

Ácido salicílico na indução de resistência a doenças em pepino e controle de *Pythium* sp. *in vitro*

Salicylic acid on induction of disease resistance in cucumber and control of Pythium sp. in vitro

Douglas Junior Bertoncelli*, Sérgio Miguel Mazaro, Rita de Cacia Dosciatti Serrão Rocha, Jean Carlo Possenti, Maristela dos Santos Rey e Ivan Carlos Zorzzi

Recebido em 04/11/2014 / Aceito para publicação em 27/03/2015.

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de concentrações de ácido salicílico (AS) na indução de resistência ao tombamento de plântulas de pepino e no controle *in vitro* de *Pythium* sp. O tratamento das sementes de pepino foi realizado com imersão em solução de AS por 5 min nas concentrações de 0 (água destilada); 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM. Em seguida foram semeadas em bandejas contendo o substrato Plantmax Florestal® previamente esterilizado e inoculado com *Pythium* sp. O experimento foi conduzido por 14 dias em câmara de cultivo com controle de temperatura ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), luminosidade (fotoperíodo de 12 horas) e umidade relativa ($70\% \pm 10\%$). Foram avaliadas a porcentagem de emergência de plântulas, porcentagem de tombamento, comprimento de plântula e massa da matéria fresca. Foi também quantificado os teores das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), β -1,3-glucanase e quitinases. No experimento *in vitro* o AS foi incorporado ao meio BDA (Batata-Dextrose e Agar) e avaliado o crescimento micelial de *Pythium* sp. O tratamento de sementes de pepino com concentrações acima de 1 mM de AS reduz a incidência de tombamento de plântulas causado por *Pythium* sp., no entanto, não foi possível associar com enzimas relacionadas a indução de resistência. O AS não apresenta efeito sobre o crescimento micelial de *Pythium* sp. *in vitro*.

PALAVRAS-CHAVE: *Cucumis sativus* L., elicitor, indutor resistência, tombamento.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of salicylic acid concentrations (SA) in the induction of resistance of tipping cucumber seedlings and *in vitro*

control of *Pythium* sp. The treatment of cucumber seeds was carried out using SA soaking solution for 5 min at concentrations of 0 (distilled water), 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mM. They were then sown in trays containing Plantmax Florestal® substrate sterilized and inoculated with *Pythium* sp. The experiment was conducted for 14 days in a growth chamber with controlled temperature ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), light (photoperiod of 12 hours) and relative humidity ($70\% \pm 10\%$). We evaluated the percentage of seedling emergence, percentage of tipping, seedling length, and fresh weight. The levels of the enzymes phenylalanine ammonia lyase (PAL), β -1,3-glucanase and chitinase were also quantified. In the experiment *in vitro*, SA was incorporated into the PDA (Potato, Dextrose and Agar) and we measured the mycelial growth of *Pythium* sp. The treatment of cucumber seeds with concentrations above 1 mM SA reduces the incidence of seedling damping-off caused by *Pythium* sp., however, it was not possible to discover enzymes related to the induction of resistance. The SA has no effect on the mycelial growth of *Pythium* sp. *in vitro*.

KEYWORDS: *Cucumis sativus* L., elicitor, inducing resistance, *damping-off*.

INTRODUÇÃO

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma planta de origem Asiática, sendo cultivado na Índia há mais de 300 anos, com boa adaptação e produção em ambientes protegidos e no campo (FONTES 2005). No Brasil tem sido evidenciada sua importância, por ser um fruto bastante apreciado e consumido sob a forma de fruto imaturo, em saladas e dentre outras formas de consumo (CARDOSO & SILVA 2003).

Essa cultura é suscetível a diversas doenças, dentre elas, o tombamento de plântula ou "*damping-*

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR, Brasil.

*Autor para correspondência <dj_bertoncelli@hotmail.com>.

off" causado por *Pythium* sp., que é considerada a mais problemática, pois ataca a cultura na fase de plântula, podendo ocorrer na pré e pós-emergência, principalmente sob temperaturas elevadas e com alta umidade (LUCON et al. 2008)

Naturalmente as plantas apresentam defesas contra patógenos ou pragas, que estão presentes antes do aparecimento destes agentes. Dessa forma, ao ser atacada, ativa-se na planta uma série de genes relacionados à defesa vegetal responsáveis pela produção de compostos antimicrobianos, bem como ativadores de proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP), além de respostas de hipersensibilidade (DURRANT & DONG 2004). Essa resistência induzida sistemicamente nas plantas ocorre pela ação de agentes externos bióticos ou abióticos, sem nenhuma alteração do genoma da planta, sendo estes chamados de elicitores (HAMMERSCHMIDT et al. 2000).

