

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

POTENCIAL DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ANGICO-BRANCO (ANADENANTHERA COLUBRINA (VELLOZO) BRENNAN) E NO CONTROLE DE FUSARIUM SP. EM CONDIÇÕES IN VITRO.¹

Mychei Preuss Da Cruz², Vinícius Tadeu Franceschi³, Sérgio Miguel Mazaró⁴, Janice De Fátima Preuss Da Cruz⁵, Ayrton Avila Da Cruz⁶.

¹ Pesquisa realizada durante trabalho de conclusão de Curso Superior de Engenharia Florestal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

² Acadêmica de Engenharia florestal- Universidade Tecnológica federal do Paraná-UTFPR, Campus Dois Vizinhos – mychelipreuss@outlook.com.br

³ Acadêmico do programa pós graduação PPGSIS da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, e-mail: viniciusfranceschi@outlook.com

⁴ Professor Doutor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, COAGR, e-mail: sergio@utfpr.edu.br

⁵ Licenciada em Ciências no Ensino Fundamental e Química no Ensino Médio pela Unijuí . Mestranda do Programa de Pós – Graduação em Educação nas Ciências/UNIJUÍ. – janicequimica@gmail.com

⁶ Mestre em Educação nas Ciências pela UNIJUÍ. Docente do Curso Técnico em Agropecuária Integrado ao Ensino Médio da Escola Técnica Estadual Cruzeiro do Sul. - ayrtonac@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

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

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

Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm demonstrando o potencial de métodos alternativos no tratamento de sementes. A indução de resistência é um método que envolve a ativação de mecanismos de defesa presentes na planta, capazes de ativar/induzir respostas de defesa vegetal. Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agente biótico, como microrganismo inativado, ou abiótico, como produtos a base de salicilatos, fosfitos, acibenzolar-S-metil, entre outros. Essas moléculas capazes de ativar/induzir qualquer resposta de defesa nas plantas são chamadas de

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

elicitores ou eliciadores (PASCHOLATI, 1994). As interações de plantas a esses indutores são definidas a partir de um reconhecimento, com posterior transdução do sinal externo, ativação de mensageiros secundários e expressão de genes específicos (LEITE et al., 1997).

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

METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia e de Sementes e no de Fitopatologia da UTFPR Campus Dois Vizinhos com objetivo de avaliar o potencial dos indutores no tratamento de sementes de angico branco. As sementes de angico que já estavam naturalmente com a presença de patógenos, foram tratadas por imersão por 2 minutos, em solução de ácido salicílico (2,0mM), fenilalanina (2,0mM), fosfito de potássio (0,001%) e Acibenzolar-S-Metil – ASM (0,005%). Como testemunha foi utilizada água destilada. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a parcela constituída por 50 sementes. Após, os tratamentos, as sementes foram armazenadas por sete dias na câmara germinadora com temperatura de 25°C (± 1) com fotoperíodo de 12 horas. Após o período de armazenamento, foram avaliados os parâmetros de germinação, tamanhos de plântulas e massa fresca. Ainda, retirou-se material vegetal para as análises bioquímica, sendo proteínas totais, atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinase e β -1,3-glucanase.

Para o experimento in vitro, o delineamento experimental inteiramente casualizado, em 4 repetições, sendo a unidade experimental composta por uma placa. Os indutores, nas mesmas concentrações do experimento do tratamento de sementes, foram adicionados ao meio de cultura BDA e vertidos em placas de Pedri® de 9 cm de diâmetro. Em seguida discos de 3mm de diâmetro de micelio de *Fusarium* sp. foram transferidos para o centro da placa. As placas foram fechadas e incubadas em BOD à 26 °C com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente por 6 dias, até a testemunha tomar conta de toda a placa. Os dados foram tabulados e submetidos a análise de variância, para as variáveis que apresentarem significância será realizado regressão com auxílio do software Assistat®

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

vez que, acredita-se que a ativação de rotas de defesa possam causar perca energética para a planta.

