

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

ROGÉRIO LOPES ESTEVEZ

**EFEITO PROTETIVO DE UM PRODUTO COMERCIAL A BASE DE SULFATO DE
CÁLCIO (FERT PROTETOR®) EM CAFEEIRO, EUCALIPTO E FEIJOEIRO**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ
2018

ROGÉRIO LOPES ESTEVEZ

**EFEITO PROTETIVO DE UM PRODUTO COMERCIAL A BASE DE SULFATO DE
CÁLCIO (FERT PROTETOR[®]) EM CAFEEIRO, EUCALIPTO E FEIJOEIRO**

Tese apresentada à Universidade Estadual do
Oeste do Paraná, como parte da exigência do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
para obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: José Renato Stangarlin

Coorientador: Odair José Kuhn

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Estevez, Rogério Lopes

Efeito protetivo de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®) em cafeeiro, eucalipto e feijoeiro / Rogério Lopes Estevez; orientador(a), José Renato Stangarlin; coorientador(a), Odair José Kuhn, 2018.

57 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Agronomia Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

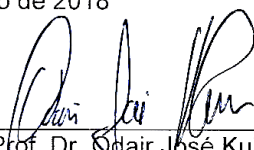
1. Indutor de resistência. 2. Controle alternativo. 3. Fitossanidade. 4. Sulfato de cálcio. I. Stangarlin, José Renato . II. Kuhn, Odair José . III. Título.

ROGÉRIO LOPES ESTEVEZ

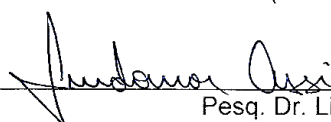
**EFEITO PROTETIVO DE UM PRODUTO COMERCIAL A BASE DE
SULFATO DE CÁLCIO (FERT PROTETOR®) EM CAFEEIRO, EUCALIPTO E
FEIJOEIRO**

Tese apresentada à Universidade
Estadual do Oeste do Paraná, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, para
obtenção do título de *Doctor
Scientiae*.

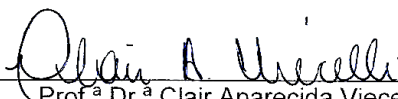
APROVADA: 15 de fevereiro de 2018



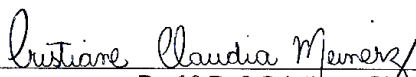
Prof. Dr. Odair José Kuhn
(UNIOESTE)



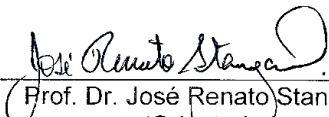
Pesq. Dr. Lindomar Assi
(UNIOESTE)



Prof.ª Dr.ª Clair Aparecida Viecelli
(PUCPR)



Prof.ª Dr.ª Cristiane Claudia Meinerz
(UNIPAR)



Prof. Dr. José Renato Stangarlin
(Orientador)
(UNIOESTE)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelos desafios e pelas conquistas;

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, seus professores e funcionários pelos conhecimentos, as oportunidades e o auxílio;

A meu orientador, Prof. Dr. José Renato Stangarlin, pela paciência, conhecimento e dedicação despendida juntamente com meu coorientador, Prof. Dr. Odair José Kuhn;

Aos integrantes da banca de qualificação, por aceitarem o convite e contribuírem para o enriquecimento do presente trabalho;

As empresas parceiras, pelo auxílio, espaço e pelos conselhos;

A minha família, em especial a minha filha Maria Clara Sartório Estevez que é meu tesouro e a razão da maioria de minhas batalhas, e a minha esposa Ana Paula Sartorio Chambo por ser meu porto seguro e por me apoiar em todos os momentos, sou muito grato;

Aos colegas de empresa, grupo de pesquisa, por toda contribuição, atenção e compreensão;

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

A empresa BMA AGRO, pelo apoio a pesquisa e doação do material para pesquisa;

Á todos que direta ou indiretamente contribuíram para a
elaboração deste trabalho, minha imensa gratidão!

Deus é tão generoso que te dá liberdade de
plantar o que quiser... mas ele é tão justo que
você colhe exatamente o que plantou.

RESUMO

ESTEVEZ, Rogério L. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2018. **Efeito protetivo de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®) em cafeeiro, eucalipto e feijoeiro.** Orientador: José Renato Stangarlin. Coorientador: Odair José Kuhn.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito protetivo de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®) nas culturas do cafeeiro, eucalipto e feijoeiro. Os experimentos foram conduzidos nos municípios de Mandaguari, PR para as culturas de café e feijão, e em Mogi Guaçu, SP para a cultura do eucalipto, utilizando-se como tratamentos as concentrações de 0%, 4%, 8%, 16% e 32% de Fert Protetor®. Em café o Fert Protetor® foi aplicado semanalmente, em mudas de viveiro a partir da presença do 2º par de folhas. As avaliações foram realizadas durante o período de viveiro e 60 dias após o transplante pelo método não destrutivo, verificando-se a incidência e a severidade relativa da mancha aureolada, altura de planta, diâmetro do colo, volume de raiz e taxa de sobrevivência pós-plantio. No experimento com eucalipto foram utilizados os clones IPB22 e IPB26 (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*), nos quais foram realizadas aplicações quinzenais de Fert Protetor®, por 120 dias. As variáveis analisadas foram altura da parte aérea, diâmetro do colo, porcentagem de enraizamento de miniestacas e atividade da enzima peroxidase. Para o experimento com feijoeiro o Fert Protetor® foi aplicado nos estádios V₃, R₅ e R₇ e foram avaliadas a severidade relativa da doença fogo selvagem, variáveis agronômicas, produtividade e indução da fitoalexina faseolina. Os resultados para o experimento com café mostraram que todas as dosagens de Fert Protetor® foram eficientes no controle da mancha aureolada, contudo, as dosagens de 8%, 16% e 32% diminuíram em até 70% a severidade da doença ($p < 0,05$). Todas as demais variáveis foram influenciadas positivamente pelas doses Fert Protetor®. No experimento com eucalipto, a aplicação de Fert Protetor®, principalmente em 16% e 32%, resultou em maior altura, diâmetro de colo, enraizamento das miniestacas e atividade de peroxidase para os dois clones estudados. Para o experimento com feijoeiro, os resultados mostraram que o uso de Fert Protetor® diminuiu a severidade da doença em até 90%, influenciando positivamente todas as variáveis agronômicas e melhorando a produtividade. As dosagens mais baixas de 4% e 8% não foram eficientes na indução de faseolina nos hipocótilos do feijão, contudo, as dosagens de 16% e 32% apresentaram-se como bons indutores, sendo superiores ao tratamento positivo com acibenzolar-S-metil, superando-o em 17% e 21%, respectivamente, na síntese dessa fitoalexina.

Conclui-se que aplicação de Fert Protetor® em cafeeiro, eucalipto e feijoeiro pode controlar doenças e incrementar variáveis agronômicas, garantindo maior produtividade, e inclusive ativando mecanismos de defesa vegetal como a fitoalexina faseolina em feijoeiro e a enzima peroxidase em eucalipto.

Palavras-chaves: Controle alternativo. Indução de resistência. *Coffea arabica*. *Eucalyptus* sp. *Phaseolus vulgaris*. Qualidade de mudas.

ABSTRACT

ESTEVEZ, Rogério L. Western Paraná State University , February, 2018. Protective effect of a commercial product based on calcium sulfate (Fert Protetor®) in coffee, eucalyptus and common bean. Advisor: José Renato Stangarlin. Co-advisor: Odair José Kuhn.

The objective of this work was to evaluate the protective effect of a commercial product based on calcium sulfate (Fert Protetor®) in coffee, eucalyptus and common bean crops. The experiments were carried out in the municipalities of Mandaguari, PR for the coffee and bean crops, in Mogi Guaçu, SP, for a eucalyptus crop, using 0%, 4%, 8%, 16% and 32% Fert Protector®. In coffee the Fert Protector® was applied weekly in nursery seedlings from the presence of the second pair of leaves. As the evaluation was carried out during the nursery period and 60 days after transplantation by the non-destructive method, the incidence and relative severity of the aureolated spot, plant height, neck diameter, root volume and post-plan. There is no experiment with eucalyptus for the use of clones IPB22 and IPB26 (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*), in which biweekly applications of Fert Protetor® were carried out for 120 days. As variables analyzed were shoot height, rooting percentage of minicuttings and activity of the enzyme peroxidase. For the bean experiment, Fert Protector® was applied at V3, R5 and R7 stages and the relative severity of wildfire disease, agronomic variables, productivity and phytoalexin phaseolin induction were evaluated. The results for the coffee experiment show that all Fert Protector® packages were efficient without control of the aureolated spot, however, as dosages of 8%, 16% and 32% decreased up to 70% of the severity of the disease ($p < 0,05$). All other variables were positively influenced by Fert Protetor® doses. In the eucalyptus experiment, an application of Fert Protetor®, mainly in 16% and 32%, resulted in higher height, neck diameter, minicutting rooting and peroxidase activity for the two clones studied. For the bean experiment, the results showed the use of Fert Protetor® decreased the severity of the disease up to 90%, positively influencing all agronomic variables and improving productivity. The lower dosages of 4% and 8% are not efficient in the induction of phaseolin in the hypocotyls of the bean, however, as dosages of 16% and 32% presented as good inducers, are superior to the positive treatment with acibenzolar-S-methyl, surpassing it by 17% and 21%, respectively, in the synthesis of this phytoalexin. It is concluded that Fert Protetor® application in coffee, eucalyptus and common bean can control diseases and increase agronomic variables,

guaranteeing greater productivity, and even activating plant defense mechanisms such as phytoalexin phaseolin in bean and a peroxidase enzyme in eucalyptus.

Key-words: Alternative control. Induction of resistance. *Coffea arabica*. *Eucalyptus* sp. *Phaseolus vulgaris*. Quality of seedlings.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: PROTEÇÃO DO CAFEIEIRO CONTRA MANCHA AUREOLADA COM FERT PROTETOR® E VIABILIDADE DE MUDAS PÓS-PLANTIO

Figura 1. Incidência de folhas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 danificadas pela mancha aureolada (a) e severidade relativa da doença dos 120 aos 165 dias após a semeadura (DAS) (b) em viveiro tratado com doses de Fert Protetor® 13

Figura 2. Altura de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (cm) em viveiro aos 120 dias após a semeadura (DAS) (a) e a campo aos 60 DAP (b), em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 15

Figura 3. Diâmetro do colo de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (cm) em viveiro aos 120 dias após a semeadura (DAS) (a) e a campo aos 90 dias após o plantio (DAP) (b), em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 15

Figura 4. Volume de raiz de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (ml) em viveiro aos 170 dias após a semeadura (DAS), em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 16

Figura 5. Taxa de sobrevivência após o plantio (60 DAP) de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100, em função das doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 17

CAPÍTULO 2 - PEROXIDASE E ENRAIZAMENTO DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE FERT PROTETOR®

Figura 1. Altura de miniestacas (cm) a pleno sol aos 50 dias de idade, em função de doses de Fert Protetor®, de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 25

Figura 2. Diâmetro do colo de miniestacas (cm) a pleno sol aos 50 dias de idade, em função de doses de Fert Protetor®, de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 26

Figura 3. Taxa de enraizamento de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em função de doses de Fert Protetor®, em duas épocas. Época 1 (a), aos 25 dias na saída de casa de sombra; época 2 (b) aos 50 dias em pleno sol. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. 28

Figura 4. Atividade de peroxidases em tecidos foliares dos clones IPB 22 (a) e IPB26 (b) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, submetidos a diferentes dosagens de Fert Protetor® em fase de viveiro. 30

CAPÍTULO 3: CONTROLE ALTERNATIVO DE *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* E PRODUTIVIDADE EM FEIJOEIRO TRATADO COM FERT PROTETOR®

- Figura 1.** Percentual de folhas de feijão *P. vulgaris* L. cv. IPR Eldorado danificadas pela *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (a) e severidade relativa da doença, em função de doses de Fert Protetor® (b). 39
- Figura 2.** Altura de plantas (H) (a) e a massa seca da parte aérea (MSPA) (b) de feijão *P. vulgaris* L. cv. IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade. 40
- Figura 3.** Número de vagens por planta (NVP) (a), massa de mil grãos (MMG) (b) e produtividade (c) do feijão IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade. 41
- Figura 4.** Indução de fitoalexina faseolina (absorbância a 280 nm por grama de massa fresca) em hipocótilos de feijão IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor® e do acibenzolar-S-metil (ASM). *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade. 42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	1
	REFERÊNCIAS	4
2	CAPÍTULO 1: PROTEÇÃO DO CAFEEIRO CONTRA MANCHA AUREOLADA COM FERT PROTETOR® E VIABILIDADE DE MUDAS PÓS-PLANTIO.....	8
	RESUMO	8
	ABSTRACT	8
	INTRODUÇÃO.....	9
	MATERIAL E MÉTODOS.....	11
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
	CONCLUSÃO.....	18
	REFERÊNCIAS	18
3	CAPÍTULO 2: PEROXIDASE E ENRAIZAMENTO DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE FERT PROTETOR®	21
	RESUMO	21
	ABSTRACT	21
	INTRODUÇÃO.....	22
	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
	CONCLUSÃO.....	31
	REFERÊNCIAS	31
4	CAPÍTULO 3: CONTROLE ALTERNATIVO DE <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i> E PRODUTIVIDADE EM FEJJOEIRO TRATADO COM FERT PROTETOR®	34
	RESUMO	34
	ABSTRACT	34
	INTRODUÇÃO.....	35
	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura moderna tem a grande missão de manter os estoques mundiais de alimento. Contudo, a máxima eficiência produtiva das lavouras encontra barreiras que precisam ser quebradas, como os problemas fitossanitários. No entanto, as variedades de plantas continuamente selecionadas para atender às exigências de produção, comércio e consumo aliam, muitas vezes, grande vulnerabilidade aos agentes fitopatogênicos. Técnicas culturais, como densidade de plantio, monocultura, genética, adubação, mecanização e irrigação, necessárias para garantir alta produtividade, acabam favorecendo a ocorrência de doenças (GOMES, 2013).

O Brasil é considerado o celeiro mundial e responsável por grande parte da produção de grãos como café, milho e soja, além de ser detentor de uma enorme biodiversidade, garantindo uma vasta variedade de espécies florestais de importância econômica como o eucalipto. Devido à grande extensão de seu território, esta enorme diversidade e as suas condições edafoclimáticas, susceptível agricultura brasileira é muito vulnerável à ocorrência de pragas e doenças.

No cafeeiro, uma das principais culturas brasileiras, a ferrugem (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de *Phoma* (*Phoma tarda* e *P. costaricensis*), e a mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) tem causado prejuízos constantes (BELAN, 2014). A mancha aureolada do cafeeiro, por exemplo, embora tenha sido considerada uma doença de menor importância econômica, nos últimos anos tornou-se fator limitante para o cultivo do café em algumas regiões (PATRÍCIO et al., 2010; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011). Na fase de viveiro, a falta de controle associado às condições favoráveis à doença, podem causar danos em até 100% das mudas (RODRIGUES et al., 2013).

O feijão, uma das leguminosas de maior importância na alimentação humana devido seu conteúdo proteico, tem grande relevância na economia brasileira, sendo o Brasil o maior produtor e consumidor de feijão do mundo, atingindo 3,07 milhões de toneladas na última safra 2016/2017 (CONAB, 2017). Porém, a sua produtividade ainda é baixa devido aos problemas fitopatogênicos, como a ocorrência de doenças fúngicas (antracnose e mancha angular), bacterianas (crestamento bacteriano comum, fogo selvagem e murcha) e viróticas (mosaico comum e dourado). As doenças mais relevantes em relação aos danos nesta cultura são geralmente as bacterianas, como o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) (PAULA Jr; ZAMBOLIM,

2006). O fogo selvagem pode afetar outras culturas, sua ocorrência é sazonal e seu nível de danos é variável afetando a planta em qualquer estágio fenológico, causando manchas necróticas que podem evoluir para o crestamento foliar, acarretando no amarelecimento sistêmico e deformação dos folíolos (WENDLAND et al., 2016).

Independente da cultura, as estratégias fitossanitárias adotadas no controle de doenças geralmente circundam entre o controle químico, o uso de cultivares resistentes e a utilização de produtos alternativos, como os indutores de resistência e os produtos biológicos (ZAMBOLIM; VALE, 2003). No entanto, nem sempre é possível a obtenção de genótipos resistentes e produtos químicos eficientes e seguros. Além da baixa eficiência o uso de produtos químicos convencionais, favorece o surgimento de isolados resistentes e efeito residual, comprometendo a sustentabilidade do agroecossistema (BETTIOL; GHINI, 2003).

A preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos vem alterando o cenário agrícola. Nos últimos anos surgiram segmentos de mercado ávidos por produtos diferenciados, tanto aqueles produzidos sem uso de agrotóxicos como aqueles portadores de selos que garantem que esses produtos foram utilizados adequadamente. Essas pressões têm levado ao desenvolvimento de sistemas de cultivo mais sustentáveis e, portanto, menos dependentes do uso de agrotóxicos. Devido a esses fatores, tem-se buscado métodos alternativos para o controle de doenças em plantas (SILVA et al., 2010).

Dentro do contexto de controle alternativo, a utilização de indutores de resistência tem se revelado uma técnica muito eficiente e segura no controle de patógenos (DELIOPOULOS; KETTLEWELL; HARE, 2010). A indução de resistência é definida como o aumento da capacidade de defesa da planta contra organismos fitopatogênicos, proporcionado por um agente indutor que ativa os mecanismos de defesa vegetal (PASCHOLATI, 2011). Entre os mecanismos de defesa ativados estão as barreiras físicas, como a lignificação, e a ativação de enzimas relacionadas à patogênese, como a peroxidase (STANGARLIN et al., 2011).

A indução de resistência vem sendo utilizada em diversas culturas com grande eficiência. Produtos naturais, como extratos de plantas ou subprodutos da cadeia produtiva, como extratos de folhas ou frutos, vem sendo testado com sucesso na indução de resistência e no manejo de doenças (AMARAL, 2005). Dentro deste contexto, várias moléculas e princípios ativos vem sendo testados, como é o caso da utilização de fosfitos (DALIO et al, 2012), silício (RODRIGUES; RESENDE, 2010), acibenzolar-S-metil (ASM) (DALLAGNOL et al., 2006) e produtos à base de sulfato de cálcio como o Fert Protetor® (ESTEVEZ et al., 2016), mostrando

bons resultados no controle de doenças e na indução de resistência em diferentes culturas (MEDEIROS et al., 2009; PEREIRA et al., 2008; SANTOS et al., 2007).

Na cultura do eucalipto por exemplo, um dos pontos críticos dessa cultura é a viabilidade das mudas durante a propagação, sendo assim, a indústria faz uso de indutores de resistência como (ASM, hormônios como as auxinas e fosfitos) para promover o enraizamento, desenvolvimento das estacas e melhorar a sanidade em viveiros.

Sendo assim, a indústria tem lançado produtos e buscado princípios com tais características. O Fert Protetor[®] é um protetivo mineral, a base de sulfato de cálcio, que tem como proposta, proteger as diversas culturas de condições adversas promovendo incremento produtivo. A formulação deste produto contém doses expressivas de cálcio, que além da função nutritiva, devido suas características físicas forma uma barreira na parte aérea da planta, e pode atuar como um indutor de resistência.

A relação do cálcio com a indução de resistência nas plantas consiste do fato deste nutriente atuar como mensageiro secundário, favorecendo o reconhecimento da invasão de patógenos pela membrana plasmática, atuar na formação do pectina de cálcio, presente na lamela média da parede celular, o que contribui para construir e fortalecer a parede celular, dificultando a infecção por patógenos (BATEMAN; LUMSDEN, 1965), inibir a atividade de enzimas produzidas por patógenos que destroem a parede celular, (KIRALY, 1976), além de favorecer a ativação de enzimas como as peroxidases (HAISSIG, 1986) e a síntese de fitoalexinas (STAB; EBEL 1987).

A atuação do cálcio como indutor de resistência já foi relatada por outros autores. Em rosas, a aplicação de sulfato de cálcio diminuiu a severidade da doença fúngica podridão cinza, aumentando sua vida útil (CAPDEVILLE et al., 2005). Além disso, a redução da intensidade do mofo-branco do feijoeiro pode ser conseguida, mediante aplicações foliar de cloreto de cálcio e silicato de cálcio (PAULA JÚNIOR et al., 2009). A severidade da podridão de *Phytophthora* em soja também foi minimizada, bem como a liberação do zoósporo e o crescimento do fungo em combinação com a resposta do tecido da planta hospedeira mediante a aplicação de diferentes fontes de Ca^{+2} (SUGIMOTO et al., 2008). Catarino et al. (2016) também encontraram resultados favoráveis na redução da mancha de *Phoma* do cafeeiro utilizando suprimentos de Ca^{+2} e de K^{+} em solução nutritiva. Ainda no cafeeiro a aplicação de produtos contendo fosfito de cálcio foi eficaz no controle da *Phoma costaricensis*, em mudas (NOJOSA et al., 2009). Biazon, Maringoni e Grassi Filho (2000), ao trabalharem com cálcio e nitrogênio na cultivar do feijoeiro IAC-carioca para controle do crestamento bacteriano comum, relataram não ocorrer avanço na severidade da doença quando se utilizou cálcio. Da mesma

forma, Viecegli e Moerschbacher (2013) que verificaram redução de mais 50% do crestamento bacteriano em feijoeiro com a utilização de cálcio. Garcia Junior et al. (2003) também conseguiram reduzir a severidade da *Cercospora coffeicola* em cafeeiro utilizando doses de cálcio.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito protetivo de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®). Para tanto, esta tese foi dividida em três capítulos, com finalidade de individualizar a atuação protetor deste produto nas diferentes culturas avaliadas:

Capítulo I: “Proteção do cafeeiro contra mancha aureolada com Fert Protetor® e viabilidade de mudas pós-plantio”, cujo objetivo foi avaliar o controle da mancha aureolada por diferentes doses de um produto comercial a base de sulfato de cálcio em viveiro de mudas e viabilidade destas após o plantio.

Capítulo II: “Peroxidase e enraizamento de clones de eucalipto submetidos a diferentes doses de Fert Protetor®”, cujo objetivo foi avaliar a influência de doses de um protetivo mineral a base de sulfato de cálcio na atividade de peroxidase nos clones de *Eucalyptus* spp. IBP22 e IPB26 durante o enraizamento.

Capítulo III: “Controle alternativo de *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* e produtividade em feijoeiro”, onde se objetivou avaliar o efeito de diferentes doses de Fert Protetor® na severidade relativa do fogo selvagem na cultura do feijoeiro, na produtividade e na indução para síntese da fitoalexina faseolina.

REFERÊNCIAS

AMARAL A.C.F.; SIMÕES, E.V.; FERREIRA, J.L.P. **Coletânea Científica de Plantas de Uso Medicinal**, Rio de Janeiro, FIOCRUZ. 2005.

BATEMAN, D.F.; LUMSDEN, R.D. Relation between calcium content and nature of the peptic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 55, n.1, p.734-738. 1965.

BELAN, L.L. Detecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em sementes, microanálise de raios X e desenvolvimento de escala diagramática para a mancha aureolada do cafeeiro. **Tese (doutorado)**. Universidade Federal de Lavras, 2014.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 80-96, 2003.

BIAZON, V.L.; MARINGONI, A.C.; GRASSI FILHO, H. Influência de cálcio e de nitrogênio nas quantidades de macronutrientes foliares e na suscetibilidade do feijoeiro Iapar 14 ao cretamento bacteriano comum. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.3, p.320-323, 2004.

CAPDEVILLE, G., MAFFIA, L.A., FINGER, F.L., BATISTA, U.G. Pre-harvest calcium sulfate applications affect vase life and severity of gray mold in cut roses. **Scientia Horticulture**, v. 103, n. 3, p. 329-338. 2005.

CATARINO, A. DE M., POZZA, E.A., POZZA, A.A.A., SANTOS, L.S., VASCO, G.B., & SOUZA, P.E. Calcium and potassium contents in nutrient solution on Phoma leaf spot intensity in coffee seedlings. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 4, p. 486-491, 2016.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. (2017) **Acompanhamento safra brasileira de grãos, v. 4 Safra 2016/17** - Décimo levantamento, Brasília, p. 1-171, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 07 dez. 2017.

DALIO, R.J.D et al. O triplo modo de ação dos fosfitos em planta. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.20, p. 206-243, 2012.

DALLAGNOL, L.J. et al. Use of acibenzolar-S-methyl to control foliar diseases of soybean. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.32, n.3, p. 255-259, 2006.

DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P.S.; HARE, M.C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. **Crop Protection**, Newport, v. 29, n. 10, p. 1059-1075, 2010.

ESTEVEZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; MEINERZ, C.; KUHN, O.J. Dosagens de Fertp para controle da mancha aureolada em cafeeiro. In: XXXIX Congresso Paulista de Fitopatologia, 2016, Piracicaba, **Anais... XXXIX Congresso Paulista de Fitopatologia**, 2016.

GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA E.A.; POZZA A.A.A.; SOUZA, P.E.; CARVALHO J.C.; BALIEIRO, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.3, p.286-290, 2003.

GOMES, G. **Fitopatologia técnico em agricultura**. 2.ed. São Paulo, Instituto Formação, 2013. 80p.

HAISSIG, B.E. **Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings**. In: JACKSON, M.B. New root formation in plants and cuttings. Dordrecht, Martinus Nijhoff, p.141-189, 1986.

KIRALY, Z. Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. In: Fertilizer use and plant health. **Colloquium of the International Potash Institute**, 12, 1976. p.33-46.

MEDEIROS, F.C.L.; RESENDE, M.L.V.; MEDEIROS, H.M.; ZHANG, P.W.; PARÉ, P.W. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 74, n. 2, p. 175-183, Apr. 2009.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MARAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de Indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 35, n.1, p. 60-62, 2009.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p.593-636.

PATRÍCIO, F.R.A.; BERIAM, L.O.S.; ROSSI, A.; MORAES, A.; ALMEIDA, I.M.G. Controle químico da mancha aureolada em uma região montanhosa. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. S119, 2010. (Suplemento).

PAULA Jr., T.J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. UFV- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2.ed., 2006. p. 359-414.

PAULA JUNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; CARNEIRO, J.E. Foliar application of calcium chloride and calcium silicate decreases White mold intensity on dry beans. **Tropical Plant Pathology**. v.34, n.3, p. 171-174. 2009.

PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; ALVES, P.M; RESENDE, M.L.V.; LUCAS, G.C.; FERREIRA, J.V. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.10, p.1287-1296, out. 2008.

RODRIGUES, A.F.; RESENDE, R.S. Silício na potencialização da resistência a patógenos, 5, 2010. Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. p.171-180.

RODRIGUES L.M.V; ALMEIDA, I.M.G de; PATRÍCIO, F.R.A.; BERIAM, L.O S; MACIEL, K.W.; BRAGHINI, M.T, FILHO, O.G. **Mancha aureolada do cafeeiro causada por Pseudomonas syringae pv. garcae**. Campinas: Instituto Agronômico, 2013. 24 p. (Série Tecnologia Apta. Boletim técnico IAC, 212).

SANTOS, F.; SOUZA, P.E., RESENDE, M.L.V., POZZA, E.A., MIRANDA, J.C., RIBEIRO JÚNIOR, P.M. & MANERBA, F.C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.59-63. 2007.

SILVA, M.B. et al. Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas. In VEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa: EPAMIG, cap.3, p.33-54, 2010.

STAB, M.R.; EBEL, J. Effects of Ca^{2+} on phytoalexin response in protoplasts of bean leaves. **Phytochemical Analysis**, v.4, p.82-85. 1987.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 10, p. 18-46, 2011.

SUGIMOTO, T., WATANABE, K., YOSHIDA, S., AINO, M., IRIE, K., MATOH, T., BIGGS, A. R. Select calcium compounds reduce the severity of Phytophthora stem rot of soybean. **Plant Dis**, v. 92, n.1, p.1559-1565. 2008.

VIECELLI, C.A.; MOERSCHBÄCHER, T. Controle do crestamento bacteriano comum na cultura do feijoeiro pelo uso de fertilizantes foliares. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 12, n.1, p.66-72, 2013.

WENDLAN, A., MOREIRA, A.S., BIANCHINI, A., GIAMPAN, J.S.; LOBO JÚNIOR, M. Doenças do feijoeiro. In AMORIM, L., RESENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de fitopatologia:** doenças das plantas cultivadas. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p.383-396, 2016.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p. 137-153. 2003.

ZOCCOLI, D.M.; TAKATSU, A.; UESUGI, C.H. Ocorrência de mancha aureolada em cafeeiros na Região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, 843-849, 2011.

2 CAPÍTULO 1: PROTEÇÃO DO CAFEEIRO CONTRA MANCHA AUREOLADA COM FERT PROTETOR® E VIABILIDADE DE MUDAS PÓS-PLANTIO

RESUMO

A sanidade das mudas influencia na qualidade das plantas e na formação do cafeeiro, sendo a mancha aureolada uma das doenças que desafiam a viabilidade do cultivo, podendo inviabilizar a sua produção. Este trabalho objetivou avaliar o controle da mancha aureolada causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, por diferentes doses de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®) em viveiro de mudas e a viabilidade destas após o plantio em campo. Para tanto, utilizou-se como tratamento as concentrações de 0%, 4%, 8%, 16% e 32% de Fert Protetor®, aplicados semanalmente, em mudas de viveiro a partir da presença do 2º par de folhas. As avaliações foram realizadas durante o período de viveiro e 60 dias após o plantio (DAP) pelo método não destrutivo, verificando-se incidência e severidade relativa da doença, altura de planta, diâmetro do colo, volume de raiz e taxa de sobrevivência pós-plantio. Os resultados mostraram que todas as dosagens de Fert Protetor® foram eficientes no controle da mancha aureolada no cafeeiro, contudo, as dosagens de 8%, 16% e 32% diminuíram em até 70% a severidade da doença ($p < 0,05$). Todas as demais variáveis foram influenciadas pelas doses Fert Protetor®. A máxima expressão da altura de planta (18,56 cm) e do diâmetro do colo (3,52 mm) aos 60 DAP, e do volume de raiz (1,2 mL) aos 170 dias após a semeadura foram obtidas com a dose de 16%. A taxa de sobrevivência variou de 78,5% à 91,5%, chegando a superar em 25% a testemunha. Conclui-se que a aplicação de Fert Protetor® em mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 controla a mancha aureolada e melhora a viabilidade das mudas no pós-plantio.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Controle alternativo. Indução de resistência. *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Qualidade de mudas.

ABSTRACT

The sanity of the seedlings can interfere in the quality of the plants and in the formation of the coffee tree, and the disease bacterial-halo-blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* is one of the diseases that can damage the crop and reduce its production. The objective of this study was to evaluate the control of bacterial-halo-blight by different doses of a

commercial product based on calcium sulphate (Fert Protetor®) in seedlings and their viability after planting. The treatments were 0%, 4%, 8%, 16% and 32% of Fert Protetor®, applied weekly, in nursery seedlings with the presence of the second pair of leaves. The measurement was performed during the time of nursery and 60 days after planting (DAP) by the non-destructive method, checking the percentage of leaves with symptom, relative severity of the disease, plant height, neck diameter, root volume and post-planting survival rate. The results showed that all dosages of Fert Protetor® were efficient in the control of bacterial-halo-blight. However, the dosages 8%, 16% and 32% decreased disease index and severity by up to 70% ($p < 0.05$). All other variables were influenced by Fert Protetor® doses. The highest plant height (18.56 cm) and the neck diameter (3.52 mm) at 60 DAP and the root volume (1.2 mL) at 170 days after sowing were obtained with a dose of 16%. The survival rate ranged from 78.5% to 91.5%, 25% more than control treatment. In conclusion, the treatment with Fert Protetor® in seedlings of *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 controls bacterial-halo-blight and improves viability of seedlings after planting.

Key-words: *Coffea arabica*. Alternate control. Induction of resistance. *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Quality of seedlings.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (BRASIL, 2016), sendo esta uma das atividades mais importantes para a economia do país. Porém, vários fatores como vulnerabilidade da economia brasileira, além do ataque de patógenos, representam entraves produtivos. A suscetibilidade a doenças ocasionadas por fungos e bactérias podem inviabilizar a produção (CARVALHO et al., 2012), destacando-se doenças como ferrugem (*Hemileia vastatrix*), cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), mancha de *Phoma* (*Phoma tarda* e *P. costarricensis*) e mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (ZAMBOMIM, 2016).

O sucesso da produção cafeeira depende primordialmente da qualidade das mudas, onde qualquer erro cometido nesse período pode comprometer seriamente a exploração, resultando em baixa produtividade e menor longevidade da lavoura. O plantio de mudas vigorosas de café, ou seja, plantas com folhas verdes e brilhantes, caule espesso, sistema radicular com raízes absorventes abundantes, e livres de doenças, garante bom “pegamento”, diminui os gastos com a operação de replantio e contribui com rápido crescimento inicial das plantas no campo,

constituindo-se num fator fundamental para um cultivo bem-sucedido (MESQUITA et al., 2016).

Embora a mancha aureolada do cafeeiro tenha sido considerada uma doença de menor importância econômica, nos últimos anos tornou-se fator limitante para o cultivo do café em algumas regiões (PATRÍCIO et al., 2010; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011). Na fase de viveiro, a falta de controle associado às condições favoráveis à doença, podem causar danos em até 100% das mudas (RODRIGUES et al., 2013). Esta doença apresenta lesões irregulares que evoluem para necrose dos tecidos, ocorrendo desfolha, necrose e seca dos ramos (BELAN 2014).