De acordo com CAMPOS (2009), o elicitor ácido salicílico, é um mensageiro que ativa a resistência contra patógenos incluindo a síntese de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), com expressão das quitinases e β -1,3-glucanases. Essas enzimas degradam polissacarídeos estruturais da parede celular de fungos ou alterações na sua arquitetura, prejudicando o desenvolvimento do microrganismo e impedindo seu crescimento (ZAREIE et al. 2002). Adicionalmente, o AS atua ativando a fenilalanina amônia-liase, enzima chave entre o metabolismo primário e secundário, envolvida na rota dos fenilpropanoides na produção de compostos do metabolismo secundário (DURRANT & DONG 2004). O AS também pode apresentar atividade antifúngica *in vitro*, como observado por YU & ZHENG (2006), onde o indutor apresentou efeito fungicida *in vitro* contra o fungo *Penicillium expansum*.

Aplicação exógena de ácido salicílico em tomateiro, morangueiro, dentre outras espécies de plantas, induziu a expressão de genes de PR-Proteínas em locais distantes da aplicação do indutor, sugerindo que o ácido salicílico atue como sinalizador na resistência sistêmica adquirida (SAR), que é uma forma de resistência induzida que aumenta a resistência de plantas contra subseqüentes infecções e ataques de fitopatógenos (KESSMANN et al. 1994, AUDENAERT et al. 2002).

A aplicação de AS inibiu o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*,

F. oxysporum, e *Macrophomina phaseolina*, além de reduzir o tombamento de plântulas e podridão de raízes de fava (*Vicia faba* L.) (ABDEL-MONAIM 2013). Em manjerição, o tratamento de sementes de AS na concentração de 8 mM, reduziu o *damping-off* de pré-emergente causados pelos patógenos *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (AL-SOHAIBANI et al. 2011)

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de ácido salicílico (AS) na indução de resistência ao tombamento de plântulas de pepino e no controle de *Pythium* sp., *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, sendo a etapa de cultivo conduzida em uma câmara controlada (sistema fitotron), instalada no Laboratório de Fisiologia Vegetal e a *in vitro* no laboratório de fitopatologia na mesma instituição, no ano de 2014.

As sementes de pepino Conserva Wisconsin SMR 18 foram obtidas diretamente de empresa produtora. O tratamento das sementes foi realizado por imersão, durante cinco minutos, em solução de AS nas concentrações de 0 (água destilada); 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mM. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Em seguida as sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido contendo o substrato Plantmax Florestal®, previamente esterilizado e inoculado com *Pythium* sp. Cada unidade experimental foi constituída por 20 células, onde cada célula recebeu uma semente tratada com o indutor.

O micélio de *Pythium* sp. foi previamente inoculado em sementes de trigo autoclavadas, sendo mantidos em incubadora B.O.D. As sementes de trigo contaminadas com *Pythium* sp. foram utilizadas como veículo contaminante ao substrato esterilizado, na proporção de 10 g kg⁻¹. Os inóculos foram incorporados ao substrato três dias antes de receber as sementes.

As bandejas foram mantidas na câmara de cultivo com as dimensões de 2,5 m comprimento x 2,5 m largura x 2,5 m altura, com controle temperatura (23 °C \pm 2 °C), luminosidade (fotoperíodo de 12 horas) e umidade relativa (70% \pm 10%). Após 14 dias finalizou-se o experimento, analisando as variáveis porcentagem de emergência de plântulas, porcentagem

de tombamento, comprimento de plântula e massa da matéria fresca. Nas concentrações de 0 e 2 mM de AS foram também quantificados, nos tecidos das plântulas, a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL), β -1,3-glucanase e quitinases. Para essas análises foram utilizadas amostras de 0,5 g, composta por partes de toda a plântula (folhas, talo e raízes), as quais, imediatamente após a coleta, foram congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido até as avaliações (aproximadamente sete dias).

