

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

RAFAEL DAL BOSCO DUCATTI

**CONDUÇÃO DE ESTUDOS DE ELICIAÇÃO VEGETAL: COMO
ESTIMAR O REAL PODER ELICIADOR DE UMA MOLÉCULA?**

TESE

PATO BRANCO

2024

RAFAEL DAL BOSCO DUCATTI

**CONDUÇÃO DE ESTUDOS DE ELICIAÇÃO VEGETAL: COMO
ESTIMAR O REAL PODER ELICIADOR DE UMA MOLÉCULA?**

**Plant elicitation studies: How to properly estimate the real eliciting
potential of a molecule?**

Tese apresentada como requisito à obtenção do
título de Doutor em Agronomia - Área de
Concentração: Produção Vegetal da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

Co-Orientador: Dr. João Américo Wordell Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Siumar Pedro Tironi

PATO BRANCO

2024



Esta licença permite o download e o compartilhamento da obra desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-la ou utilizá-la para fins comerciais.

FOLHA DE APROVAÇÃO

17/04/24, 14:20



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Pato Branco



RAFAEL DAL BOSCO DUCATTI

CONDUÇÃO DE ESTUDOS DE ELICIAÇÃO VEGETAL: COMO ESTIMAR O REAL PODER ELICIADOR DE UMA MOLÉCULA?

Trabalho de pesquisa de doutorado apresentado como requisito para obtenção do título de Doutor Em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Produção Vegetal.

Data de aprovação: 15 de Abril de 2024

Sergio Miguel Mazaro, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Cristiano Nunes Nesi, Doutorado - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri)

Dr. Douglas Junior Bertoneceli, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Utfpr)

Dr. Marco Aurelio Tramontin Da Silva, Doutorado - Universidade Federal da Fronteira Sul (Uffs)

Dr. Samuel Mariano Gislon Da Silva, Doutorado - Universidade Federal da Fronteira Sul (Uffs)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 16/04/2024.

Dedico esse trabalho a todos aqueles que tornaram possível a realização do mesmo. Especialmente a minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a instituição de ensino Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Câmpus Pato Branco, em especial ao orientador Dr. Sérgio Miguel Mazaro pelos ensinamentos e por ser uma pessoa que luta pelo desenvolvimento de um país mais próspero. Também gostaria de agradecer as instituições de ensino e pesquisa Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – Câmpus Chapecó e a Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) – Unidade Chapecó, em especial aos co-orientadores desse trabalho Dr. Siumar Pedro Tironi e Dr. João Américo Wordell Filho por toda ajuda e ensinamentos repassados durante a condução dos trabalhos. Agradeço também a empresa Grupo Olmix e Solo Sagrado por permitirem a realização desse trabalho.

RESUMO

DAL BOSCO DUCATTI, Rafael. Condução de estudos de eliciação vegetal: como estimar o real poder eliciador de uma molécula? 135 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2024.