As medidas de controle adotadas são o químico, o uso de cultivares resistentes e a utilização de produtos alternativos (MESQUITA, et al., 2016). Dentre as medidas citadas acima, o controle alternativo, em comparação com o uso de pesticidas, é o mais desejável uma vez que não contamina o meio ambiente e tem se revelado uma técnica muito eficiente e segura no controle de patógenos. Produtos como fosfitos, extratos de plantas e produtos à base de sulfato de cálcio como o Fert Protetor[®] e outras fontes de cálcio, vem mostrando bons resultados no controle de doenças em diferentes culturas (MEDEIROS et al., 2009; PEREIRA et al., 2008; SANTOS et al., 2007; CAPDEVILLE et al., 2005; SUGIMOTO et al., 2008; PAULA JÚNIOR et al., 2009; NOJOSA et al., 2009; CATARINO et al., 2016).

A aplicação de sulfato de cálcio foi capaz de diminuir a severidade da doença fúngica podridão cinza em rosas, aumentando sua vida útil (CAPDEVILLE et al., 2005). A intensidade do mofo-branco do feijoeiro pode ser reduzida com a aplicações foliar de cloreto de cálcio e silicato de cálcio (PAULA JÚNIOR et al., 2009), e a severidade da podridão de *Phytophthora* em soja foi minimizada, bem como a liberação de zoósporos e o crescimento do fungo em combinação com a resposta do tecido da planta hospedeira mediante a aplicação de diferentes fontes de Ca^{+2} (SUGIMOTO et al., 2008). Catarino et al. (2016) também encontraram resultados favoráveis na redução da mancha de *Phoma* do cafeeiro utilizando suplementos de Ca^{+2} e de K^{+} em solução nutritiva. Ainda no cafeeiro, a aplicação de produtos contendo fosfito de cálcio foi eficaz no controle da *Phoma costaricensis*, em mudas (NOJOSA et al., 2009). A severidade da podridão do pé do mamoeiro também foi reduzida com aplicação de fosfito de cálcio (DIANESE et al., 2009).

Diante do contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o controle da mancha aureolada em cafeeiro por diferentes doses de um produto comercial a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor[®]) em viveiro de mudas e a viabilidade destas após o plantio em campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos durante os meses de maio de 2015 à fevereiro 2016, em viveiro comercial e área comercial de cultivo localizados no município de Mandaguari, PR. O clima dessa região é do tipo Cfb (verões chuvosos e invernos frios e secos), segundo a classificação de Köppen, com latitude 23°31'S, longitude 51°40'W e altitude média de 750 m. A temperatura média anual é de 18,5 °C, com máxima média de 28,7 °C e mínima média de 9,6 °C.

Para formação do stand das mudas em viveiro foram utilizadas sementes de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100, adquiridos no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR). Estas sementes foram semeadas em germinadores de areia com permanência de 70 dias após semeadura (DAS) ou até o estágio de palito de fósforo. O enraizamento foi realizado em agropotes de TNT, contendo substrato comercial constituído de fibra de coco, com permanência de até 180 DAS, quando foram transplantadas no campo. O sistema de manejo adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa. Durante este período as mudas receberam irrigação e nutrição mineral por sistema automatizado de fertirrigação. A solução nutritiva era composta por cloreto de potássio, MAP e micronutrientes (B e Zn) nas concentrações de 20 g, 15 g e 0,3 g, respectivamente.

O plantio foi realizado em uma área previamente sulcada, utilizando-se espaçamento de 70 cm entre mudas e 3,2 m entre fileiras. Para nutrição de base utilizou-se 4 kg de esterco de galinha poedeira por metro linear e 100 gramas de termofosfato reativo por cova de plantio. Os tratamentos foram aplicados semanalmente, a partir dos 120 DAS (dois pares de folhas), por aspersão na parte aérea das mudas, constituindo-se de Fert Protetor[®] nas dosagens de 0%, 4%, 8%, 16% e 32%, por 35 dias.

Para condução do experimento em fase de viveiro utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizados, com cinco tratamentos (doses de Fert Protetor[®]) e seis repetições (caixas de mudas), onde a área total experimental era constituída de 30 caixas de mudas de 55 x 35 cm, sendo que cada caixa continha 77 mudas, representando uma parcela experimental. As avaliações foram realizadas em oito plantas da região central de cada unidade experimental.

A campo adotou-se delineamento em blocos ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições, cuja área total utilizada foi de 358,4 m², sendo que cada parcela experimental continha oito mudas dispostas em 17,92 m². Aos 60 dias após plantio (DAP) foram avaliadas quatro mudas na região central de cada unidade experimental.

As variáveis analisadas foram altura de plantas e diâmetro de colo no momento da expedição para o campo, ou seja, 170 DAS e aos 60 DAP. A altura foi mensurada em centímetros (cm), a partir da base da planta até o meristema apical. O diâmetro do colo foi medido na base da estaca, na superfície do substrato, com auxílio de um paquímetro. O volume de raiz e a porcentagem de mudas viáveis foram quantificadas na fase de expedição (170 DAS). Para o volume de raiz utilizou-se duas plantas da área útil, as quais foram lavadas em água corrente, secas em papel toalha e imersas em proveta graduada com volume conhecido de água, medindo-se o volume de líquido deslocado. Para o cálculo da porcentagem de mudas viáveis verificou-se a relação entre o total de mudas de cada parcela e a proporção de descarte e/ou mudas viáveis para o campo. A porcentagem de pegamento de mudas foi verificada considerando-se a quantidade de mudas transplantadas e o número de plantas viáveis aos 60 DAP.

Para o cálculo do índice de severidade da mancha aureolada foram feitas avaliações quinzenais a partir da primeira aplicação do produto. As avaliações foram realizadas no primeiro par de folhas totalmente expandido, quantificando-se a severidade da mancha aureolada do cafeeiro de acordo com escala diagramática proposta por Belan (2014).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as variáveis quantitativas analisadas por regressão, com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação quinzenal de doses de Fert Protetor[®] em mudas de *C. arabica* acometidas com mancha aureolada em viveiro, teve efeito positivo ($p < 0,05$) na redução do percentual de folhas com sintomas (Figura 1a) e, conseqüentemente, na redução da severidade relativa da doença (Figura 1b).

Todas as doses de Fert Protetor[®] testadas foram efetivas na redução da mancha aureolada, havendo efeito dose resposta, onde quanto maior a dose do produto mais expressiva foi a redução da doença ($p < 0,05$), ou seja, houve uma redução proporcional ao aumento da concentração do produto. Os valores mais expressivos para a redução da severidade da doença foram observados nas dosagens de 16% e 32%. Contudo, não houve diferença significativa entre estes tratamentos, observando-se uma redução de até 70% dos sintomas da mancha aureolada em relação à testemunha (Figura 1 a, b).

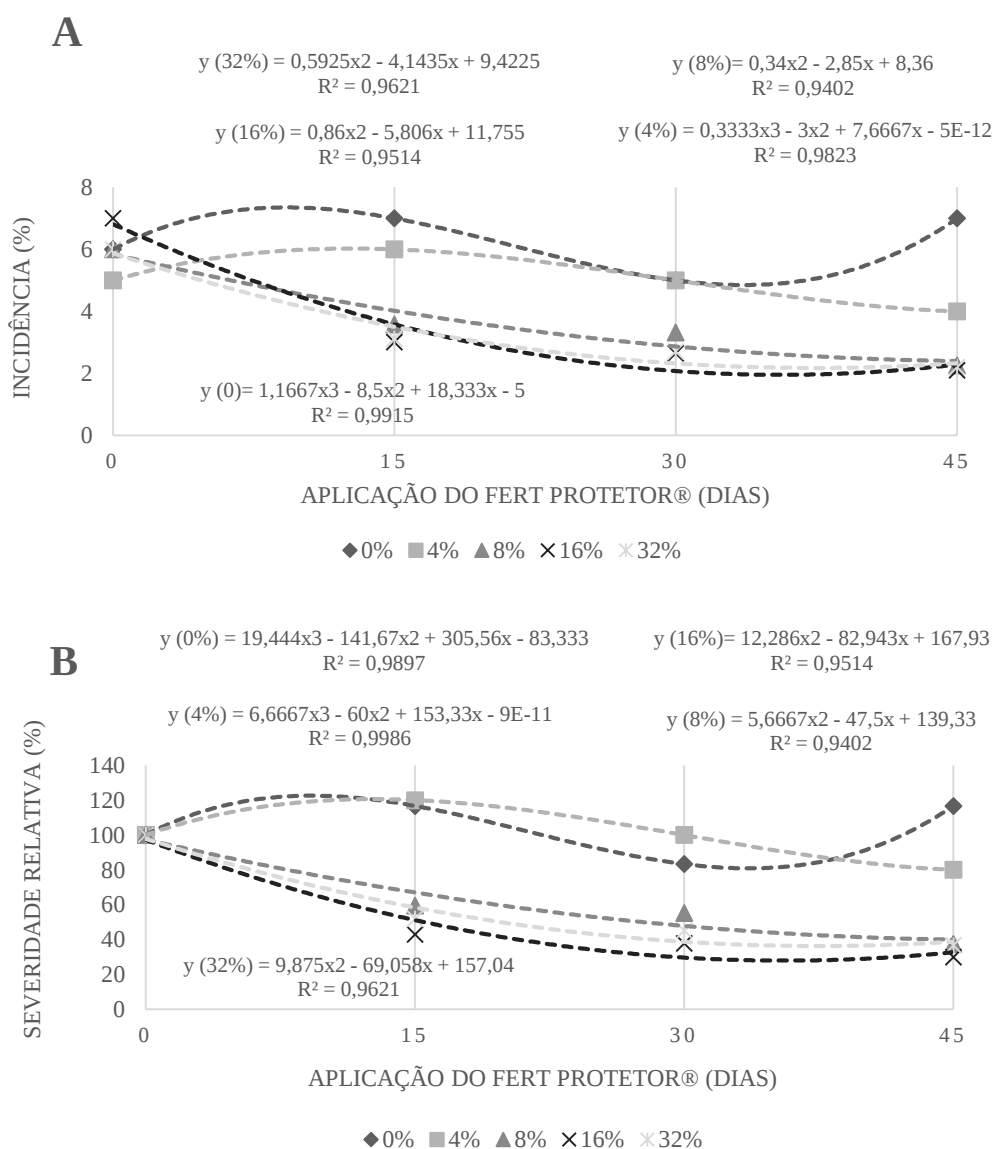


Figura 1. Incidência de folhas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 danificadas pela mancha aureolada (a) e severidade relativa da doença dos 120 aos 165 dias após a semeadura (DAS) (b) em viveiro tratado com doses de Fert Protetor®.

Esta redução na severidade da doença certamente está associada ao sulfato de cálcio, principal componente do Fert Protetor®. Neste caso, a sua aplicação vai além da função nutricional, pois a aplicação foliar de cálcio não tem como objetivo suprir a demanda deste nutriente, uma vez que a exigência desta cultura é superior a quantidade fornecida, porém, tem o intuito de auxiliar na ativação de mecanismos regulados pelo cálcio, uma vez que sendo este elemento pouco móvel, pequenas porções fornecidas e absorvidas diretamente pela folha contribuem no aporte imediato deste nutriente.

Este aporte imediato de cálcio pode ativar mecanismos de defesa planta, uma vez que atua como mensageiro secundário, favorecendo o reconhecimento da invasão de patógenos pela

membrana plasmática, auxiliando na sua manutenção e estabilidade (MARSCHNER, 2012). Outro ponto importante a se considerar no aporte de cálcio via foliar é que uma das suas principais funções na planta é a formação do pectina de cálcio, presente na lamela média da parede celular, o que contribui para construir e fortalecer a parede celular, dificultando a infecção por patógenos (BATEMAN e LUMSDEN, 1965). Alguns fungos e bactérias invadem o tecido vegetal através da produção de enzimas pectolíticas, que dissolvem a lamela média. O cálcio inibe a atividade destas enzimas implicando em maior resistência a várias doenças (KIRALY, 1976).

Além de aumentar a resistência a algumas doenças, o cálcio também pode atuar na prevenção da contaminação de novas mudas por meio da alteração do ambiente, seja pela formação de barreira física, pela neutralização de ácidos orgânicos (formação de sais) ou controle do pH, o que acaba influencia no ciclo de vida dos patógenos, comprometendo a interação planta x patógeno x ambiente (MICHEREFF et al. 2005).

O controle da mancha aureolada em cafeeiro também foi relatado por Oliveira (2017), que testou nove produtos alternativos no controle desta doença obtendo eficiência na diminuição do índice de severidade de até 40,3%, com cinco produtos, sendo um deles o Greenforce CuCa, cuja base contem cálcio. Da mesma forma, Martins et al. (2013), ao trabalharem com 11 produtos alternativos no controle da mancha aureolada em mudas de café, observaram um decréscimo de até 41% da doença com a aplicação do GreenForce CuCa. No presente estudo, o Fert Protetor[®] foi mais eficiente em controlar a doença que os trabalhos supracitados, reduzindo em até 70% os sintomas.

A altura das mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 aumentou significativamente ($p < 0,05$) de acordo com as dosagens de Fert Protetor[®] em ambas as avaliações, ou seja, aos 120 DAS e aos 60 DAP. O modelo de regressão quadrática proporcionou melhor ajuste para expressar o efeito das doses de Fert Protetor[®] na altura do IPR 100 aos 120 DAS (Figura 2a) e aos 60 DAP (Figura 2b).

Pode-se observar que a aplicação de doses de Fert Protetor[®] influenciou na altura das mudas ($p < 0,05$), resultando em um incremento de até 10% para a altura mensurada em viveiro e 12% para altura a campo na melhor dose ($\pm 20\%$) quando comparada a testemunha (Figura 2 a, b).

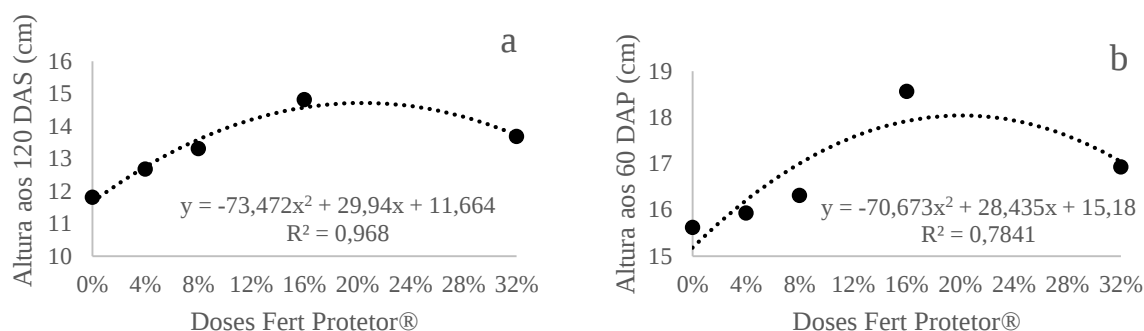


Figura 2. Altura de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (cm) em viveiro aos 120 dias após a semeadura (DAS) (a) e a campo aos 60 DAP (b), em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

O diâmetro do colo das mudas de IPR 100 também aumentou significativamente de acordo com as dosagens de Fert Protetor®, aos 120 DAS e aos 60 DAP. Independe das épocas avaliadas, o diâmetro do colo das mudas de IPR 100 obteve um acréscimo de aproximadamente 23% ($p < 0,05$) na melhor dose resposta que foi com a aplicação de 19% de Fert Protetor®, em comparação a testemunha. O comportamento do diâmetro do colo, em função das doses de Fert Protetor®, aos 120 DAS e 60 dias DAP estão exemplificados nos gráficos de regressão quadrática, expressos na Figura 3 (a e b).

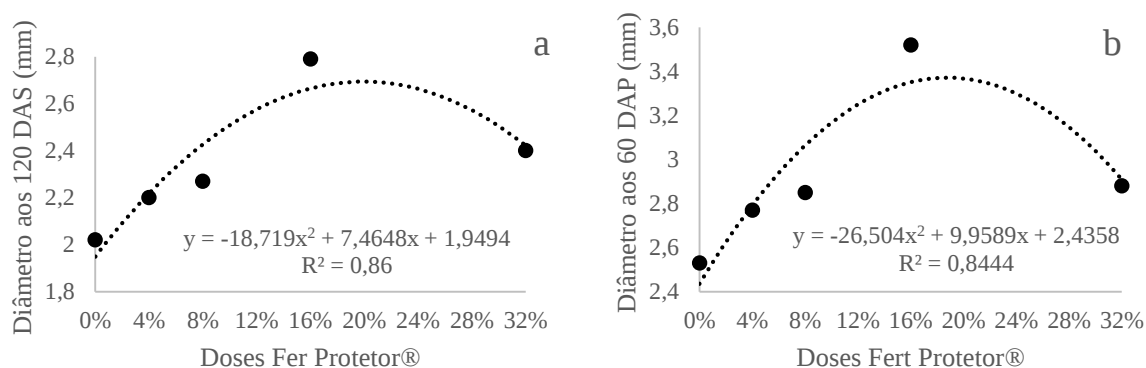


Figura 3. Diâmetro do colo de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (cm) em viveiro aos 120 dias após a semeadura (DAS) (a) e a campo aos 90 dias após o plantio (DAP) (b), em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

A utilização de doses de Fert Protetor® também promoveu incremento ($p < 0,05$) no enraizamento das mudas, observado aos 170 DAS (Figura 4), expressando um comportamento dose resposta exemplificado por meio da equação quadrática. O tratamento utilizando o Fert

Protetor[®] na concentração de 19% foi mais efetivo ($p < 0,05$), no aumento do volume de raiz, sendo este 23% maior que a testemunha (Figura 4).