A porcentagem de emergência foi avaliada, em cada amostra, considerando o número de plântulas emergidas em relação ao número potencial máximo de emergência (20 plântulas). O percentual de tombamento foi avaliado considerando o número de plântulas que apresentaram sintomas da doença em relação ao número total de plântulas.

O tamanho de plântulas (cm) foi determinado com auxílio de uma régua. A produção de massa de matéria fresca das plântulas (g) foi avaliada considerando o peso de massa fresca, sendo antes das pesagens as raízes foram lavadas e a massa determinada em balança de precisão.

A atividade da fenilalanina-amônialiase (FAL) (EC 4.3.1.5) foi determinada por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por KUHN (2007), onde se utilizou 0,25 g da amostra com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos de 4 ml e centrifugado por 10 minutos, a 4 °C a 6000 rpm. Após, foi transferido uma alíquota de 200 μ L para tubo de ensaio, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. A solução foi agitada em vórtex, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0 e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada em vórtex para homogeneização. Após os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40 °C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder ser feita a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades das enzimas quitinase (EC 3.2.1.14) e β -1,3-glucanase (EC 3.2.1.6) seguiu-se os procedimentos descritos por WIRTH & WOLF (1992), com adequações, sendo que as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação

(20.000 g por 25 min, a -4 °C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas.

A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta 5R-RBV (Sigma Aldrich®), onde foi utilizado 100 μ L de extrato foliar, 500 μ L de tampão acetato de sódio 50mM pH 5,0 e 200 μ L de “CM-chitin-RBV” 2mg mL⁻¹, em seguida incubada a 38 °C por 2 horas, e posteriormente interrupção da reação com 200 μ L de HCl 2N e resfriado em gelo por 10 min, em seguida fez-se a leitura em espectrofotômetro a 550 nm.

Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - 4 mg mL⁻¹), para isso foi utilizado 200 μ L de extrato foliar, 400 μ L de tampão acetato de sódio 50mM pH 5,0 e 200 μ L de “CM-Curdlan-RBB” 4 mg mL⁻¹, em seguida incubada a 40 °C por 2 horas, posterior interrupção da reação com 200 μ L de HCl 2N e resfriado em gelo por 10 min, em seguida fez-se a leitura em espectrofotômetro a 600 nm.

O experimento *in vitro* foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, sendo utilizadas as concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2 mM de AS. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo considerada cada placa de Petri® uma unidade experimental.

O indutor foi incorporado ao meio de cultura B.D.A com agitador eletromagnético para homogeneizar a mistura. A seguir o meio de cultura foi vertido em placa de Petri® em câmara de fluxo laminar. Após a solidificação do meio foram colocados discos de meio de cultura com 10 mm de diâmetro, contendo o micélio do *Pythium* sp. nas placas, com as respectivas concentrações do indutor. Posteriormente, as placas foram mantidas em B.O.D. a temperatura de 25 °C \pm 1 °C e fotoperíodo de 12 horas.

O crescimento micelial foi acompanhado com 2, 6, 10 e 14 dias após a incubação em B.O.D, sendo finalizado com 14 dias devido as placas de Petri® terem suas bordas atingidas pelo crescimento micelial de *Pythium* sp.

Os dados foram submetidos à análise de variância (p<0,05) e quando significativos foram submetidos a análise de regressão, sendo adotado um nível de 5% de significância, utilizando o programa

ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A emergência de plântulas aumentou com o incremento na concentração de AS a partir de concentrações acima de 1 mM (Figura 1). Esse efeito sobre a emergência de plântulas pode estar relacionado ao fato de o AS ser também considerado um regulador de crescimento, o qual é sintetizado a partir do aminoácido fenilalanina, que é um intermediário da biossíntese da maioria dos compostos fenólicos (TONEL 2011). Essa também é uma informação importante, considerando que não houve efeito inibitório na germinação, o que não limita o uso do produto como indutor de resistência no tratamento de sementes de pepino. Resultado contrário foi observado por PACHECO et al. (2009), os quais trabalhando com aplicação de AS em sementes de camomila e de calêndula, observaram que concentrações superiores a 0,1 mM foram prejudiciais à germinação.