A cultura do trigo sofre constantemente com o ataque de doenças que além de reduzirem os rendimentos quantitativos da cultura, também afetam a qualidade final de grãos e sementes. Como exemplo, pode-se citar a doença denominada Giberela. Causada pelo fungo fitopatogênico *Fusarium graminearum* (fase sexual: *Gibberella zeae*), essa doença traz reduções de produtividade entre 18,6% a 39,9% em lavouras Brasileiras e pode causar perdas de qualidade de até 100% devido a síntese e acúmulo do tricoteceno desoxinivalenol (DON) por *F. graminearum*. Para agravar a situação, acredita-se que a síntese dessas micotoxinas ocorra como um mecanismo de defesa do *Fusarium* contra agentes estressores bióticos e/ou abióticos, incluindo a utilização de fungicidas ineficientes e em períodos indevidos. Na busca por uma agricultura mais sustentável e na procura por produtos complementares que ajudem a aumentar a eficiência de pesticidas é que se enquadram os bioestimulantes, a exemplo das algas marinhas. A carragena, polissacarídeo polianiónico sulfatado exclusivo de algas vermelhas (Rhodophyta) demonstra-se como um excelente eliciador vegetal devido ao fato de possuir diferentes graus de sulfatação, conferindo ao produto um efeito de longa duração no processo de eliciação vegetal. Entretanto, testar eliciadores vegetais não é um processo trivial. Esses experimentos demandam um bom planejamento e um conhecimento profundo sobre a fisiologia vegetal. Sabe-se que 20% de todo CO₂ consumido diariamente pelas plantas retorna à atmosfera na forma de Compostos Orgânicos Voláteis (VOCs), os quais tem uma grande capacidade de eliciação de plantas/parcelas/tratamentos vizinhos. Devido a isso, testar possíveis moléculas/estímulos eliciadores sem a utilização de barreiras físicas que possam isolar os diferentes tratamentos, pode trazer grandes ruídos aos resultados obtidos e levar a conclusões errôneas e tendenciosas. Diante desse fato, o presente trabalho buscou 1) avaliar os efeitos eliciadores de um bioestimulante a base de carragena (Algomel PUSH®) a fim de aumentar os ganhos quantitativos e qualitativos de plantas de trigo, 2) avaliar o efeito de duração da eliciação vegetal realizada com a utilização de carragena, 3) quantificar a interferência existente em testes de eliciação vegetal conduzidos na forma de delineamento em blocos casualizados (DBC) vs. Delineamento inteiramente casualizado (DIC), com modificações e 4) propor uma metodologia a ser seguida para estudos de eliciação vegetal. O uso de carragena apresentou um efeito de longa duração em plantas de trigo. O fungicida utilizado no trabalho atuou de forma negativa sob os metabolismos primário e especializado das plantas de trigo. A eliciação em campo aberto, sem a utilização de barreiras físicas para isolar os diferentes tratamentos, causou uma interferência média de 22% nas plantas que não receberam os eliciadores.

Palavras-chave: Carragena. Compostos orgânicos voláteis (VOCs). Desoxinivalenol. *Fusarium graminearum*. Interferência elicitória.

ABSTRACT

DAL BOSCO DUCATTI, Rafael. Plant elicitation studies: How to properly estimate the real eliciting potential of a molecule? 135 p. Thesis (Ph.D. in Agronomy) – Program of Graduation in Agronomy (Area of Concentration: Plant Protection), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2024.

Wheat constantly suffers from the attack of diseases that, in addition to reducing the crop's quantitative yields, also affect kernels' final quality. An example is the disease called Gibberella. Caused by the phytopathogenic fungus *Fusarium graminearum* (sexual phase: *Gibberella zeae*), this disease causes yield reductions of between 18.6% and 39.9% in Brazilian fields and can cause quality losses of up to 100% due to the synthesis and accumulation of the trichothecene deoxynivalenol (DON) by *F. graminearum*. To worsen this scenario, it is believed that the synthesis of these mycotoxins occurs as a defense mechanism of *Fusarium* against biotic and/or abiotic stressor agents, including the use of inefficient fungicides. In the search for a more sustainable agriculture and to find complementary products that help to increase the efficiency of agricultural defensives, biostimulants based on seaweed, fit in. Carrageenan, a sulfated polyanionic polysaccharide exclusive to red algae (Rhodophyta) proves to be an excellent plant elicitor as it has different degrees of sulphation, giving the product a long-lasting effect on the plant elicitation process. However, testing plant elicitors is not a trivial process. These experiments demand good planning and in-depth knowledge of plant physiology. It is known that 20% of all CO₂ consumed daily by plants returns to the atmosphere in the form of Volatile Organic Compounds (VOCs), which can strongly elicit plants/treatments. Because of this, testing possible eliciting molecules/stimuli without the use of physical barriers that can isolate the different treatments can bring great interferences to the results obtained and lead to misleading and biased conclusions. Given this fact, the present work sought to 1) evaluate the eliciting effects of a carrageenan-based biostimulant (Algomel PUSH®) to increase the quantitative and qualitative gains of wheat plants, 2) evaluate the effect of duration of plant elicitation carried out with the use of carrageenan, 3) quantify the existing interference in plant elicitation tests conducted in the form of a Randomized complete block design (RCBD) vs. Completely randomized design (CRD), with modifications and, 4) propose a methodology to be used for plant elicitation studies. The use of carrageenan showed a long-lasting effect on wheat plants. The fungicide used in the work negatively affected the primary and specialized metabolism of wheat plants. Elicitation in the open field, without the use of physical barriers to isolate the different treatments, caused an average interference of 22% in the plants that did not receive the elicitors.