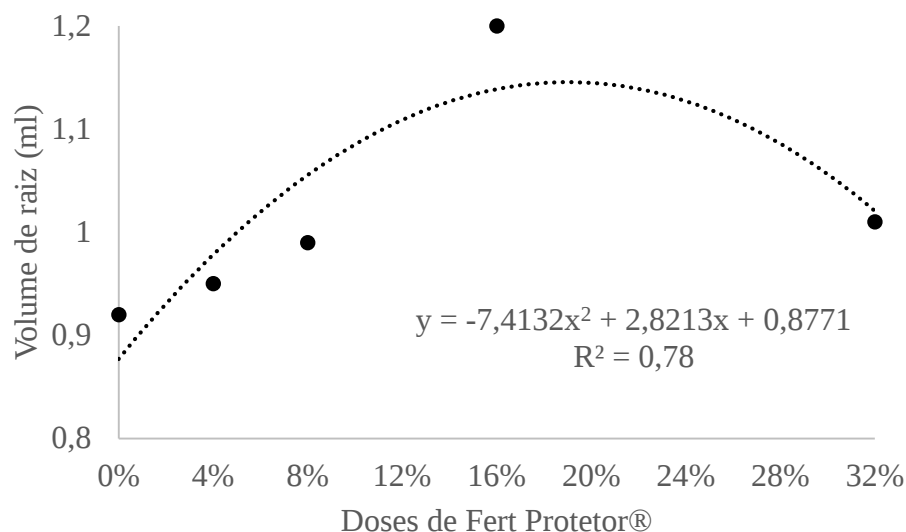


Figura 4. Volume de raiz de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 (ml) em viveiro aos 170 dias após a semeadura (DAS), em função de doses de Fert Protetor[®]. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos no presente estudo para a altura de planta (15,6 cm à 18,0 cm) e diâmetro do colo (2,53 mm à 3,52 mm) aos 230 DAS e volume de raiz (0,92 ml à 1,20 ml) aos 170 DAS, foi superior aos 8,30 cm, 2,90 mm e 0,92 mL relatados por Nasser et al. (2009), respectivamente para estas variáveis, sendo estas observadas em mudas de cafeeiro aos 210 DAS e cultivadas sob as mesmas condições. No entanto, não se pode tirar conclusões a partir desta comparação, pois não existe um padrão preconizado para a altura de planta, diâmetro do colo e volume de raiz. Estas variáveis dependem de fatores como época e sistema de semeadura, variedade e manejo, porém, podem ser um indicativo de sanidade e vigor.

Estes resultados, no entanto, depõem favoravelmente a aplicação de Fert Protetor[®] para o controle de mancha aureolada em mudas de *C. arabica* em fase de viveiro, pois além de diminuir a severidade desta doença, aumentou a altura das plantas, o diâmetro do colo e o volume de raiz. As plantas acometidas pela mancha aureolada sofrem desfolha, reduzindo o seu número de folhas e implicando em um baixo desenvolvimento em altura (ITO et al., 2008). A altura de plantas é utilizada para estimar o padrão de qualidade de mudas nos viveiros. Plantas com parte aérea bem desenvolvida melhoram suas chances de absorver radiação fotossinteticamente ativa, de forma a manter um crescimento mais vigoroso (HENRIQUE et al., 2011), influenciando também em outras variáveis como o diâmetro do colo e volume de raiz. Logo, as mudas com valores altos de diâmetro do coleto indicam melhores taxas de

assimilação líquida de produtos da fotossíntese (NASSER et al., 2011). Mudanças com estas características, bem como um bom desenvolvimento do sistema radicular, facilitam o pegamento de mudas a campo e tendem a ter boa taxa de sobrevivência após o plantio (TATAGIBA et al., 2010).

A taxa de sobrevivência de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 sofreu influência das doses de Fert Protetor[®] utilizadas ($p < 0,05$) (Figura 5). As dosagens 4%, 8% e 32% não diferiram estatisticamente, mantendo média de 79,9% na taxa de sobrevivência das mudas. A melhor dose resposta, 20% de Fert Protetor[®], obteve taxa de sobrevivência de 91%, proporcionando mais de 25% de incremento na taxa de sobrevivência das mudas em relação a testemunha.

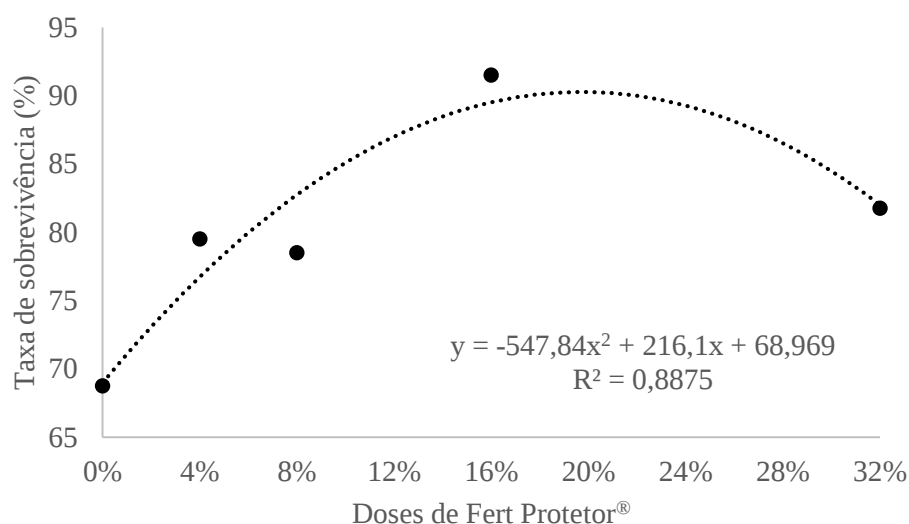


Figura 5. Taxa de sobrevivência após o plantio (60 DAP) de mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100, em função das doses de Fert Protetor[®]. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

Não foram encontrados na literatura outros trabalhos com a taxa de sobrevivência de mudas recuperadas de mancha aureolada. No entanto, quanto maior a taxa de sobrevivência maior viabilidade do stand e menor mão de obra e custo para o produtor. De maneira geral, observa-se citações em trabalhos com árvores florestais de taxas de sobrevivência viável acima de 90% (SOUZA et al., 2006). Os resultados obtidos no presente estudo são similares aos obtidos por Nasser et al. (2011), que obtiveram valores de 63,65%, 95% e 82,5% para a taxa de pegamento de mudas saudáveis, aos 227 DAP, cultivadas em tubetes, sacolas de polietileno e TNT, respectivamente.

Considerando que a maior altura de planta, maior diâmetro do coleto e volume de raiz foi verificado para a dosagem calculada de 20% de Fert Protetor[®], bem como para a taxa de sobrevivência/pegamento a campo aos 60 DAP, pode-se inferir que o tratamento contribuiu

para maior sanidade das plantas, melhorando sua condição morfofisiológica e aumentando a taxa de “pegamento” a campo, como sugerido por Souza et al. (2006). Este autor ressalta que a altura e o diâmetro do colo são fundamentais para a avaliação do potencial de sobrevivência e crescimento no pós-plantio de mudas de espécies florestais, uma vez que, dentro de uma mesma espécie, as plantas com maior diâmetro apresentam maior sobrevivência por apresentarem capacidade de formação e de crescimento de novas raízes. As raízes com adequado desenvolvimento suportam melhor as mudanças de ambiente, pois o sistema radicular das plantas permite maior área de contato com o solo, justificado pelo maior volume de raiz. Vários estudos têm mostrado relação positiva entre sistema radicular de plantas e o subsequente crescimento no pós-plantio, tanto em cafeeiros quanto em outras culturas (NASSER et al., 2009; NASSER et al., 2011).

CONCLUSÃO

A aplicação de Fert Protetor® em mudas de *Coffea arabica* L. cv. IPR 100 foi eficiente no controle da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*), bem como incrementou o crescimento das mudas e a taxa de sobrevivência pós-plantio. Para o controle da mancha aureolada e melhor desenvolvimento das mudas recomenda-se a dose 20% de Fert Protetor®.

REFERÊNCIAS

BATEMAN, D.F.; LUMSDEN, R.D. Relation between calcium content and nature of the peptic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v.55, n.1, p.734-738, 1965.

BELAN, L.L. **Detecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em sementes, microanálise de raios X e desenvolvimento de escala diagramática para a mancha aureolada do cafeeiro**. 2014 128 f Tese (doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

BRASIL. **Produção de café bate recorde e supera 51 milhões de sacas**. Portal Brasil. 2016. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2016/12/producao-de-cafe-bate-recorde-e-supera-51-milhoes-de-sacas>>. Acesso em: 11 out. 2017.

CAPDEVILLE, G.; MAFFIA, L.A.; FINGER, F.L.; BATISTA, U.G. Pre-harvest calcium sulfate applications affect vase life and severity of gray mold in cut roses. **Scientia Horticulture**, v. 103, n. 3, p. 329-338, 2005.

CARVALHO, M.; JESUS, A.M.S.; CARVALHO, S.P. de; GOMES, C.N.; SOARES, A.M. Comportamento em condições de campo de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) propagados vegetativamente e por semeadura. **Coffee Science**, v.3, n.1, p.108-114, 2008.

CATARINO, A.M.; POZZA, E.A.; POZZA, A.A.A.; SANTOS, L.S.; VASCO, G.B.; SOUZA, P.E. Calcium and potassium contents in nutrient solution on Phoma leaf spot intensity in coffee seedlings. **Revista Ceres**, Viçosa, v.63, n.4, p.486-491, 2016.

DIANESE, A.C.; BLUM, L.E.B.; DUTRA, J.B.; LOPES, L.F. Aplicação de fosfite de Potássio, Cálcio ou magnésio para redução da podridão do pé do mamoeiro em casa de vegetação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.8, p. 2309-2314, 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

HENRIQUE, P.C.; ALVES, J.D.; DEUNER, S.; GOULART, P.F.P.; LIVRAMENTO, D.E. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento de mudas de café cultivadas sob telas de diferentes colorações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.5, p.458-465, 2011.

ITO, D.S.; SERA, T.; SERA, G.H.; DEL GROSSI, L.; KANAYAMA, F.S. Resistance to bacterial blight in arabica coffee cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.8, n.1, p.99-103, 2008.

KIRALY, Z. Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. In: Fertilizer use and plant health. **Colloquium of the International Potash Institute**, 12., 1976. p.33-46.

MARSCHNER, P. **Marchner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. New York, Academic Press. 651p. 2012.

MARTINS, S.A.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; VASCONCELOS, V.A.M.; BRASIL, P.H.; SILVA JUNIOR, M.B.; BOTELHO, D.M.S.; RENNÓ, M.H.L. Produtos alternativos no controle da mancha aureolada do cafeeiro. In: VIII SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 8. 2013, Salvador – BA. **Anais eletrônicos....** Disponível em: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio8/134.pdf>. Acesso em: 08/2017.

MEDEIROS, F.C.L.; RESENDE, M.L.V.; MEDEIROS, H.M.; ZHANG, P.W.; PARÉ, P.W. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 74, n. 2, p. 175-183, Apr. 2009.

MESQUITA, C.M.; MELO, E.M.; REZENDE, J.E., CARVALHO, J.S.; FABRI JR, M.A.; MORAES, N.C.; DIAS, P.T. **Manual do café: implantação de cafezais *Coffea arabica* L.** Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016. 50 p.

MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.

NASSER, M.D.; SOUZA, T.A.L. A.; SILVA, L.C.; ZONTA, A.; CAVICHIOLI, J.C. Avaliação de mudas de *Coffea arabica* L. sob diferentes doses de composto orgânico. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7. 2011, Araxá. **Anais eletrônicos...** Araxá: Consórcio Pesquisa Café, 2011. Disponível em: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio7/1.pdf>. Acesso em: 08/2017.

NASSER, M.D.; LIMA JÚNIOR, S.; GALLO, P.B.; SOUZA, P.S.; BREDA JUNIOR, J.M. Desenvolvimento e qualidade de mudas de café (*Coffea arabica* L.) produzidas em sacola

plástica convencional, tubete e sacola de tnt. In: VI SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2009, Vitória. **Resumos Expandidos...** Brasília, DF: Embrapa Café; CONSÓRCIO PESQUISA CAFÉ, 2009. CD-ROM.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MARAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de Indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v.35, n.1, p.60-62, 2009.

OLIVEIRA, M.L. **Epidemiologia e controle da mancha aureolada do cafeeiro**. 2017. 91p. Tese (Doutorado em Produção vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

PATRÍCIO, F.R.A.; BERIAM, L.O.S.; ROSSI, A.; MORAES, A.; ALMEIDA, I.M.G. Controle químico da mancha aureolada em uma região montanhosa. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p. S119, 2010. (Suplemento).

PAULA JUNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; CARNEIRO, J.E. Foliar application of calcium chloride and calcium silicate decreases White mold intensity on dry beans. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.3, p.171-174, 2009.

PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; ALVES, P.M.; RESENDE, M.L.V.; LUCAS, G.C.; FERREIRA, J.V. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.10, p.1287-1296, out. 2008.

RODRIGUES, L.M.V.; ALMEIDA, I.M.G. de; PATRÍCIO, F.R.A.; BERIAM, L.O.S.; MACIEL, K.W.; BRAGHINI, M.T, FILHO, O.G. Mancha aureolada do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. **Campinas: Instituto Agrônômico**, 2013. 24 p. (Série Tecnologia Apta. Boletim técnico IAC, 212).

SANTOS, F.; SOUZA, P.E., RESENDE, M.L.V., POZZA, E.A., MIRANDA, J.C., RIBEIRO JÚNIOR, P.M. & MANERBA, F.C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.59-63, jan./fev. 2007.

SOUZA, C.A.M.; OLIVEIRA, R.B.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J.S. Desenvolvimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubação. **Ciência Florestal**, v.16, n.3, p.243-249, 2006.

SUGIMOTO, T.; WATANABE, K.; YOSHIDA, S.; AINO, M.; IRIE, K.; MATOH, T.; BIGGS, A.R. Select calcium compounds reduce the severity of Phytophthora stem rot of soybean. **Plant Disease**, v.92, n.1, p.1559-1565, 2008.

ZAMBOMIM, L. Doenças do cafeeiro. In AMORIM, L., RESENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p.193-213, 2016.

ZOCCOLI, D.M.; TAKATSU, A.; UESUGI, C.H. Ocorrência de mancha aureolada em cafeeiros na Região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.4, p.843-849, 2011.

TATAGIBA, S.D.; PEZZOPANE, J.E.; REIS, E.F. Crescimento vegetativo de mudas de café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Coffe Science**, Lavras, v.5, n.3, p.251-261, 2010.

3 CAPÍTULO 2: PEROXIDASE E ENRAIZAMENTO DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE FERT PROTETOR®

RESUMO

Diante da demanda do setor florestal em fornecer mudas de *Eucalyptus* sp. e devido à dificuldade de enraizamento a partir de estacas, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de doses de um protetivo mineral a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor®) na atividade de peroxidase e no desenvolvimento radicular de dois clones de eucalipto. O estudo foi conduzido utilizando-se os clones de eucalipto IPB22 e IPB26 (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*), nos quais foram realizadas aplicações quinzenais de Fert Protetor®, por 120 dias, nas dosagens de 0%, 4%, 8%, 16% e 32%. As variáveis analisadas foram altura da parte aérea, diâmetro do colo, porcentagem de enraizamento e atividade da enzima peroxidase. A aplicação de Fert Protetor®, principalmente em 16% e 32%, resultou em maior altura, diâmetro de colo, enraizamento das miniestacas e atividade de peroxidase para os dois clones estudados. Dessa forma, conclui-se que o Fert Protetor® tem potencial indutor para peroxidase, contribuindo para melhor desenvolvimento de miniestacas de clones de eucalipto.

Palavras-chave: Indutor, micropropagação, sulfato de cálcio.

