al. Trichoderma no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p.274-288, jun. 2012.

MAZARO, S.M. **Indução de resistência a doenças em morangueiro pelo uso de elicitores.** 2007. 87p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MAZARO, S. M.; WAGNER JÚNIOR, A.; DOS SANTOS, I.; CITADIN, I.; POSSENTI, J. C.; DE GOUVÊA, A.. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate

pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 44, n. 11, p.1424-1430, nov. 2009.

MELO, I.S. (1998) - Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S. e Azevedo, J.L. (Ed.). **Controle Biológico**, v.1. Jaguariúna, Embrapa, p.17–60.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; DA SILVA, P. P. **Qualidade fisiológica da semente e estabelecimento de plantas de hortaliças no campo**. 2011. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/911285/4/palestra17CursoSementesHortaliças11.pdf>.

NASCIMENTO, W. M.; DA SILVA, P. P.; CANTLIFFE, D. J. Qualidade das sementes e estabelecimento de plantas. In: NASCIMENTO, W. M.; NASCIMENTO, W. M. **Produção de Mudanças de Hortaliças**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 55-87.

NÓBREGA, J. S. *et al.* Salinidade e ácido salicílico no desenvolvimento inicial de melancia. **Revista Desafios**, v. 7, n. 2, p. 163-171, 2020.

DE OLIVEIRA, A. M. **Tratamentos alternativos na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja**. 2019. 20 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2019.

OLIVEIRA, G. R. F. et al. Seeds and inoculation with *Bacillus subtilis*. **Brazilian journal of biosystems engineering**, Ilha Solteira, v. 10, n. 4, p. 439–448, 2016.

PALVA, T.K.; HURTIG, M.; DAINDRENAN, P.; PALVA E.T. Salicylic acid induced resistance to *Erwinia carotovora subsp. carotovora* in tobacco. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, St. Paul, v.7, p.356-363, 1994.

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo. In: AMORIM, Lilian; REZENDE, Jorge Alberto Marques; BERGAMIN FILHO, Armando. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2011.

PAULO JUNIOR, J. **Ácido salicílico e mancozebe na cultura de feijão: parâmetros fisiológicos e componentes de produção**. 2018. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2017.

Perry DA. The concept of seed vigour and its relevance to seed production techniques. In: Hebblethwaite PD, ed. **Seed production**. London: Butterworths, 585–591. 1980. PODLASKI, S.; CHOMONTOWSKI, C. Various Methods of Assessing Sugar Beet Seed Vigour and Its Impact on the Germination Process, Field Emergence and Sugar Yield. **Sugar Tech**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 130-136, 6 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12355-019-00754-5>.

RAES, J. et al. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in arabidopsis. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 133, n. 3, p. 1051 – 1071, Mar. 2003.

RAGAZZO-SÁNCHEZ, J. A.; ROBLES-CABRERA, A.; LOMELÍ-GONZÁLEZ, L.; LUNA-SOLANO, G.; CALDERÓN-SANTOYO, M. Selección de cepas de *Bacillus spp.* productoras de antibióticos aisladas de frutos tropicales. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, v. 17, n. SPE1, p. 5–11, 2011.

RITTER, H.; SCHULZ, G.E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Cell**, Baltimore, v. 16, p. 3426-3436, 2004.

ROCHA, R. C. D. S. *et al.* Quitosana na indução de resistência ao tombamento de plântulas de tomate causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Scientia Agraria Paranaensis**, Paraná, v. 16, n. 4, p. 430-435, 2017.

ROCHA, E. C. D. S. **Quitosana na indução de resistência ao tombamento de plântulas de espécies olerícolas e no controle de fitopatógenos in vitro**. 2015. 68 f. Tese (Doutorado) - Curso de Produção Vegetal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

RODRIGUES, A. A. C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 492-499, 2006.

RODRIGUES, F.A.; VALE, F.X.R.; KORNDÖRFER, G.H.; PRABHU, A.; DATNOFF, L.E.; OLIVEIRA, A.M.A.; ZAMBOLIM, L. Influence of silicon on sheath blight of rice in Brazil. **Crop Protection**, v.22, p. 23-29. 2002.