Keywords: Carrageenan. Deoxynivalenol. Eliciting interference. *Fusarium graminearum*. Volatile organic compounds (VOCs).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas da área experimental utilizada para a condução dos experimentos. EPAGRI, Chapecó, SC, 2021.	33
Tabela 2 – Condições meteorológicas mensais da área utilizada para a condução dos experimentos. EPAGRI, Chapecó, SC, 2021.	34
Tabela 3 – Descrição dos tratamentos, doses e épocas de aplicação para a condução dos experimentos na safra 2021. EPAGRI, Chapecó, SC.	35
Tabela 4. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do IRGA (Infrared Gas Analyzer). Chapecó – SC, 2021.	42
Tabela 5. Resultado da análise de variância para o índice SPAD. Chapecó – SC, 2021.	45
Tabela 6. Resultado da análise de variância para a altura de plantas. Chapecó – SC, 2021.	46
Tabela 7. Resultado da análise estatística para a severidade de oídio e giberela. Chapecó – SC, 2021.	48
Tabela 8. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para oídio aos 8, 22, 36 e 50 dias após a primeira aplicação dos eliciadores (DA1A) e aos 8 dias após segunda aplicação dos eliciadores (DA2A). Chapecó – SC, 2021.	51
Tabela 9. Resultado da análise de variância para os parâmetros bioquímicos analisados. Chapecó – SC, 2021.	52
Tabela 10. Resultado da análise de variância para a incidência de <i>Fusarium</i> e a presença de Desoxinivalenol (DON) nas sementes/grãos de trigo. Chapecó – SC, 2021.	54
Tabela 11. Resultado da análise de variância para a produtividade, peso de mil sementes (PMS) e peso hectolitro (PH). Chapecó – SC, 2021.	58
Tabela 12 – Correlações e análises de bi- e multivariância (MANOVA) em relação ao parâmetro produtividade. Chapecó, SC, 2021.	60
Tabela 13. Resultado da análise de variância para a germinação, sementes não germinadas (SNG), Plântulas normais e Plântulas anormais. Chapecó – SC, 2021.	61
Tabela 14. Resultado da análise de variância para o comprimento radicular, comprimento aéreo e comprimento total de plântulas de trigo. Chapecó – SC, 2021.	63
Tabela 15 – Correlação entre “comprimento de raiz”, “comprimento da parte aérea” e “comprimento total” vs. “ <i>Fusarium</i> na semente”, e análise de multivariância entre a incidência de “ <i>Fusarium</i> na semente” vs. “comprimento de raiz”, “comprimento da parte aérea” e “comprimento total” em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2021.	65
Tabela 16 – Características físico-químicas do solo utilizado para o preenchimento dos vasos para a condução dos experimentos. Chapecó – SC, 2022.	74
Tabela 17 – Descrição dos tratamentos, doses e épocas de aplicação para a condução dos experimentos. Chapecó – SC, 2022.	76
Tabela 18. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do IRGA (Infrared Gas Analyzer). Chapecó – SC, 2022.	82
Tabela 19. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do Fluorômetro (Infrared Gas Analyzer). Chapecó – SC, 2022.	84
Tabela 20. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através do Clorofilômetro (Índice SPAD). Chapecó – SC, 2022.	88
Tabela 21. Resultado da análise de variância para os parâmetros morfológicos número de perfilhos e área foliar. Chapecó – SC, 2022.	89