ABSTRACT

PEROXIDASE AND ROOTING OF EUCALYPTUS CLONES SUBMITTED TO DIFFERENT DOSES OF FERT PROTETOR®

Due to the demand of the forest-based sector and the difficulty for providing seedlings of *Eucalyptus* spp. produced by cutting rooting, the objective of this work was to evaluate the effect of doses of a calcium sulphate based mineral (Fert Protetor®) on the peroxidase activity and the rooting of two eucalyptus clones. The study was conducted using cuttings of the eucalyptus clones IPB22 and IBP26 (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*), in which bi-weekly applications of Fert Protetor® were carried out for 120 days at dosages of 0%, 4%, 8%, 16% and 32%. The analyzed variables were shoot height and diameter, rooting percentage and peroxidase activity. We observed that the use of doses of Fert Protetor®, mainly 16% and 32%, increased the height, diameter, rooting and peroxidase of the mini-cuttings for both clones.

Thus, Fert Protector[®] has potential for inducing peroxidase, contributing to a better development of eucalyptus mini-cuttings.

Key words: Inductor, micropropagation, calcium sulfate.

INTRODUÇÃO

A área de árvores plantadas para fins industriais no Brasil vem apresentando crescimento aproximado de 2% nos últimos três anos. O eucalipto, que é uma das espécies mais representativas do setor, ocupa 5,56 milhões de hectares, com produtividade média de 39 m³ ha⁻¹ ano⁻¹. Considerando a projeção de 9,5 bilhões de habitantes em 2050 previsto pela Organização das Nações Unidas (FAO), para atender a demanda deste contingente, em 35 anos seriam necessários o plantio adicional de cerca de 210 milhões de hectares de eucalipto em todo o mundo, dentro dos níveis atuais de produtividade (IBA 2016).

Na silvicultura o eucalipto é uma das espécies mais cultivadas por apresentar características favoráveis à produção como grande diversidade, pois o gênero *Eucalyptus* tem aproximadamente 700 espécies, rápido crescimento e alta produtividade florestal (ALFENAS et al., 2009). Porém, o crescimento desta cultura apresenta alguns desafios, como a dificuldade de propagação. Algumas espécies do gênero *Eucalyptus* são reconhecidamente recalcitrantes ao enraizamento de estacas (ASSIS; MAFIA, 2007) e ainda, os plantios têm-se restringido a regiões de clima temperado devido às suas exigências edafoclimáticas (FREITAS JR. et al., 2012).

Diante do contexto, para se adaptar a esse novo cenário mundial e superar estes desafios, as empresas do setor estão investindo na biotecnologia, associada ao melhoramento genético. Para o setor, a produção de mudas de boa qualidade é de extrema importância, pois tem impacto direto no sucesso da implantação e estabelecimento da cultura (MARTINS et al., 2007).

No entanto, um dos principais problemas é a dificuldades no processo de produção de mudas pelo enraizamento de estacas, dificultando o aproveitamento dos benefícios da clonagem (BORGES et al., 2011). A formação de raízes em estacas é um processo anatômico e fisiológico complexo que pode ser influenciado por diversos fatores, como injúrias, balanço hormonal, constituição genética, presença de inibidores e condições nutricionais e hídricas da planta doadora de propágulos (ALFENAS et al., 2009).

Contudo, a aplicação de substâncias promotoras do enraizamento pode gerar melhores resultados na propagação vegetativa das plantas. Algumas substâncias se destacam como

indutor de enraizamento, como as auxinas naturais e sintéticas (HARTMANN et al., 2002), o cálcio que atua aumentando a atividade de peroxidase (HAISSING, 1986) e indutores de resistência em plantas a patógenos, como o acibenzolar-S-metil (ASM) (BOAVA et al. 2010). Conforme Amarante et al. (2001), o aumento na atividade específica da peroxidase, antes da iniciação e crescimento dos primórdios radiculares em plantas micropropagadas, pode servir como um marcador da performance de enraizamento, o que também foi verificado em outros trabalhos (MATO et al., 1988; GASPAR et al., 1992; ANSARI et al., 1995), uma vez que a esta enzima está diretamente ligada à lignificação dos tecidos e, consequente, ao aumento da resistência em plantas.

Diante deste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência de doses de um protetivo mineral a base de sulfato de cálcio (Fert Protetor[®]) na atividade de peroxidase nos clones de *Eucalyptus* spp. IBP22 e IPB26 durante o enraizamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no jardim clonal da *Internacional Paper*, localizado no município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwb (verões chuvosos e invernos frios e secos), segundo a classificação de Köppen, com latitude 22°13'S, longitude 46°33'W e altitude média de 640 m. A temperatura média anual é de 21,7 °C, com máxima média de 29,7 °C e mínima média de 10,6 °C. O experimento foi conduzido durante os meses de agosto à novembro de 2015 e, durante esse período, a temperatura média foi de 21,4 °C, com média das máximas de 22,8 °C e média das mínimas de 19,6 °C.

Foram utilizados os clones IPB 22 e IPB26 provenientes do híbrido *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, clones considerados de difícil enraizamento. A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaqueia, o jardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental coberto da *International Paper* do Brasil. O jardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaqueia. O sistema de manejo do jardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa, onde as minicepas permaneceram em canaletas de concreto. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva composta por nitrato de cálcio (0,04 g L⁻¹) sulfato de amônio (0,216 g L⁻¹), além dos fertilizantes comerciais adotados no manejo da empresa.

As miniestacas foram coletadas semanalmente no jardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparentes em espuma fenólica e mantidas fechadas, para manter as condições de turgescência do material vegetativo.

O processo de enraizamento das miniestacas foi desenvolvido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar de 80% e temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimação) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade. Foram realizadas aplicações quinzenais de Fert Protetor[®] na parte aérea das plantas, nas dosagens de 0%, 4%, 8%, 16% e 32%, por 120 dias, na fase de jardim clonal.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados, em arranjo fatorial 5x2, sendo o primeiro fator as dosagens de Fert Protetor[®] e o segundo fator os clones (IPB22 e IPB26), com quatro repetições.

A área total experimental foi constituída de 1 canaleta de 20 metros, sendo que cada parcela correspondeu a 1 m de comprimento. Para as avaliações foram retiradas todos os brotos viáveis da área central de cada unidade experimental, desprezando-se 15 cm de cada lado. Foram avaliadas mudas clonais de eucalipto a cada 15 dias desde a retirada da planta mãe até a fase de expedição.

As variáveis analisadas foram altura da parte aérea, diâmetro do colo, porcentagem de enraizamento e atividade da enzima peroxidase. Para avaliação da parte aérea e diâmetro de colo foram amostradas 16 mudas sendo estas coletadas aos 50 dias na área central de cada parcela. Para a porcentagem de enraizamento foram quantificadas todas as plantas da área útil em fase de expedição aos 25 e 50 dias.

A altura foi medida em centímetros (cm), a partir da base dos brotos até o meristema apical. O diâmetro do colo foi medido na base da estaca, na superfície do substrato, com auxílio de um paquímetro. A determinação da porcentagem de enraizamento foi obtida através da relação entre brotos retirados e mudas viáveis para expedição.

Para análise da peroxidase as amostras foram coletas nos tempos 0, 24, 72 e 96 horas após a aplicação com o Fert Protetor[®], sendo armazenadas em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da determinação da atividade enzimática. Amostras de 0,5 g de folhas de cada tratamento foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido e, em seguida, homogeneizadas em 4 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,0, contendo 2,56 g de polivinilpirrolidona e fluoreto de fenilmetilsulfonil 5 mM. Os extratos foram centrifugados a 20.000g por 25 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o sobrenadante, considerado a fração proteica, foi transferido para microtubos e armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A atividade de peroxidase foi determinada a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, através de método

espectrofotométrico direto pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSO; PASCHOLATI 1999).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as variáveis quantitativas analisadas por regressão, com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura das miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) para interação entre os clones e as dosagens utilizadas de Fert Protetor®, obtendo altura média de 15,46 cm, com coeficiente de variação de 1,82%. No entanto, independente dos clones estudados, a altura das miniestacas variou significativamente de acordo com as doses de Fert Protetor®. O modelo de regressão quadrática proporcionou melhor ajuste para expressar o efeito das doses de Fert Protetor®, na altura das miniestacas dos clones (Figura 1). Desta forma, pode-se observar que de acordo com as doses aplicadas houve aumento significativo na altura das miniestacas, resultando em um incremento de até 5%.

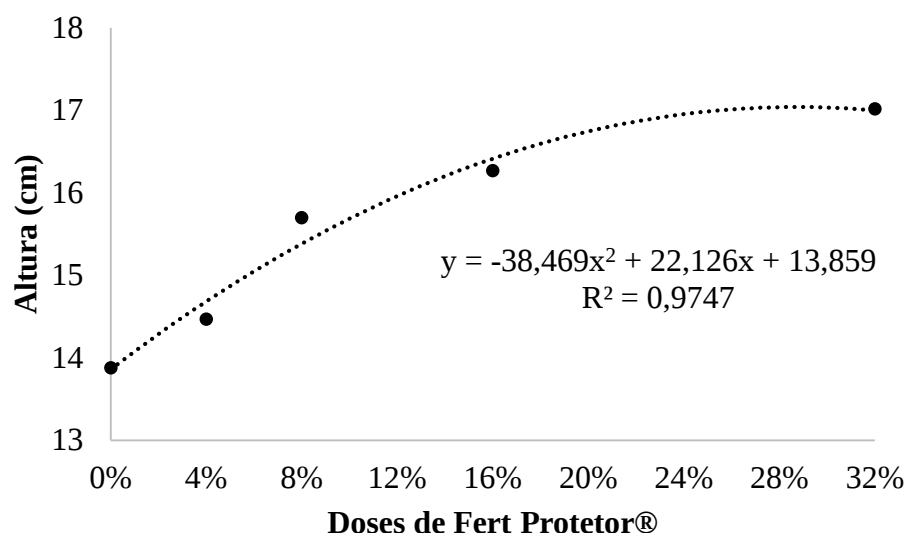


Figura 1. Altura de miniestacas (cm) a pleno sol aos 50 dias de idade, em função de doses de Fert Protetor®, de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

A altura de plantas é um fator utilizado para estimar o padrão de qualidade de mudas nos viveiros florestais. Como critérios de qualidade as empresas adotam altura média variando entre 15 a 30 cm nas principais espécies de *Eucalyptus* plantadas no país (XAVIER et al. 2009). Considerando este padrão, os valores médios para a altura das miniestacas submetidas às dosagens de Fert Protetor®, obtidos no presente estudo, estão dentro dos padrões de qualidade,

exceto na dosagem de 4% que ficou no limiar (14,47 cm). O tratamento sem adição de Fert Protetor® obteve valores médios (13,88 cm) inferiores ao desejado pela empresa.

A adoção de uma altura específica como padrão de qualidade também é respaldada por alguns autores. Por exemplo, Souza et al. (2013), trabalhando com padrões de miniestacas e sazonalidade na produção de mudas clonais de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, constataram que mudas com mais de 10 cm de altura proporcionam melhor taxa de enraizamento, assim como, o melhor desenvolvimento de mudas.

Segundo Souza et al. (2006), a altura e o diâmetro do colo são fundamentais para a avaliação do potencial de sobrevivência e crescimento no pós-plantio de mudas de espécies florestais, uma vez que, dentro de uma mesma espécie, as plantas com maior diâmetro apresentam maior sobrevivência por apresentarem capacidade de formação e de crescimento de novas raízes.

O diâmetro do colo das miniestacas também não diferenciou significativamente entre os clones IPB22 e IPB26 avaliados, obtendo valores médios de 1,19, 1,24, 1,28, 1,29 e 1,32 mm, respectivamente para as dosagens de 0%, 4%, 8%, 16% e 32% de Fert Protetor®. Porém, independentemente dos clones avaliados, o diâmetro do colo das miniestacas obteve um acréscimo de aproximadamente 10% ($p < 0,05$) na melhor dose resposta que foi com a aplicação de 27% de Fert Protetor®. Estes fatos podem ser melhor exemplificados observando-se a regressão quadrática ($R^2 = 0,92$) expressa na Figura 2.

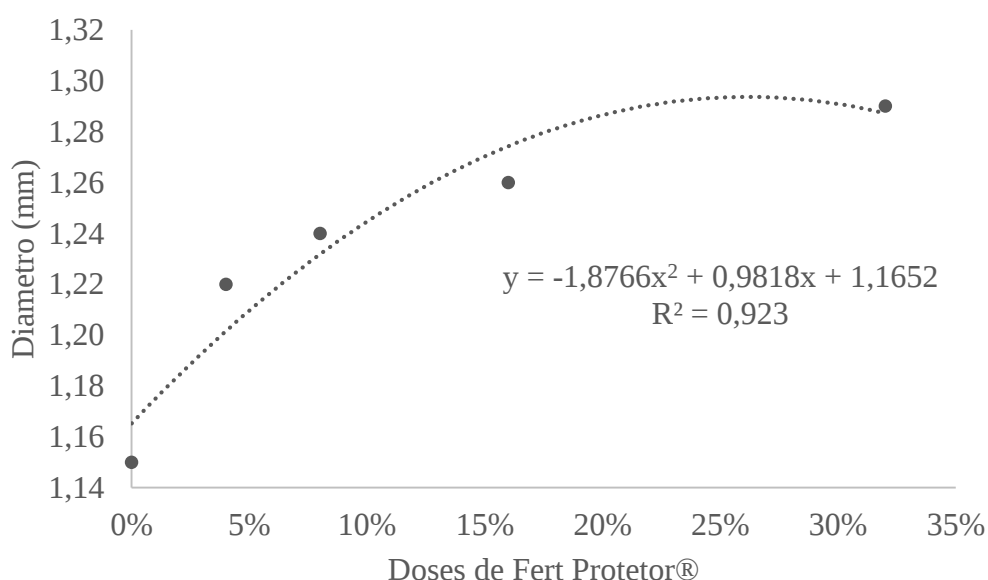


Figura 2. Diâmetro do colo de miniestacas (cm) a pleno sol aos 50 dias de idade, em função de doses de Fert Protetor®, de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

*Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

Tanto a altura quanto o diâmetro do colo são características de fácil mensuração, e suas avaliações não são destrutivas, por isso, são frequentemente utilizadas para estimar o padrão de qualidade das mudas nos viveiros florestais. Para o diâmetro do colo valores superiores a 2 mm são indicativo de maior qualidade e taxa de sobrevivência para as principais espécies de *Eucalyptus* plantadas no país (XAVIER et al., 2009).

Valores semelhantes aos do presente estudo para a altura e o diâmetro de miniestacas também foram verificados por Correia et al. (2015), ao trabalharem com redução foliar em miniestacas e microestacas de híbridos de *Eucalyptus globulos*, cujos valores médios foram de 15,3 cm e 2,0 mm, respectivamente para a altura e o diâmetro.

O percentual de enraizamento das miniestacas dos clones IPB22 e IPB26 de *Eucalyptus* foi avaliado em dois momentos, na saída da casa de sombra aos 25 dias de idade, caracterizado como época 1, e a pleno sol aos 50 dias de idade, época 2. A avaliação do enraizamento das miniestacas em ambas as épocas apresentou as mesmas características, não revelando interação ($p < 0,05$) entre os clones avaliados (IPB22 e IPB26) para as doses estudadas. Contudo houve crescente enraizamento de acordo com as dosagens de Fert Protetor[®] utilizada, independentemente dos clones.

A utilização de doses de Fert Protetor[®] promoveu um incremento no enraizamento das miniestacas. O tratamento na concentração de 16% foi mais efetivo ($p < 0,05$), elevando a taxa de enraizamento de 58% para 81% e de 56% para 83%, o que corresponde a um aumento de 30% e 33%, para as épocas 1 (Figura 3a) e 2 (Figura 3b), respectivamente. Estas afirmações estão melhor exemplificadas nos gráficos de regressão quadrática exposto na Figura 3a, b.

A competitividade da indústria de base florestal tem como um dos principais problemas a dificuldade da propagação vegetativa de mudas, devido a dificuldades no processo no enraizamento de estacas em algumas espécies e clones, particularmente de *Eucalyptus* (ALFENAS et al., 2009; XAVIER et al., 2009; ASSIS; MAFIA 2007). De acordo com Alfenas et al. (2009), menos de 2% das árvores-elite de *Eucalyptus globulus* selecionadas em programas de melhoramento apresentam enraizamento de miniestacas igual ou superior a 60%. Esta citação corrobora com os valores obtidos no presente trabalho (Figura 3a e 3b), uma vez que as plantas não tratadas com doses de Fert Protetor[®] não atingiram taxa de enraizamento superior a 60% em nenhuma das épocas estudadas.