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

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

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

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

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

Tratamento	Proteína (mg g ⁻¹ de tecido)	FAL (UAbs/min.mg prot)	Quitinase (U.E./min/ mg/proteína)	B 1,3-Glucanase (U.E./min/ mg/proteína)
Testemunha	6,701879 ^{ns}	0,020416 a	0,0468787 ^{ns}	0,0021926 ^{ns}
Fosfito	6,057188	0,011279 ab	0,0758765	0,0019627
Fenilalanina	6,874922	0,014606 ab	0,0675233	0,0013083
Acido salicílico	7,836349	0,006313 b	0,0428196	0,0017774
ASM	7,808526	0,009883 ab	0,0390069	0,0020746
CV(%)	11.62	21.09	19.10	24.60

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

Tais resultados demonstram que os indutores avaliados apresentam reduzida ação de indução de resistência quando aplicados em sementes de angico branco. Outro fator que pode ser considerado, é que as análises bioquímicas foram realizadas somente no final do experimento, com 7 dias, sendo

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

que pode ter ocorrido atividade de indução em período anterior ao término do experimento, desta forma não foi possível quantificar tal ação indutora.

No experimento *in vitro* os resultados demonstraram que o fosfito de potássio inibiu totalmente o crescimento micelial de *Fusarium sp.* em condições *in vitro*. Ainda os indutores ASM e fenilalanina não diferiram da testemunha (Figura 1).

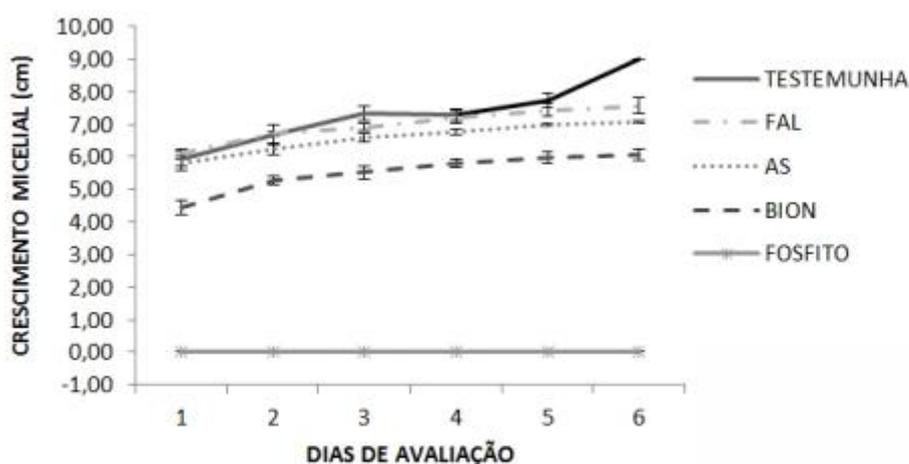


Figura 1: Crescimento Micelial de *Fusarium sp.* submetido a diferentes tratamento *in vitro*. UTFPR-Dois Vizinhos-PR. Fonte: O autor, 2016.

O efeito direto dos indutores sobre patógenos é algo importante, pois pode inviabilizar o mesmo, em processo anterior a infecção de sementes. O efeito *in vitro* de indutores sobre patógenos já foi observado com o uso de fosfitos, como no trabalho desenvolvido por Caixeta et al (2012) avaliando diferentes concentrações de fosfito de potássio no controle dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli* e *Sclerotinia sclerotiorum*, observou que houve inibição quase total do crescimento micelial do fungo, e menor velocidade no crescimento nas maiores concentrações utilizadas (0,5 μL mL). No entanto já foi confirmado por Araujo et al.(2008) ,que os fosfitos se comportam diferentemente para cada fungo, onde poderão ter ação fungistática ou fungicida de acordo com a dosagem e o fungo testado. Dalacosta, et al. (2014) trabalhando com diferentes concentrações de fosfito sobre crescimento micelial de *Fusarium sp* e *Rhizoctina solani sp in vitro*, observaram que o aumento das concentrações no meio, reduziu o crescimento micelial dos patógenos em estudo

CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que o tratamento de sementes com os diferentes indutores não interfere sobre os parâmetros fisiológicos das sementes. E quanto a indução de resistência os

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

tratamentos interferem na atividade da FAL, no entanto, não apresentam ação sobre a quitinase e β -1,3 glucanase.

Em condição *In vitro* o fosfito de potássio apresenta potencial de controle de *Fusarium* sp. inibindo totalmente o crescimento micelial.

PALAVRAS-CHAVE: Sementes florestais. Controle Alternativo. Patógeno. Parâmetros Bioquímicos.

REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

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