Tabela 22. Resultado da análise de variância para os parâmetros bioquímicos analisados. Chapecó – SC, 2022.	91
Tabela 23. Resultado da análise não paramétrica Kruskal-Wallis para a severidade de oídio (parâmetro fitossanitário). Chapecó – SC, 2022.	96
Tabela 24. Severidade de Oídio (%) ao 49º dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	97
Tabela 25. Resultado da análise de variância para a “Massa seca com dano” e “Massa seca sem dano” (estresse calórico). Chapecó – SC, 2022.	98
Tabela 26. Diferenças médias observadas (%) em relação ao controle negativo para as variáveis Catalase (CAT), Fenilalanina amônia liase (FAL), Superóxido dismutase (SOD), Ácido salicílico (AS), Carbono interno (Ci), Transpiração (E), Condutância estomática (Gs), Fotossíntese (A), Uso eficiente da água (WUE), Eficiência interna de carboxilação (EiC), Severidade de oídio, e Índice SPAD para os experimentos realizados em 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com adaptações). Chapecó – SC, 2022.	111
Tabela 27. Alguns trabalhos demonstrando a interferência que diferentes estímulos podem trazer às plantas vizinhas, afetando os resultados obtidos.	112
Tabela 28. Comparação entre as diferenças de médias para as variáveis Catalase (CAT), Fenilalanina amônia liase (FAL), Superóxido dismutase (SOD), Ácido salicílico (AS), Carbono interno (Ci), Transpiração (E), Condutância estomática (Gs), Fotossíntese (A), Uso eficiente da água (WUE), Eficiência interna de carboxilação (EiC), Severidade de oídio, e Índice SPAD analisadas em 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com modificações).	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo evolutivo dos eucariontes.	9
Figura 2 – MAMPs, PAMPs, DAMPs e seus mecanismos de ação associados também a formação de PTIs, ETSS e ETIs.	19
Figura 3 – Disposição das parcelas na área experimental. EPAGRI, Chapecó – SC, 2021.	34
Figura 4 – Curva de calibração para quantificação de Ácido Salicílico em plantas de trigo. Chapecó, SC, 2021.	39
Figura 5 – Diferenças estatísticas entre os blocos para as variáveis “Transpiração” e “Uso eficiente da água”, e entre os tratamentos para a variável “Taxa fotossintética líquida”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	44
Figura 6 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Índice SPAD”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	46
Figura 7 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Altura de Plantas”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	47
Figura 8 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Índice SPAD” e “Altura de plantas”. Chapecó, SC, 2021. R ² : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. 320 observações.	48
Figura 9 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Severidade de Oídio”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	49
Figura 10 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Oídio” e “Altura de plantas”. Chapecó, SC, 2021. R ² : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. 320 observações.	50
Figura 11 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Oídio” e “Índice SPAD”. Chapecó, SC, 2021. R ² : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. 320 observações.	50
Figura 12 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Atividade da FAL” e “Ácido Salicílico”. Chapecó, SC, 2021. R ² : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. 120 observações.	53
Figura 13 – Diferenças estatísticas entre os blocos para a variável “Incidência de <i>Fusarium</i> nas sementes/grãos”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	55
Figura 14 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Giberela” vs. “ <i>F. graminearum</i> na semente” (a), “Severidade de Giberela” vs. “DON na semente” (b) e “DON na semente” vs. “ <i>F. graminearum</i> na semente” (c). Chapecó, SC, 2021. R ² : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. 32 observações.	56
Figura 15 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Produtividade” (a) e “Peso de Mil Sementes (PMS)” (b). Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	59
Figura 16 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Comprimento aéreo” (a), “Comprimento radicular” (b) e “Comprimento total” (c). Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	64
Figura 17 – Disposição das miniestufas (a), tratamentos (a) e vasos (b) dentro do Fitotron. Chapecó –	