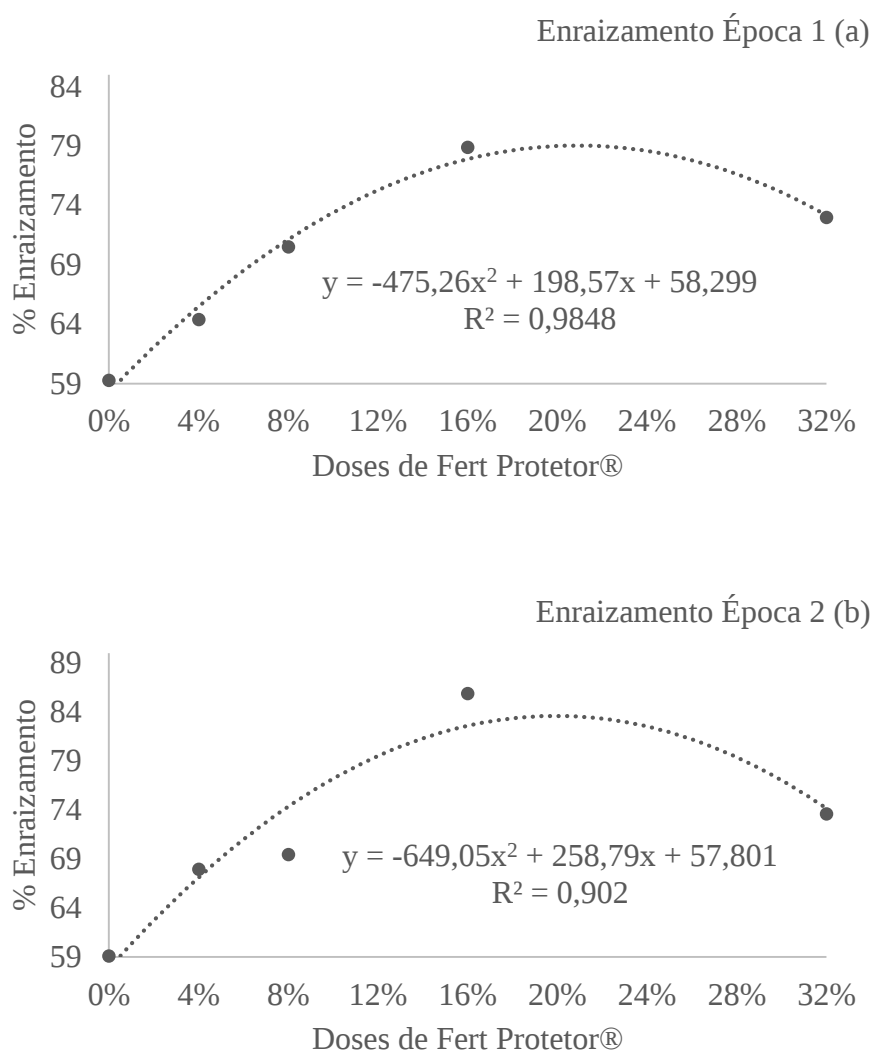


Figura 3. Taxa de enraizamento de dois clones (IPB22 e IPB26) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em função de doses de Fert Protetor®, em duas épocas. Época 1 (a), aos 25 dias na saída de casa de sombra; época 2 (b) aos 50 dias em pleno sol. *Significativo ao teste t a 5% de probabilidade.

Contudo, a habilidade dos tecidos das plantas para a formação de raízes adventícias depende de diferentes fatores endógenos e exógenos e da interação entre eles (XAVIER et al., 2009). Neste estudo, os resultados superiores de enraizamento obtidos com miniestacas tratadas com Fert Protetor® podem estar relacionados, dentre outros fatores, à presença do cálcio. A composição do produto é baseada em sulfato de cálcio e, reconhecidamente, este mineral atua na divisão celular, na formação da lamela média, no processo de formação das raízes e na parede celular (CUNHA et al., 2009).

O cálcio atua conferindo maior lignificação aos tecidos o que os confere maior resistência, pois é importante na manutenção da rigidez da parede celular dos tecidos vegetais (CUNHA et al., 2009). A ausência de cálcio resulta na redução do crescimento radicular,

escurecimento e morte da planta (VITTI et al., 2006), e se isto ocorrer durante a fase de formação pode gerar decréscimo de até 45% no índice de enraizamento (BELLAMINE et al., 1998). De acordo com Assis et al. (2004), baixas concentrações de cálcio na folha ($< 7 \text{ g L}^{-1}$) comprometem o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus*.

Assim como no presente estudo que obteve valores de enraizamento por volta de 80%, Martínez Pastur et al. (2000) também obtiveram respostas positivas ao avaliarem diferentes concentrações de cálcio no meio de cultivo, chegando a resultados com 100% de taxa de enraizamento de *Nothofagus pumilio*.

Além da função de nutrição mineral os benefícios do cálcio também estão relacionados com a sua atuação como ativador de enzimas e hormônios atuantes no processo de enraizamento. Neste contexto está a relevante interação do cálcio no transporte de auxinas entre tecidos jovens (TAIZ; ZEIGER, 2004) e a ativação da peroxidase (HAISSIG, 1986), cujos mecanismos de ação estão associados a indução de resistência e ao processo de enraizamento (BAYSAL et al., 2003). Contudo, neste trabalho foi possível verificar de acordo com as variáveis estudadas, uma interação significativa entre as dosagens de cálcio e o aumento da peroxidase (Figura 4) o que certamente proporcionou maior taxa de enraizamento (Figura 3).

Esse resultado sugere que o cálcio desempenha papel importante na formação das raízes, seja como mineral ou como mensageiro secundário de substâncias como a peroxidase (CUNHA et al., 2009).

Em relação à atividade de peroxidase nas folhas dos clones IPB22 e IPB26 (Figura 4a e 4b), observou-se que para todas as doses de Fert Protetor[®] utilizadas houve aumento significativo ($p < 0,05$), sendo que este aumento proporcional ao aumento da concentração do produto. O maior incremento foi observado na dosagem de 32%. Para ambos os clones IPB22 e IPB26 foi possível verificar que houve um pico de indução nas primeiras 24 horas após a aplicação do Fert Protetor[®] seguida de queda e um novo pico de indução após 72 horas.

Este comportamento de indução da enzima peroxidase também é relatado por outros autores. Boava et al. (2010) por exemplo, relataram maior pico de atividade de peroxidase 72 h após a inoculação de *Puccinia psitii* em eucaliptos induzidos com acibenzolar-S-metil.

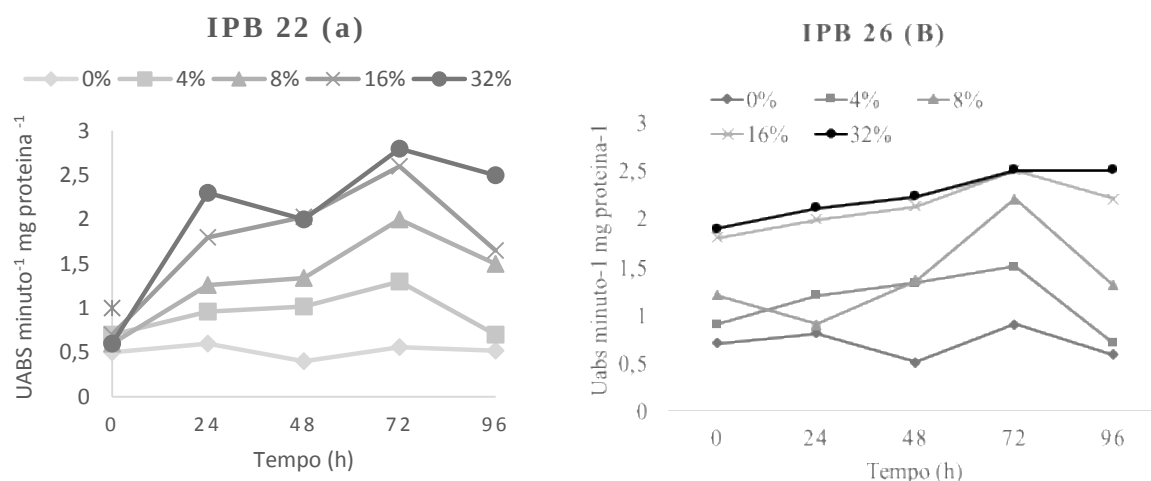


Figura 4. Atividade de peroxidases em tecidos foliares dos clones IPB 22 (a) e IPB26 (b) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, submetidos a diferentes dosagens de Fert Protetor® em fase de viveiro.

O aumento da atividade enzimática das miniestacas tratadas com Fert Protetor® provavelmente está ligado à capacidade dos componentes deste produto em ativar mecanismos de defesa da planta, antecipando reações bioquímicas que só seriam ativadas, por exemplo, com o ataque de um patógeno (BOAVA et al., 2010).

A aplicação e o contato do Fert Protetor® com a folha pode vir a ativar mecanismos de reconhecimento e desencadear reações de defesa, ainda, em se tratando de um produto a base de sulfato cálcio, a sua absorção pela folha pode favorecer a ativação de enzimas que mantenham relação próxima com o metabolismo do cálcio na planta, como as peroxidases (HAISSIG, 1986). Ao proporcionar elevação dos níveis de peroxidase na planta, vários processos fisiológicos podem ser influenciados, pois esta enzima participa de forma direta e indireta em diversos eventos fisiológicos, incluindo a dormência, a tolerância ao frio, a germinação, a resistência ao parasitismo, à biossíntese do etileno e no enraizamento (BAYSAL et al., 2003; TAIZ; ZAIGER, 2004; CUNHA et al., 2009), como observado no presente estudo. Ao se analisar a Figura 4 e a Figura 3 é possível verificar que os tratamentos que receberam doses de Fert Protetor® apresentaram elevação dos níveis de peroxidase e, consequentemente, da taxa de enraizamento, respectivamente.

Este resultado vem de encontro ao de outros autores, como de Amarante et al. (2001), que encontraram correlação positiva na ativação da peroxidase por ácido naftaleno no enraizamento *in vitro* de aspargo (*Asparagus officinalis* L.), e de Zanol et al. (1997), que verificaram que a indução de peroxidase pelo ácido indolbutírico resulta em melhor taxa de enraizamento *in vitro* de porta enxerto de macieira.

Contudo, pode-se observar que a aplicação de Fert Protetor[®] teve efeito positivo e significativo nas características morfológicas (altura, diâmetro de colo e na taxa de enraizamento) e bioquímicas (aumento da atividade de peroxidase) em miniestacas de *Eucalyptus*, inferindo que a composição do produto, em especial o sulfato de cálcio, interage com a superfície foliar, atuando como eliciador, sendo por indução de resistência ou por aporte de cálcio, alterando o metabolismo das miniestacas, aumentando a atividade de peroxidase durante o período de enraizamento, e favorecendo a formação de raízes adventícias. Estas, por sua vez, conferem melhor desenvolvimento das miniestacas, representado neste caso, pela maior altura e diâmetro do colo.

CONCLUSÃO

A utilização de Fert Protetor[®] favorece, de maneira dose-dependente, o desenvolvimento das características morfológicas altura de plantas, diâmetro de colo e enraizamento de estacas dos clones IPB 22 e IPB26 de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, além de induzir a atividade da enzima peroxidase.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV. (2009).
- AMARANTE, L.; COLARES, D.S.; MARIOT, M.P.; FORTES, G.R.L.; ZANELLA, F. Influências do ácido naftaleno acético e escuro e atividade da peroxidase no enraizamento *in vitro* de aspargo (*Asparagus officinalis* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n.1, p.4-9, 2001.
- ANSARI, S.A.; PALANISAMY, K.; KUMAR, P. Peroxidase and nitrate reductase activity in relation to rhizogenesis in *Populus deltoides* Marsh. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.33, n.1, p.892-893, 1995.
- ASSIS, T.F.; FETT-NET, A.G.; ALFENAS, A.C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwood with emphasis on *Eucalyptus*. In WALTER, C.; CARSON, M. (Ed.), **Plant forest biotechnology**. 21th century 2004 p. 303-333. New Delhi: Research Sign Post.
- ASSIS, T.F.; MAFIA, R.G. Hibridação e clonagem. In BORÉM, A. **Biotecnologia florestal** (Ed) Viçosa: Suprema, 2007 p. 93-121.
- BAYSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, v.52, n.1, p.747-753, 2003.

BELLAMINE, J.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; GASPARD, T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the phases of adventitious root formation. **Plant Growth Regulation**, v.26, n.1, p.191-194, 1998.

BOAVA, L.P.; KUHN, O.J.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M.; FURTADO, E.L. Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com *Puccinia psidii*. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.1, p.124-128, 2010.

BORGES, S.R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L.S.; MELO, L.A.; ROSADO, A.M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v.35, n.1, p.425-434, 2011.

CORREIRA, A.C.G.; XAVIER, A.; DIAS, P.C.; TITON, P.; SANTANA, R.C. Redução foliar em miniestacas e microestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v.39, n.1, p.295-304, 2015.

CUNHA, A.C.M.C.M.; PAIVA, H.N.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.58, n.1, p.35-47, 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

FREITAS JUNIOR, G.; MARSON, A.A.; SOLERA, D.A.G. Os eucaliptos no Vale do Paraíba Paulista: aspectos geográficos e históricos. **Revista Geonorte**, v.1, n.1, p.221-237, 2012.

GASPAR, T.; KEVERS, C.; HAUSMAN, J.F.; BERTHON, J.Y.; RIPETTI, V. Practical uses of peroxidase activity as a predictive marker of rooting performance of micropropagated shoots. **Agronomie**, v.12, n.1, p.757-7652, 1992.

HAISSING, B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. In JACHSON, M.B. **New root formation in plants and cuttings**, Ed Dordrecht: Martinus Nijhoff 1986. p. 141-189. 1986.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

IBA – **Industria Brasileira de Árvores**. Disponível em: [http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2016 .pdf](http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2016.pdf). Acesso em 08 ago 2017.

LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p.244-249, 1999.

MARTÍNEZ PASTUR, G.; ARENA, M.; CURVETTO, N. Calcium and boron for *in vitro* rooting of *Nothofagus nervosa*. **Biocell**, v.24, n.1, p.65-71, 2000.

MARTINS, F.B.; SILVA, J.C.; STRECK, N.A. Estimativa da temperatura base para emissão de folhas e do Filocrono em duas espécies de eucalipto na fase de muda. **Revista Árvore**, v.31, p.373-381, 2007.

MATO, M.C.; RÚA, M.L.; FERRO, E. Changes in levels of peroxidases and phenolics during root formation in *Vitis* cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v.72, p.84-88, 1988.

SOUZA, C.C.; XAVIER, A.; LEITE, F.P.; SANTANA, R.C.; LEITE, H.G. Padrões de miniestacas e sazonalidade na produção de mudas clonais de *Eucalyptus grandis* Hill X *E. urophylla* S. T. Black. **Revista Árvore**, v.37, p.67-77, 2013.

SOUZA, C.A.M.; OLIVEIRA, R.B.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J.S. Desenvolvimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubação. **Ciência Florestal**, v.16, p.243-249, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 2004.

VITTI, G.C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, magnésio e enxofre. In M. S. Fernandes (.), **Nutrição mineral de plantas**. Ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006. p.299-325.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: UFV. 2009.

ZANOL, G.C.; FORTES, G.R.L.; SILVA, J.B.; CAMPOS, Â.D.; CENTELLAS, A.Q.; MULLER, N.T.; GOTTINARI, R.A. Escuro e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* e atividade da peroxidase de porta-enxerto de macieira, cv. marubakaido (*Malus prunifolia*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.3, p.23-30, 1997.

4 CAPÍTULO 3: CONTROLE ALTERNATIVO DE *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* E PRODUTIVIDADE EM FEIJOEIRO TRATADO COM FERT PROTETOR®

RESUMO

Os problemas fitopatológicos acabam comprometendo seriamente a produtividade em diversas culturas. No feijoeiro a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, causadora da doença fogo selvagem, representa um grande desafio para controle. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de Fert Protetor® na severidade relativa do fogo selvagem na cultura do feijoeiro, na produtividade e na indução da síntese da fitoalexina faseolina. Para tanto, utilizou-se como tratamento as concentrações de 0%, 4%, 8%, 16% e 32% de Fert Protetor®, aplicadas nos estádios fenológicos V₃, R₅ e R₇. Os resultados mostram que o uso de Fert Protetor® diminuiu o índice de severidade da doença em até 90%, influenciando positivamente todas variáveis agronômicas e melhorando a produtividade. As dosagens mais baixas de 4% e 8 % não foram eficientes na indução de fitoalexinas nos hipocótilos do feijão, contudo, as dosagens de 16% e 32% apresentaram-se como bons indutores de resistência, sendo superiores ao tratamento padrão com acibenzolar-S-metil, superando-o em 17% e 21%, respectivamente. Conclui-se que aplicação de Fert Protetor® em feijoeiro acometido por *P. syringae* pv. *tabaci* controla a doença fogo selvagem, garantindo maior produtividade e induzindo a síntese da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão.

Palavras-chaves: Bacteriose. Controle alternativo. Indução de resistência. Fogo selvagem.