A porcentagem de tombamento de plântulas de pepineiro, causado por *Pythium* sp., reduziu a partir da concentração de 1 mM de AS (Figura 2). Esse resultado reforça a hipótese de que o AS pode atuar na indução de resistência, pela função atribuída a ele, de agir como molécula sinalizadora, induzindo a resistência contra o ataque de patógenos. Aplicações exógenas de AS induzem a expressão gênica de

proteínas envolvidas na indução da resistência sistêmica adquirida levando a proposição do papel do AS endógeno na resistência a doenças (CHET 1993), pela expressão de proteínas relacionadas à patogenicidade (PRPs) (CAMPOS 2009).

Resultado semelhante foi observado em fava (*Vicia faba* L.), onde a aplicação de AS reduziu o tombamento de plântulas e podridão de raízes (ABDEL-MONAIM 2013). Em manjerição, o tratamento de sementes com AS reduziu o *damping off* de pré-emergente causado pelos patógenos *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (AL-SOHAIBANI et al. 2011).

Para os parâmetros comprimento de plântulas (CP) e massa da matéria fresca (MMF) o tratamento de sementes com AS, não resultou em alterações estatisticamente significativas (Tabela 1). Resultado este considerado positivo, já que além de não haver dano fitotóxico as plântulas, não houve perda metabólica por desvio de rota para defesa vegetal, sendo que a perda metabólica ocorre principalmente pela utilização dos substratos eritrose-4-fosfato do ciclo das pentoses, ou fosfoenolpiruvato da glicólise na rota dos fenilpropanoides, a qual é uma das principais rotas de defesa vegetal, e com isso tais substratos são desviados do processo de crescimento vegetal (MAZARO et al. 2009). Em plantas de feijoeiro o uso do indutor de resistência acibenzolar-S-metil, o qual é análogo ao AS, alterou o metabolismo da planta

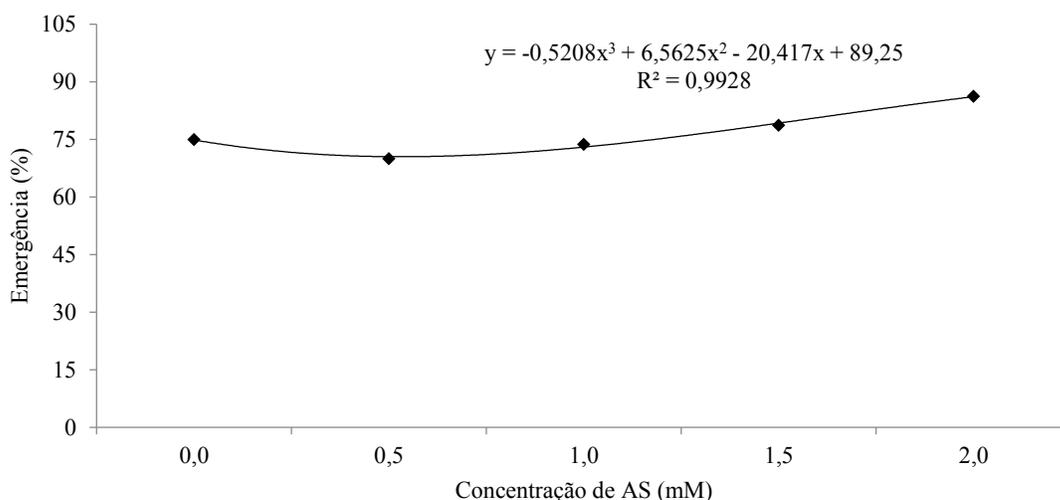


Figura 1. Emergência de plântulas de pepino, submetidas ao tratamento de sementes com AS, e a inoculação de *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Figure 1. Emerging of cucumber seedlings, subjected to treatment with SA, and inoculation with *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