SC, 2022.	75
Figura 18 – Curva de calibração para quantificação de Ácido Salicílico em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2022.	79
Figura 19 – Curva de calibração para quantificação de proteína em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2022.	80
Figura 20 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Transpiração – E” (a), “Condutância estomática – Gs” (b), “Taxa fotossintética líquida – A” (c), “Carbono interno – Ci” (d) e Eficiência Instantânea de Carboxilação – EiC” (e). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	83
Figura 21 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis Rendimento quântico máximo do PSII (ϕ_{Po}) (a), Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b (ψ_o) (b), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b (ϕ_{Eo}) (c), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI (ϕ_{Ro}) (d), Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b (PI_{ABS}) (e), Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo) (ABS/RC) (f), Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC) (TR_o/RC) (g) e Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC) (Di_o/RC) (h). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	85
Figura 22 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para a variável Índice SPAD (a) e Correlação de Pearson entre as variáveis “Índice SPAD vs. Taxa fotossintética líquida” (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão. R^2 : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. Figura b: 320 observações.	88
Figura 23 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis Número de perfilhos (a) e Área foliar (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	89
Figura 24 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as Catalase (CAT) (a), Superóxido dismutase (SOD) (b), Ascorbato peroxidase (APX) (c), Fenilalanina amônia liase (FAL) (d), Ácido salicílico (AS) (e), e Proteína (f). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	92
Figura 25 – Correlações de Person para as variáveis “Atividade da FAL” e “Concentração de AS” em plantas de trigo. Correlação entre todos os tratamento (a), Correlação desconsiderando o controle negativo (b), Correlação apenas para o controle negativo (c), Correlação apenas para o tratamento “Fungicida (3x)” (d), Correlação apenas para o tratamento “Carragena (1x)” (e), Correlação apenas para o tratamento “Carragena (1x) + fung. (3x)” (f). Chapecó, SC, 2022. R^2 : coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. Figura a: 165 observações, Figura b: 123 observações, Figura c: 42 observações, Figura d: 41 observações, Figura e: 41 observações, Figura f: 41 observações.	95
Figura 26 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Massa seca sem dano” (a) e “Massa seca com dano” (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.	98
Figura 27 – O que fazer e o que evitar ao conduzir testes de eliciação vegetal.	115

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A	Fotossíntese
a.C.	Antes de Cristo
ADON	Acetil-Desoxinivalenol
ANOVA	Análise de variância
APX	Ascorbato peroxidase
AS	Ácido salicílico
BDA	Batata Dextrose Agar
CAT	Catalase
Ci	Carbono interno
COVs	Compostos orgânicos voláteis
DA1A	Dias após primeira aplicação
DAMP	Padrão Molecular Associado a Perigo
d.C.	Depois de Cristo
DON	Desoxinivalenol
DTT	Dithiothreitol
E	Transpiração
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EiC	Eficiência interna de carboxilação
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EROs	Espécies reativas ao oxigênio
ETI	<i>Effector Triggered Immunity</i>
ETS	<i>Effector Triggered Susceptibility</i>
FAL	Fenilalanina amônio liase
FHB	<i>Fusarium Head Blight</i>
FUMO	Fumonisina
Gs	Consutância estomática
HA1A	Horas após primeira aplicação
HLPC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IRGA	Analisador Infra-Vermelho de Gás
MAMP	Padrão Molecular Associado a Microrganismos não patogênicos
MANOVA	Análise multivariada de variância
NBT	Tetrazólio nitroazul
PAMP	Padrão Molecular Associado a Patógeno
PH	Peso hectolitro
PMS	Peso de mil sementes
POX	Polifenol oxidase
ppb - ppm	Partes por bilhão – Partes por milhão
PRRs	Receptor de Reconhecimento de Padrão
PTI	PAMP triggered immunity
PVP	Polividona
PVPP	Polivinil Polipirrolidona
RAS	Regras de Análise de Sementes
RPM	Rotações por minuto
SAR	Resistência sistêmica adquirida
SNA	<i>Spezieller Nährsoffamer Agar</i>