ROMAGNA, I. S.; JUNGES, E.; KARSBURG, P.; PINTO, S. Q. Bioestimulantes em sementes de olerícolas submetidos a testes de germinação e vigor. **Scientia Plena**, [S.L.], v. 15, n. 10, p. 2-6, 15 nov. 2019. Associação Sergipana de Ciência. <http://dx.doi.org/10.14808/sci.plena.2019.100201>.

ROMPF, R.. An elicitor-induced cDNA from aerial (*Dioscorea bulbifera*L.) encodes a pathogenesis-related type 4 protein. **Plant Cell Reports**, v. 18, p.601-608. 1999

SALES, R. S. A. **Controle biológico de *rhizoctonia solani*, agente causal do tombamento do tomateiro, com *Trichoderma spp.*** 2011. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agricultura no Trópico Úmido, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2011.

SCHIPPERS, B.; BAKKER, A.W.; BAKKER, P.A.H.M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annu. Rev. Phytopathol.** 115:339-58. 1987.

SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S.; MACAGNAN, D.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; PEREIRA, M.C.B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. **Biological control**, Orlando, v. 29. P. 288-298, 2004.

DA SILVA, M. E. C.; DE MELO, I. S.; NASCIMENTO, R. S.; ROSSI, P.; RAMOS, N. P. Germinação e vigor de girassol com uso de bactérias promotoras de crescimento. **In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2019**, Campinas. Anais... Campinas: Instituto Agrônomo, 2019. Artigo 19406.

SOARES, V. N.; RODRIGUES, H. C. S.; GADOTTI, G. I.; MENEGHELLO, G. E.; VILLELA, F. A. Influence of fungi associated with watermelon seeds on physiological and health quality. **Australian Journal Of Crop Science**, [s.l.], v. 10, n. 6, p. 852-856, 20 jun. 2016. Southern Cross Publishing. <http://dx.doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.06.p7517>.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Campinas. **Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia**, v. 23, p. 176-181. 2000.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

Sultana, S.; Paul, S. C.; Parveen, S.; Alam, S.; Rahman, N.; Jannat, B.; Isolation and identification of salt-tolerant plant-growth-promoting rhizobacteria and their application for rice cultivation under salt stress. **Can. J. Microbiol.** 66, 144–160. 2020. doi: 10.1139/cjm-2019-0323

SZILAGYI-ZECCHIN, Vivian J. et al. Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum* FZB42 em cultura orgânica. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p.1-8, mar. 2015.

TANADA-PALMU, P. S.; PROENÇA, P. S. P.; TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; GROSSO, C. R. F. Recobrimento de sementes de brócolos e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. **Bragantia**, [S.L.], v. 64, n. 2, p. 291-297, 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0006-87052005000200016>.

TIVELLI, S. W. **Beterraba: do plantio à comercialização**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2011. (Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 210).

TORTELLI, B. et al. Treatments for *Sclerotinia sclerotiorum* on Inoculated Bean Seeds and Effects on Health and Physiological Quality. **Journal Of Agricultural Studies**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 371-386, 2 mar. 2020. Macrothink Institute, Inc...

VALENTE, T. C. T. **Expressão gênica e atividade de catalase e fenilalanina amonia liase ativadas por indutores de resistência em cafeeiro**. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

VINALE, F. et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, [s.l.], v. 72, n. 1-3, p.80-86, jan. 2008.

VOET, D.; VOET, J.G. **Bioquímica**, 3.ed. Porto Alegre: Artmed. 2006. 1596p.

YU, G. Y.; SINCLAIR, J.B.; HARTMAN, G. L.; BERTAGNOLLI, B. L. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 7 p. 955 – 963, 2002.

YU, T; ZHENG, X. D. Salicylic Acid Enhances Biocontrol Efficacy of the Antagonist *Cryptococcus laurentii* in Apple Fruit. **Journal Of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.166-174, jun. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-005-0077-z>.

ZENG, D.; LUO, X. Physiological Effects of Chitosan Coating on Wheat Growth and Activities of Protective Enzyme with Drought Tolerance. **Open Journal Of Soil Science**, [s.l.], v. 02, n. 03, p.282-288, 2012. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/ojss.2012.23034>.

ZHAO, P.; QUAN, C.; WANG, Y.; WANG, J.; FAN, S.. *Bacillus amyloliquefaciens* Q-426 as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum*f.

sp.spinaciae. **Journal Of Basic Microbiology**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 448-456, 2 abr. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.201200414>.