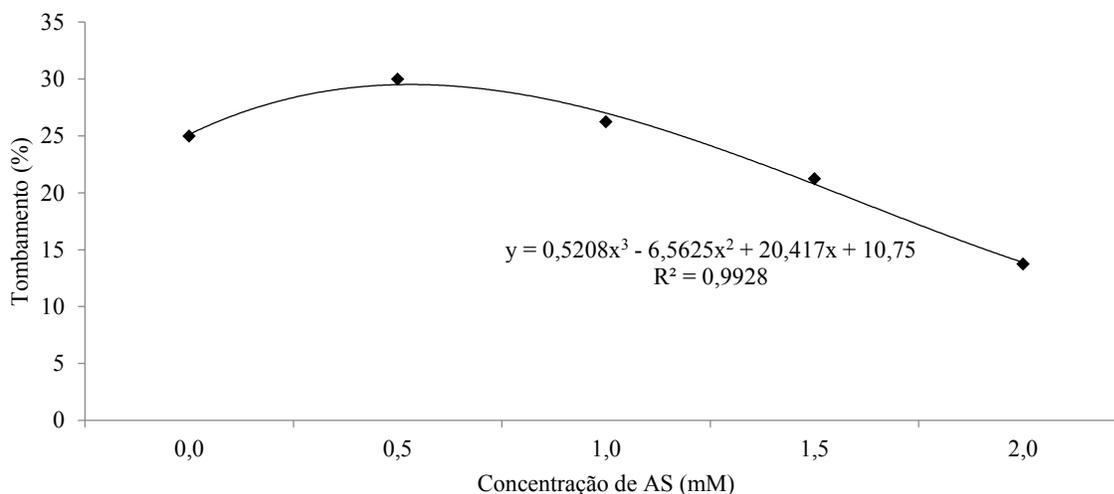


Figura 2. Tombamento de plântulas de pepino submetidas ao tratamento de sementes com AS, e a inoculação de *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Figure 2. Damping-off of cucumber seedlings, subjected to seed treatment with SA, and inoculation with *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Tabela 1. Comprimento e massa da matéria fresca (MMF) de plântulas de pepino submetidas ao tratamento de sementes com AS, e a inoculação de *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Table 1. Length and fresh weight (MMF) of cucumber seedlings subjected to seed treatment with SA, and inoculation with *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Concentração de AS (mM)	Comprimento de plântula (cm)	Massa da matéria fresca (g)
0	17,744 ^{ns}	0,400 ^{ns}
0,5	17,750	0,430
1,0	17,483	0,459
1,5	17,928	0,453
2,0	18,006	0,468

* ns não significativo a nível de 5% pelo teste F.

gerando custo metabólico e redirecionamento dos fotoassimilados para investir em defesa, a custo de redução da produtividade (KUHN 2007). Ainda HEIL et al. (2000), afirmam que a produção de proteínas-RP pode competir com proteínas necessárias aos processos básicos da planta, podendo comprometer o crescimento dela.

O tratamento de sementes com AS na concentração de 2 mM não alterou significativamente a atividade das enzimas fenilalanina-amonialiasse (FAL), quitinase e β -1,3-glucanase (Figura 3). Porém, existe a possibilidade de que a ativação das enzimas, tenha ocorrido em momento diferente do período de avaliação (final do experimento), sendo que neste

momento, os níveis das enzimas já estavam similares à testemunha.

Optou-se pela avaliação somente no final do experimento, com 14 dias, considerando outros estudos, como os desenvolvidos por EL GHAOUTH et al. (1997), os quais observaram que as enzimas quitinase e β -1,3-glucanase permaneceram ativas durante 14 dias após a aplicação de indutor nas culturas do morango pimentão e tomate.

No entanto, considerando a especificidade da resposta do indutor a cultura, sugere-se novos estudos que contemplem a avaliação da atividade das enzimas FAL, quitinase e β -1,3-glucanase no decorrer do tempo do experimento. Pois de acordo com

DURRANT & DONG (2004), o AS é um sinalizador que está diretamente ligado com os genes envolvidos na resistência sistêmica adquirida (RSA), a qual codifica diversas respostas de defesa a patógenos nas plantas, tais como as proteínas relacionadas à patogenicidade (proteínas-RP), enzimas envolvidas na rota da síntese de fitoalexinas e acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao local de penetração dos microrganismos.

Segundo PEREIRA et al. (2009), durante o

processo infeccioso ocorre variações na atividade de enzimas relacionadas com a resposta de defesa das plantas a patógenos, sendo este fenômeno considerado normal, diante de todas as possíveis mudanças citológicas decorrentes da íntima interação patógeno-planta.

A aplicação de diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) em meio de cultura, não influenciou o crescimento micelial de *Pythium* sp., (Figura 4).