ABSTRACT

Many plant diseases can reduce the productivity of various crops. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, the bacterial agent of wildfire in bean presents a great challenge to control it. Thus work aimed to evaluate the effect of different doses of Fert Protetor® on the relative severity of wildfire on common bean crop, productivity and induction of phytoalexin phaseolin. We used as treatments the concentrations of 0%, 4%, 8%, 16% and 32% Fert Protetor®, applied at the V₃, R₅ and R₇ phenological stages. The results showed that the use of Fert Protector® decreased the severity index of the disease up to 90% and increased all agronomic variables and productivity. The lower dosages of 4% and 8% were not efficient in the induction of phaseolin phytoalexin in the hypocotyls of the bean, however, the dosages 16% and 32% were

a good inducer of resistance, better than the treatment with acibenzolar-S-methyl, increasing 17% and 21%, respectively. We concluded that the application of Fert Protetor® in common bean affected by *P. syringae* pv. *tabaci* controls the disease wildfire, resulting greater productivity and inducing the phytoalexin phaseolin in bean hypocotyls.

Key words: Alternative control. Induction of resistance. Wildfire.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e consumidor de feijão do mundo, atingindo 3,07 milhões de toneladas na última safra 2016/2017 (CONAB, 2017). O feijoeiro é uma cultura amplamente difundida pelo Brasil, sendo os estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás os maiores produtores. Seu cultivo envolve os mais variados graus de tecnificação, desde cultura de subsistência até as de alta tecnologia (TORRES et al., 2008). As cultivares utilizadas atualmente têm potencial de produção compatíveis com uma agricultura moderna e econômica, porém, seu máximo potencial raramente é alcançado, devido aos altos riscos que envolvem a cultura e que acabam desencorajando investimentos.

Dentre os fatores que reduzem drasticamente o potencial produtivo do feijoeiro estão os fitopatogênicos, ou seja, a ocorrência de fungos, bactérias, vírus e nematoides. As doenças mais relevantes quanto aos danos provocados nesta cultura são geralmente as bacterianas, como o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e o fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) (PAULA Jr; ZAMBOLIM, 2006). A bacteriose causada por *P. syringae* pv. *tabaci*, denominada ‘fogo selvagem’, pode afetar outras culturas, sua ocorrência é sazonal e seu nível de danos é variável afetando a planta em qualquer estágio fenológico, causando manchas necróticas que podem evoluir para o crestamento foliar, acarretando no amarelecimento sistêmico e deformação dos folíolos, podendo ser facilmente confundidos com o crestamento bacteriano comum (WENDLAND et al., 2016).

O cultivo do feijão é amplamente difundido e é realizado em várias épocas do ano, dificultando o controle dessas doenças, uma vez que cultivares resistentes são de difícil obtenção devido a grande variabilidade genética do patógeno e os produtos químicos utilizados no controle possuem baixa eficiência (PAULA Jr et al., 2015). Além da baixa eficiência, o uso de produtos químicos no controle de bacterioses favorece o surgimento de isolados resistentes e compromete a cadeia produtiva e o meio ambiente devido ao seu efeito residual. Devido a

esses fatores, tem-se buscado métodos alternativos para o controle dessa doença (SILVA et al., 2010).

Uma das principais medidas alternativas de controle são os produtos que promovem a indução de resistência em plantas. Tais produtos interagem com mecanismos que ativam o sistema de defesa contra os patógenos, constituído por um aparato de defesa estrutural e bioquímico que garante sua proteção (CAVALCANTI; PEREIRA; RIBEIRO JÚNIOR, 2014). Dessa forma, metabólitos podem ser sintetizados ou modificados no tecido vegetal no início do processo infeccioso (AHUJA; KISSEM; BONES, 2012). Neste contexto, várias moléculas e princípios ativos vem sendo testados e evidenciam a eficiência no controle de doenças em plantas, como é o caso da utilização de fosfitos (DALIO et al., 2012), silício (RODRIGUES; RESENDE, 2010), acibenzolar-S-metil (ASM) (DALLAGNOL et al., 2006) e produtos a base de sulfato de cálcio como o Fert Protetor[®] (ESTEVEZ et al., 2016).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de Fert Protetor[®] na severidade relativa da *P. syringae* pv. *tabaci* na cultura do feijoeiro, na produtividade e na indução da fitoalexina faseolina.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma área comercial, com ciclos rotacionados de cultura, localizado no município de Mandaguari, Paraná. O clima dessa região é do tipo Cfb (verões chuvosos e invernos frios e secos), segundo a classificação de Köppen, com latitude 23°31'S, longitude 51°40'W e altitude média de 750 m. A temperatura média anual é de 18,5 °C, com máxima média de 28,7 °C e mínima média de 9,6 °C. O experimento foi conduzido durante os meses de setembro à novembro de 2014.

A análise de fertilidade e textura do solo foi realizada para a camada de 0-20 cm, onde os valores encontrados para a análise química foram: pH em água 6,32; CTC 8,57 cmol dm⁻³; V% 69,77; MO 17,38 g dm⁻³; Ca⁺² 2,40 cmol dm⁻³; Mg⁺² 0,90 cmol dm⁻³; K⁺ 0,96 cmol dm⁻³; Na⁺ 4,36 mg dm⁻³; P 4,44 mg dm⁻³; Al⁺³ 0,0 cmol dm⁻³; Cu 14,07 mg dm⁻³; Zn 1,46 mg dm⁻³; Mn 21,10 mg dm⁻³; Fe 19,20 mg dm⁻³. Em relação a análise física o resultado classifica o solo como sendo do tipo 3 apresentando 58,30% de argila, 23,36 % de silte e 18,34 % de areia, caracterizado como Latossolo Vermelho Distroférrico.

A adubação utilizada na instalação e condução do experimento foi de 10, 50 e 30 kg ha⁻¹ de N, P, K respectivamente. Adotou-se o sistema de plantio direto, sendo que a cultura antecessora foi milho.

Para a implantação da cultura foram utilizadas sementes de feijão *Phaseolus vulgaris* L. cv. IPR Eldorado, adquiridos no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos, sendo estes as doses de 0%, 4%, 8%, 16% e 32% de Fert Protetor® em relação ao volume de calda aplicada e quatro repetições.

A área total experimental foi de 225 m², sendo cada parcela experimental constituída de cinco linhas espaçadas de 0,45 cm entre fileira, totalizando uma área de 11,25 m². Para as avaliações adotou-se as duas linhas centrais de cada parcela.

As variáveis analisadas foram o índice de severidade da doença (SR), as variáveis agronômicas altura da parte aérea (H), massa seca da parte aérea (MSPA), número de vagens por planta (NVP), massa de mil grãos (MMG) e a produtividade (PROD). A altura foi mensurada em centímetros (cm), a partir da base das plantas até o meristema apical. Para a quantificação da matéria seca, a planta foi acondicionada em sacos de papel e seca em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C, antes da obtenção da massa em balança de precisão. No estágio de maturação fisiológica (R9) foram quantificados nas duas linhas centrais, em 4 m da área útil, de cada parcela, o número de vagem por planta, a massa de mil grãos e a produtividade.

Para análise de severidade foram feitas avaliações quinzenais a partir do estágio V3, momento da primeira aplicação de Fert Protetor® e onde se observou os primeiros sintomas da doença. As avaliações foram realizadas na área útil de cada parcela, pelo método não destrutivo, onde foi avaliado o primeiro par de folhas totalmente expandido, quantificando-se a severidade da *P. syringae* pv. *tabaci* de acordo com escala diagramática proposta por Lima et al. (2013), onde: 1- ausência de sintomas; 2- até 25% de sintomas; 3 - 25% à 50% de sintomas; 4 - 51% à 75% de sintomas; e 5 - maior que 75% de área amarela ou necrótica.

A determinação da indução da fitoalexina faseolina pelas doses de Fert Protetor® foi conduzida no Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon, PR. Sementes de feijão variedade IPR Eldorado foram sanitizadas em álcool 70% por 1 min e em solução de hipoclorito de sódio (3:1) por 2 min, respectivamente, e lavadas em água destilada corrente. Após, foram semeadas em areia autoclavada (120 °C por 60 min) em espaçamento de 1 cm entre plantas e 1 cm entre linhas e mantidas em temperatura ambiente ($\pm$ 25 °C) por sete dias. Passado esse período, os hipocótilos estiolados foram cortados em segmentos de 5 cm, lavados em água destilada para retirada de sujeiras e impurezas e mantidos sobre papel absorvente por 10 min, para retirada do excesso de água. Em placas de Petri contendo papel filtro foram transferidos três segmentos de hipocótilo, de modo que os tratamentos foram aplicados sobre os mesmos na proporção de 0,1%, na dose de 1 mL por

repetição. Depois de mantidos por 48 horas na ausência de luz, os hipocótilos de cada repetição foram transferidos para tubos de ensaio contendo álcool 98% (quantia suficiente para cobrir os hipocótilos) e mantidos a 4 °C por 48 horas para extração da fitoalexina. Posteriormente, o sobrenadante foi lido e a fitoalexina (faseolina) foi mensurada em espectrofotômetro a 280 nm. Após, os hipocótilos foram lavados em água destilada, secos e pesados em balança analítica. Os valores de faseolina foram expressos pela absorbância dividida pela massa fresca.

Para análise estatística, os dados foram submetidos a análise de variância e as variáveis quantitativas analisadas por regressão, com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de doses de Fert Protetor[®] em feijoeiro acometido por *P. syringae* pv. *tabaci* foi efetiva ($p < 0,05$) na redução do percentual de folhas danificadas (Figura 1a) e, consequentemente, na severidade relativa da doença (Figura 1b). Os tratamentos com Fert Protetor[®], independente da dosagem, reduziram os sintomas da doença e a severidade relativa em até 90% em relação à testemunha ($p < 0,05$), não diferindo entre si. No entanto, no momento da primeira aplicação do produto na fase V₃, o grau de acometimento das folhas era de aproximadamente 23%. Dessa forma, ao final do ciclo, a intensidade de doença evoluiu consideravelmente no tratamento controle, tomando cerca de 70% das folhas e aumentando o grau de severidade em mais de 100%. As plantas tratadas evoluíram para valores de severidade e acometimento das folhas próximos de 0 (Figura 1 a, b).

Estes resultados corroboram com os obtidos por Biason, Maringoni e Grassi Filho (2000), que ao trabalharem com o efeito do cálcio e do nitrogênio na cultivar do feijoeiro IAC-carioca para controle do crestamento bacteriano comum, relatam não ocorrer avanço na severidade da doença quando se utilizou cálcio. Assim como Viecelli e Moerschbacher (2013) que verificaram redução maior que 50% do crestamento bacteriano em feijoeiro com a utilização de cálcio. Garcia Junior et al. (2003) também conseguiram reduzir a severidade de *Cercospora coffeicola* em cafeeiro utilizando doses de cálcio.

Embora os trabalhos supracitados não se refiram especificamente ao patógeno do presente estudo, cabe ressaltar que o cálcio, principal componente do Fert Protetor[®], tem papel fundamental na integridade estrutural e funcional das membranas e da parede celular, aumentando a resistência da parede e dificultando o ataque de patógenos (MALAVOLTA,

2006; TAIZ; ZEIGER, 2006), o que pode ter influenciado nos resultados de ambos os trabalhos independente do patógeno.

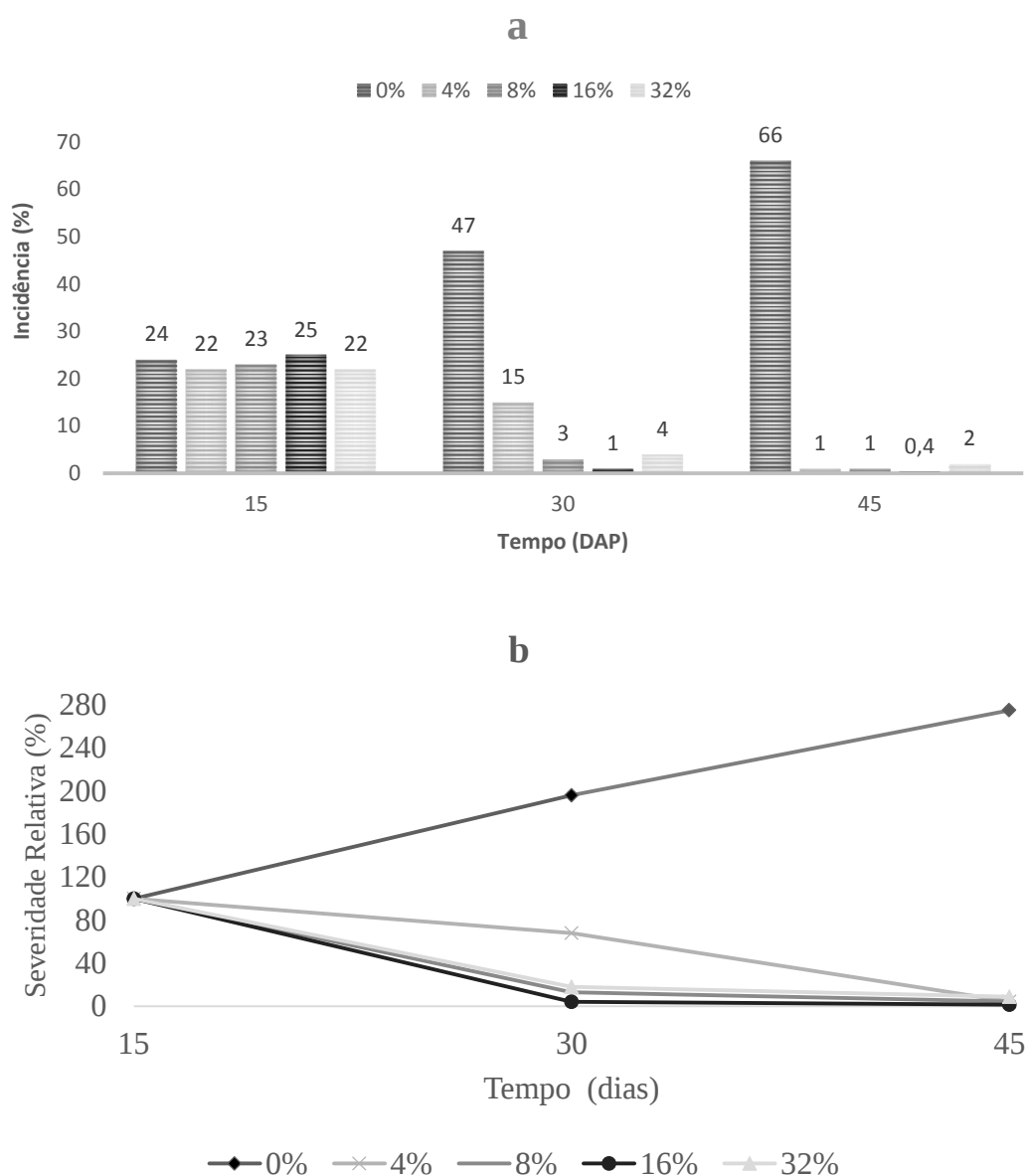


Figura 1. Percentual de folhas de feijão *P. vulgaris* L. cv. IPR Eldorado danificadas pela *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (a) e severidade relativa da doença, em função de doses de Fert Protetor® (b).

A utilização de doses de Fert Protetor® influenciou significativamente na altura das plantas (Figura 2 a) e na massa seca da parte aérea (Figura 2 b). O comportamento da altura do IPR Eldorado em função das doses utilizadas, encontra-se exemplificado na Figura 2a, por meio de uma regressão quadrática. O modelo matemático evidencia o aumento na altura de plantas em relação a testemunha, resultando em um incremento de até 23%. Não houve diferença significativa entre as doses utilizadas (Figura 2a).

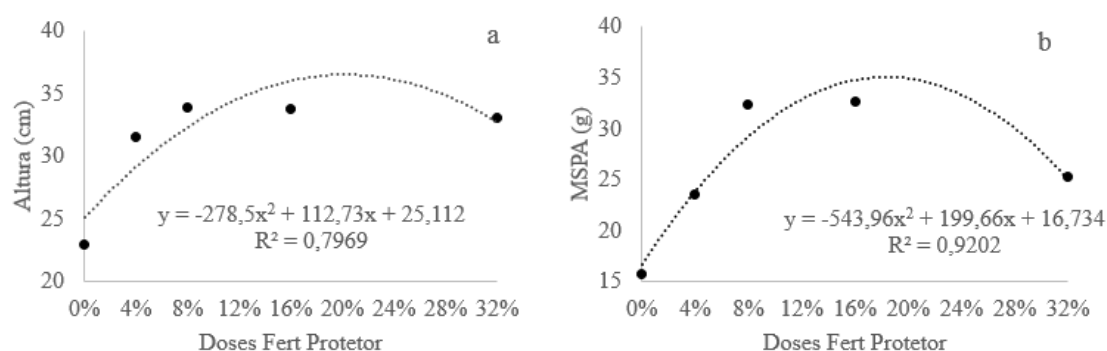


Figura 2. Altura de plantas (H) (a) e a massa seca da parte aérea (MSPA) (b) de feijão *P. vulgaris* L. cv. IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

A regressão quadrática representada pela equação $y = -543,96x^2 + 199,66x + 16,734$ de 92% de razão representada graficamente na figura 2 b, exemplifica o comportamento da massa seca da parte aérea (MSPA) em relação aos tratamentos utilizados. Todos os tratamentos com Fert Protetor® superaram a testemunha ($p < 0,05$), porém os tratamentos 8% e 16% tiveram os melhores resultados superando a testemunha em 51%, não diferindo entre si. Derivando a equação, observa-se que a maior expressão em potencial da parte aérea da planta seria obtida com a dose de 19% de Fert Protetor®. (Figura 2 b).