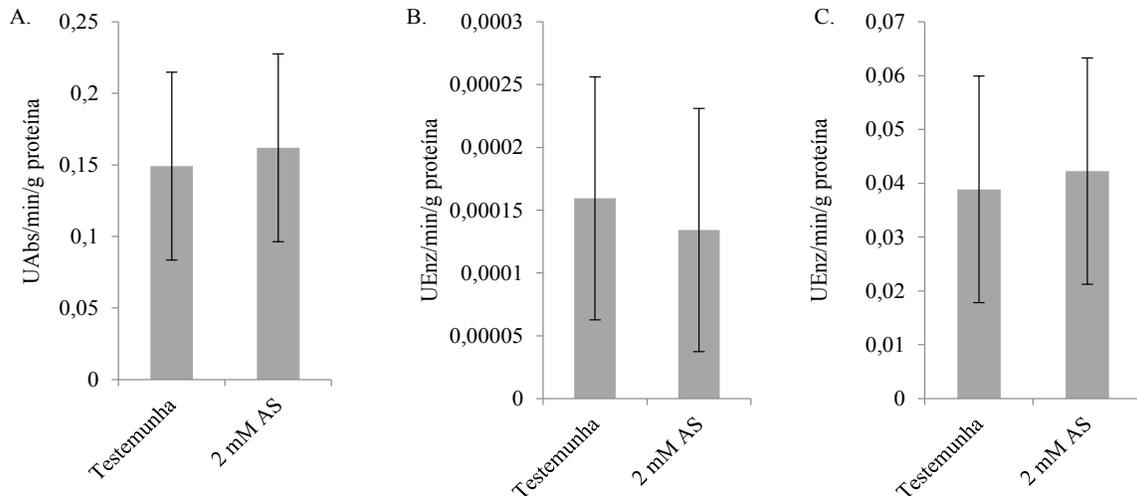


Figura 3. Atividade das enzimas fenilalanina-amonialiase (A), quitinase (B) e β -1,3-glucanase (C) em plântulas de pepino submetidas ou não ao tratamento de sementes com AS (2 mM) e inoculadas com *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

Figure 3. Enzyme activity amonialiase-phenylalanine (A), chitinase (B) and β -1,3-glucanase (C) on cucumber seedlings subjected or not to treatment of seeds with SA (2 mM) and inoculated with *Pythium* sp. Dois Vizinhos, 2014.

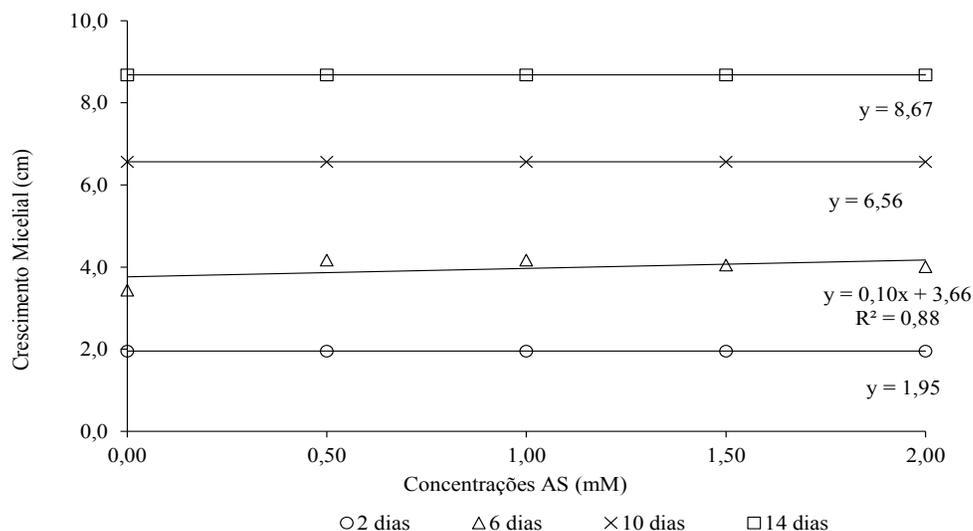


Figura 4. Crescimento micelial de *Pythium* sp. submetido a aplicação de concentrações crescentes de ácido salicílico em meio de cultura. Dois vizinhos, 2014.

Figure 4. Mycelial growth of *Pythium* sp. subjected to application of increasing concentrations of salicylic acid in the culture medium. Dois vizinhos, 2014.

Efeito contrário foi observado por YU & ZHENG (2006), aonde trabalhando com o ácido salicílico e leveduras contra o fungo *Penicillium expansum*, mostraram que o AS possui efeito fungicida *in vitro* quando aplicado em uma concentração maior que 0,6 mM. Porém esse efeito varia em função do microrganismo e concentração testada. Segundo KUĆ (2001), o efeito fungitóxico dos indutores de resistência é dependente da concentração utilizada e do patógeno avaliado.

Analisando os dados em conjunto é possível afirmar que a aplicação de AS na semente de pepino reduz a incidência de tombamento de plântulas, provavelmente pela ativação da RSA, porém não foi possível observar neste experimento tal ativação, devido à quantificação das enzimas de defesa vegetal terem sido realizadas somente no final do experimento.

Descarta-se a hipótese de efeito direto do indutor sobre o patógeno já que o mesmo, não apresentou efeito sobre o crescimento micelial *in vitro*.

CONCLUSÃO

O tratamento de sementes de pepino com concentrações acima de 1 mM de AS reduz a porcentagem de tombamento de plântulas causado por *Pythium* sp., no entanto, não foi possível associar com a atividade das enzimas relacionadas a indução de resistência das plântulas.

O AS não apresenta efeito direto sobre o crescimento micelial de *Pythium* sp. *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MONAIM MF. 2013. Improvement of biocontrol of damping-off and root rot/wilt of faba bean by salicylic acid and hydrogen peroxide. *Mycobiol* 41: 47-55.
- AL-SOHAIBANI SA et al. 2011. Influence of some biotic and abiotic inducers on root rot disease incidence of sweet basil. *African J Microbiol Res* 5: 3628-3639.
- AUDENAERT K et al. 2002. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and suppresses salicylic acid-dependent signaling mechanisms. *Plant Physiol* 128: 491-501.
- CAMPOS A D. 2009. Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas. Brasília: Embrapa. 28p.
- CARDOSO AII & SILVA N. 2003. Avaliação de híbridos de pepino tipo japonês sob ambiente protegido em duas épocas de cultivo. *Hort Bras* 21: 170-175.
- CHET I. 1993. Biotechnology in plant disease control. Wiley-Liss. 373p.
- DURRANT WE & DONG X. 2004. Systemic acquired resistance. *Ann Rev Phytopathol* 42: 185-209.
- ELGHAOUTH A et al. 1997. Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. *Postharvest Biol Technol* 12: 183-194.
- FONTES PCR & PUIATTI M. 2005. Cultura do pepino. In.: FONTES PCR. Olericultura: teoria e prática. Viçosa: UFV. p.439-456.
- HAMMERSCHMIDT R et al. 2000. Inducing resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases. *Eur J Plant Pathol* 107: 1-6.
- HEIL M et al. 2000. Reduced growth and seed following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired (SAR) incur allocation costs? *J Ecol* 88: 645-654.
- KESSMANN H et al. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann Rev Phytopathol* 32: 439-459.
- KUĆ J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur J Plant Pathol* 107: 7-12.
- KUHN OJ. 2007. Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção. Tese (Doutorado em Ciências). Piracicaba: USP. 140f.
- LUCON CMM et al. 2008. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. *Pesq Agropec Bras* 43: 691-697.
- MAZARO SM et al. 2009. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. *Pesq Agropec Bras* 44: 1424-1430.
- PACHECO AC et al. 2007. Germinação de sementes de camomila (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) e calêndula (*Calendula officinalis* L.) tratadas com ácido salicílico. *Rev Bras Pl Med* 9: 61-67.
- PEREIRA SC et al. 2009. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em cafeeiro. *Trop Plant Pathol* 34: 223-230.
- SILVA FAS & AZEVEDO CAV. 2009. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: 7 World Congress on Computers in Agriculture. Anais... Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers. p.51.
- TONEL FR. 2011. Tolerância à salinidade induzida pelo ácido salicílico em sementes e plântulas de milho híbrido. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade). Pelotas: UFPel. 41f.
- YU T & ZHENG X D. 2006. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in Apple fruit. *J Plant Growth Regul* 25: 166-174.
- WIRTH SJ & WOLF GA. 1992. Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulose, xylanase, chitinase, 1,3-β-glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. *Soil Biol Biochem* 24: 511-519.

ZAREIE R et al. 2002. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. Mol Plant-Microbe Interact 15: 1031-1039.