As variáveis número de vagens (Figura 3a), massa de mil grãos (Figura 3b) e produtividade (Figura 3c) do feijoeiro foram influenciadas significativamente pela aplicação das diferentes doses de Fert Protetor®. Houve incremento no número de vagens em relação a testemunha ($p < 0,05$), proporcionando um incremento de até 61% para os tratamentos mais efetivos (8% e 16%). De acordo com a análise de regressão, cujo modelo quadrático obteve melhor ajuste, e de acordo com a equação, a melhor dose resposta calculada de Fert Protetor® é 19% (Figura 3a).

A massa de mil grãos (Figura 3 b) e a produtividade (Figura 3 c) do feijoeiro não diferenciou entre as dosagens de Fert Protetor® ($p > 0,05$), cujos tratamentos 4%, 8%, 16% e 32% foram em média 21,5% superiores a testemunha. O modelo de regressão que melhor representou os dados foi o quadrático, sendo a melhor dose resposta representada por 18% de Fert Protetor® (Figura 3 b).

O incremento em produtividade em resposta à aplicação de Fert Protetor® foi de até 444% superior a testemunha. O modelo de regressão quadrática ($y = -58744x^2 + 21812x + 743,66$) melhor se ajustou expressando os resultados em função das doses utilizadas, com $R^2 = 0,96$ (Figura 3 c).

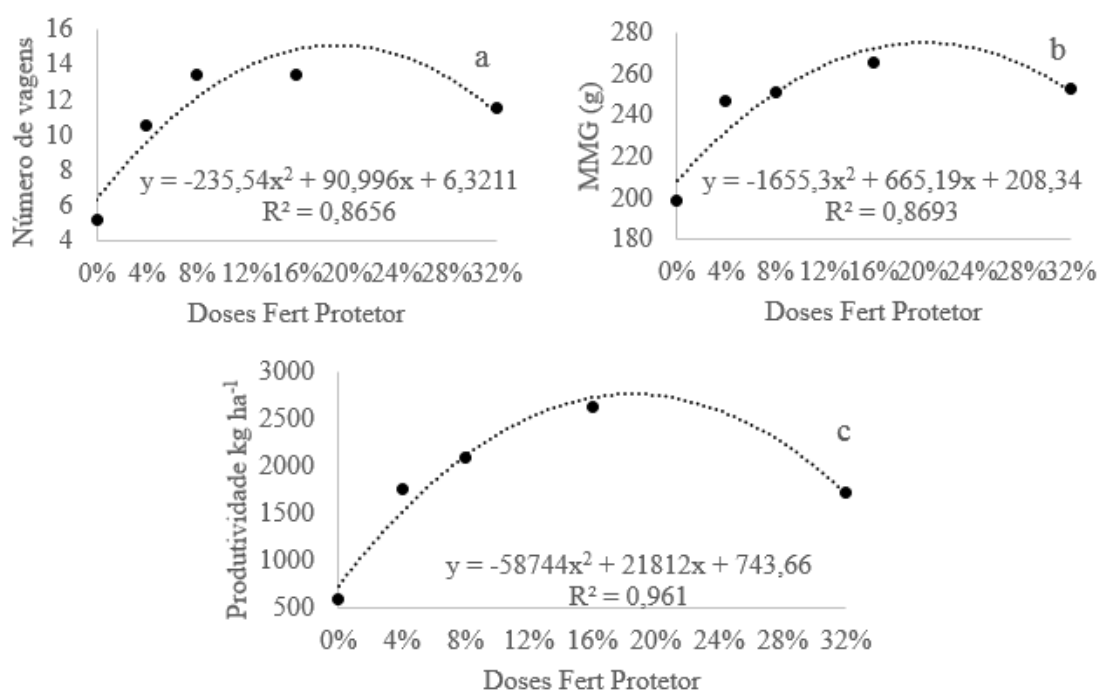


Figura 3. Número de vagens por planta (NVP) (a), massa de mil grãos (MMG) (b) e produtividade (c) do feijão IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor®. *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

Em se tratando de dados produtivos, o controle do fogo selvagem no feijoeiro com Fert Protetor® proporcionou uma produtividade média de 2.637 kg ha⁻¹, valor que supera em quatro vezes a produtividade média da testemunha que foi de apenas 594 kg ha⁻¹. A não aplicação do produto comprometeu a produtividade em mais 50% quando comparada com a média nacional que é de 1.078 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). Convertendo este incremento na produtividade em valores monetários, a utilização deste produto certamente minimizaria drasticamente os prejuízos causados pela doença.

Os resultados obtidos no presente estudo, para as variáveis agrônômicas e de produtividade corroboram com os relatos de Hoffmann et al. (2012), que obtiveram melhores resultados produtivos com o tratamento que proporcionou maior diminuição do índice de severidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* na cultura do feijão. Porém, Kuhn (2007) obteve bons resultados na redução do índice de severidade da doença com *Bacillus cereus* como indutor biótico no controle de *Xanthomonas* na cultura do feijão, não observando mudanças nas variáveis agrônômicas nem na produtividade, o que difere do relatado no presente estudo que obteve melhora em todas as variáveis.

Para a indução da fitoalexina faseolina nos hipocótilos de feijão tratados com o Fert Protetor®, houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$), sendo que as dosagens

de 4% e 8% não apresentaram potencial de indução, com valores 48% e 45%, respectivamente, inferiores a absorvência do tratamento controle (H₂O). Os tratamentos contendo as dosagens de 16% e 32%, no entanto, comportaram-se de forma eficiente superando o tratamento controle em 515% e 540%, respectivamente. Estes dois tratamentos foram superiores ao controle positivo acibenzolar-S-metil (ASM), que é utilizado em diversas culturas e considerado um excelente indutor de resistência. Para as absorvências observadas referentes as concentrações de faseolina induzidas pelas doses de Fert Protetor[®] em hipocótilos de feijão, o modelo que melhor se ajustou foi o de terceiro grau ($R^2 = 0,98$), expresso na Figura 4.

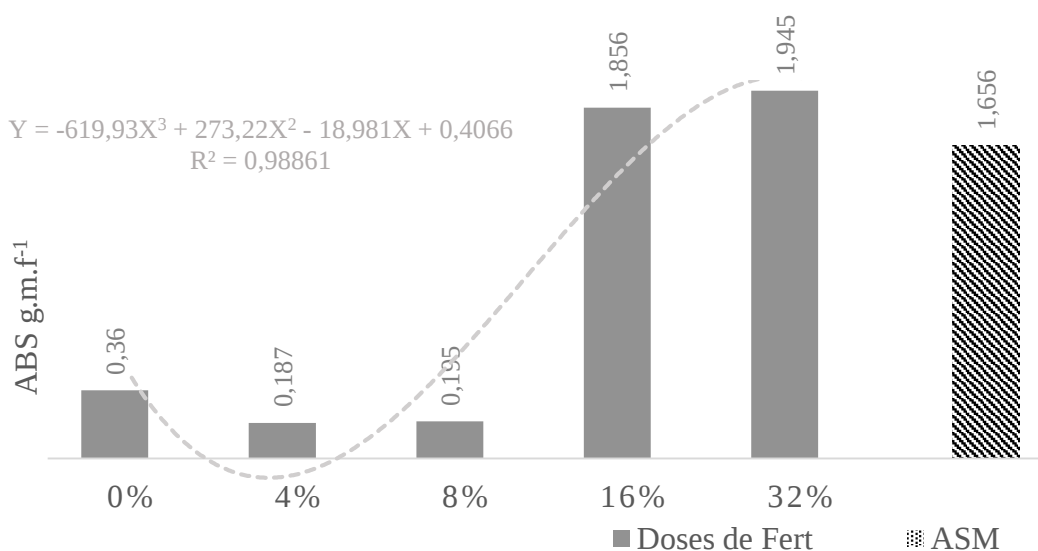


Figura 4. Indução de fitoalexina faseolina (absorvência a 280 nm por grama de massa fresca) em hipocótilos de feijão IPR Eldorado em função de doses de Fert Protetor[®] e do acibenzolar-S-metil (ASM). *Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

Essa ineficiência em induzir a fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão nas menores doses (4% e 8%), pode ser justificada pela ausência de princípios ativos do produto suficientes para ativação dos mecanismos que a regulam. Sabendo-se disso, de acordo com os resultados infere-se que são necessárias doses maiores que 16% para a ativação significativa da faseolina, observando-se neste caso, a sua máxima expressão com a dose de 22% (Figura 4).

Os resultados favoráveis ao controle do fogo selvagem no feijoeiro podem estar relacionadas à ativação da faseolina na planta. Assim como foi possível verificar a sua ativação em hipocótilos de feijão, este mecanismo certamente atuou durante o ciclo da cultura com as aplicações do produto. Embora provavelmente as fitoalexinas não tenham agido sozinhas no controle da doença e no bom desenvolvimento da cultura, estas substâncias são um importante mecanismo de defesa da planta. As fitoalexinas possuem comprovada atividade inibitória sobre fungos e bactérias. Sua produção é ativada na planta por moléculas eliciadoras que podem ser

fatores bióticos, como a infecção de um patógeno, ou fatores abióticos, como o uso de um produto natural ou sintético (BRAGA, 2008), como o é o caso do Fert Protetor[®]. A fitoalexina faz parte de uma das diversas estratégias de defesa da planta, se o Fert Protetor[®] foi capaz de ativar a produção desta substância de defesa vegetal, poderia também ser capaz de interagir com outros mecanismos de defesa.

A indução de fitoalexina pode estar relacionada ao seu principal princípio ativo que é o Ca (sulfato de cálcio). Esta teoria é respaldada pela afirmação de Taiz e Zeiger (2006), pela qual o cálcio pode atuar como ativador de enzimas e hormônios que controlam o desenvolvimento da planta e inibem o desenvolvimento e a infecção por patógenos, por meio do transporte de auxinas entre tecidos jovens (TAIZ; ZEIGER 2006), ativação da peroxidase (HAISSIG, 1986), e indução de fitoalexinas (STAB; EBEL, 1987). A aplicação e o contato do Fert Protetor[®] com a folha pode vir a ativar mecanismos de reconhecimento e desencadear reações de defesa. Ainda, em se tratando de um produto a base de sulfato cálcio, a sua absorção pela folha pode favorecer a ativação de enzimas que mantenham relação próxima com o metabolismo do cálcio na planta, como as peroxidases (HAISSIG, 1986) e as fitoalexinas (STAB; EBEL 1987).

Corroborando com o presente estudo outros autores também relataram a indução de faseolina por agentes químicos. O acúmulo de fitoalexinas também foi relatada por Solino et al. (2017) por meio de indução com diluições de filtrados de fungos sapróbios (*C. erogrostis*, *C. inaequalis*, *P. terrestris* e *M. echinata*) em soja, feijão e sorgo. A indução da faseolina em hipocótilos de feijão foi obtida por Baldin et al. (2014), pela utilização de doses crescentes de extrato etanólico de própolis, obtendo resposta linear crescente na indução. Os fosfitos também têm a propriedade de estimular a formação de substâncias naturais de defesa da planta, como as fitoalexinas. De acordo com Nemestothy e Guest (1990), após tratamento com fosfito, as células infectadas são submetidas a mudanças rápidas, que incluem morte celular por resposta de hipersensibilidade, ativação de rotas biossintéticas relacionadas à defesa, que podem acumular níveis elevados de fitoalexinas, e depósito de barreiras físicas ao redor das células infectadas.

CONCLUSÃO

A aplicação de Fert Protetor[®] em feijoeiro *P. vulgaris* L. cv. IPR Eldorado infectado por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* foi eficiente na proteção e controle da doença fogo selvagem, garantindo maior produtividade, e também induzindo a síntese da fitoalexina faseolina.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A.M. Phytoalexins in defense against pathogens. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v.17, n.2, p.73-90, 2012.
- BALDIN, E.L.; LOURENÇÃO, A.L.; SCHLICK-SOUZA, E.C. Outbreaks of *Chrysodeixis includes* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in common bean and castor bean in São Paulo State, Brazil. **Bragantia**, Campinas, SP, v.73, n.4, 2014.
- BIAZON, V.L.; MARINGONI, A.C.; GRASSI FILHO, H. Influência de cálcio e de nitrogênio nas quantidades de macronutrientes foliares e na suscetibilidade do feijoeiro Iapar 14 ao cretamento bacteriano comum. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.3, p.320-323, 2004.
- BRAGA, M.R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno** – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.305-346.
- CAVALCANTI, F.R.; PEREIRA, V.F.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M. Aspectos da indução de resistência em plantas de videira. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2014. 20p. (Documentos, 88)
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. (2017) **Acompanhamento safra brasileira de grãos, v. 4 Safra 2016/17** - Décimo levantamento, Brasília, p. 1-171, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 07 dez. 2017.
- DALIO, R.J.D et al. O triplo modo de ação dos fosfitos em planta. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.20, p. 206-243, 2012.
- DALLAGNOL, L.J et al. Use of Acibenzolar-S-Methyl to control foliar diseases of soybean. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.32, n.3, p. 255-259, 2006.
- ESTEVEZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; MEINERZ, C.C.; KUHN, O.J. Dosagens de Fertp para controle da mancha aureolada em cafeeiro. In: XXXIX Congresso Paulista de Fitopatologia, 2016, Piracicaba, **Anais... XXXIX Congresso Paulista de Fitopatologia**, 2016.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.38, n.2, p.109-112, 2014.
- GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA E.A.; POZZA A.A.A; SOUZA, P.E.; CARVALHO J.C.; BALIEIRO, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.3, p.286-290, 2003.
- HAISSIG, B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. In: JACKSON, M.B. (Ed). **New root formation in plants and cuttings**. The Netherlands: Dordrecht. 1986, p.141-189.
- HOFFMANN, M.R.B.; KUHN, O.J.; STANGARLIN, J.R.; BATTISTUS, A.G.; MAINERZ, C.C. Controle do cretamento bacteriano comum por *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e óleo essencial de laranja em feijoeiro suscetível e moderadamente resistente. **Cultivando Saber**, v.5, n.4, p.8-23, 2012.

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. 140 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

LIMA, H.E.; NECHET, K.L.; VIEIRA, B.A.H.; OLIVEIRA, J.R.; DUARTE, H.S.; QUEIROZ, E.S.; OLIVEIRA, F.L. Elaboração e validação de escalas diagramáticas para validação da severidade da mancha-bacteriana do feijão – caupi em cultivares com trifólios morfológicamente distintos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.10, p-1735-1743, 2013.

MALAVOLTA, E. Manual de Nutrição Mineral de Plantas. Piracicaba: **Editora Ceres**, 2006, p.223-360.

NEMESTOTHY, G.S.; GUEST, D.I. Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in foseetil-al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianar. nicotianae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.37, p.207-219,1990.

PAULA Jr, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; LOBO Jr, M.; WENDLAND, A. Doenças do feijoeiro: Estratégias integradas de controle In: CARNEIRO, J.E.S.; PAULA Jr, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio a colheita**. Viçosa, 2015. p.270-299.

PAULA Jr., T.J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas** RODRIGUES, A.F.; RESENDE, R.S. Silício na potencialização da resistência de plantas a patógenos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 5., 2010. Lavras. **Anais...** Lavras: ufla, 2010. p. 171-180.

SILVA, M.B. et al. Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas. IN VEZON, M., PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa: **EPAMIG**, cap.3, p.33-54, 2010.

SOLINO, A.J.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; OLIVEIRA, J.S.B.; RIBEIRO, L.M.; SAAB, M.F. Accumulation of phytoalexins in beans soybeans and sorghum by fungal filtrates. **Revista Caatinga**, v.30, n.4, p.1073-1078, 2017.

STAB, M.R.; EBEL, J. Effects of Ca^{+2} on phytoalexin response in protoplasts of bean leaves. **Phytochemical Analysis**, v.4, p. 82-85, 1987.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4ª ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006, 794p.

TORRES, J.L.R.; PEREIRA, M.G.; FABIAN, A.J. Produção de fitomassa por plantas de cobertura e mineralização de seus resíduos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.3, p.421-428, 2008.

VIECELLI, C.A.; MOERSCHBÄCHER, T. Controle do crescimento bacteriano comum na cultura do feijoeiro pelo uso de fertilizantes foliares. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.12, n.1, p.66-72, 2013.

WENDLAND, A., MOREIRA, A.S., BIANCHINI, A., GIAMPAN, J.S.; LOBO JÚNIOR, M. Doenças do feijoeiro. In AMORIM, L., RESENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, p.383-396, 2016.