SOD	Superóxido dismutase
SPAD	Soil-Plant analysis development
UR	Umidade relativa
WUE	Uso eficiente da água
ZEA	Zearalenona
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
%	Porcento
®	registrado
°C	Graus celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µmol	Micromol
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
cm	Centímetro
FeCl_3	Cloreto férrico
g	Grama
H_2O	Água
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
ha	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
kg	Quilo
L	Litro
m	Metro
M	Molar
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
mmol	Milimol
NaClO	Hipoclorito de sódio
nm	Nanômetro
NO_3	Nitrato
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Radical superóxido
O_3	Ozônio
OH	Hidroxila
$\text{OH}^{\cdot}$	Radical hidroxila
p/v	Peso/volume
pH	Potencial de hidrogênio
s	Segundo
Θ	theta
I	iota
K	kappa

λ	lambda
μ	mu
ν	nu
ϕ_{Po}	Rendimento quântico máximo do PSII
ψ_o	Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b
ϕ_{Eo}	Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b
ϕ_{Ro}	Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI
PI_{ABS}	Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b
ABS/RC	Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo)
TR_o/RC	Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC)
ET_o/RC	Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (RC)
Di_o/RC	Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	8
1.1 OBJETIVOS	10
1.1.1 Objetivo Geral.....	10
1.1.2 Objetivos Específicos	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 A CULTURA DO TRIGO	12
2.1.1 A problemática do trigo	12
2.2 OS BIOESTIMULANTES E AS ALGAS	13
2.2.1 Carragena.....	15
2.3 METABOLISMO ESPECIALIZADO (SECUNDÁRIO) VEGETAL	16
2.3.1 Ativação do metabolismo especializado vegetal com MAMPs, DAMPs e PAMPs.....	16
2.3.2 O ácido salicílico (AS).....	17
2.4 COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (VOCs) E EXPERIMENTOS EM CAMPO ABERTO	19
2.5 ELICIAÇÃO VEGETAL	21
2.6 ELICIAÇÃO VEGETAL: QUAL O CUSTO?	22
3 REFERÊNCIAS	24

CAPÍTULO 01 – ELICIAÇÃO DE PLANTAS DE TRIGO EM CAMPO ABERTO SOB A FORMA DE Delineamento em blocos casualizados.....31

1. INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAIS E MÉTODOS	33
2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO	33
2.2 DESENHO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	34
2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS	36
2.3.1 Parâmetros fisiológicos.....	36
2.3.2 Parâmetros morfológicos	36
2.3.3 Parâmetros bioquímicos	37
2.3.4 Parâmetros fitossanitários	39
2.3.5 Parâmetros agronômicos de rendimento	40
2.3.6 Parâmetros qualitativos (patológico e micotoxicológico).....	40
2.3.7 Qualidade de semente.....	40
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	42
3.2 PARÂMETROS MORFOLÓGICOS	46
3.3 PARÂMETROS FITOSSANITÁRIOS.....	48
3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	51
3.5 PARÂMETROS QUALITATIVOS (PATOLÓGICO E MICOTOXICOLÓGICO).....	54

3.6	PARÂMETROS AGRONÔMICOS DE RENDIMENTO	57
3.7	QUALIDADE DE SEMENTE	61
4.	CONCLUSÕES	65
5.	REFERÊNCIAS	66

CAPÍTULO 02 – ELICIAÇÃO DE PLANTAS DE TRIGO EM AMBIENTE CONTROLADO SOB A FORMA DE DELINEAMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM MODIFICAÇÕES

1.	INTRODUÇÃO	72
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	74
2.1	LOCAL DO EXPERIMENTO	74
2.2	DESENHO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	74
2.3	VARIÁVEIS ANALISADAS	76
2.3.1	Parâmetros fisiológicos	76
2.3.2	Parâmetros morfológicos	78
2.3.3	Parâmetros bioquímicos	78
2.3.4	Parâmetros fitossanitários	80
2.3.5	Estresse por calor	80
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	81
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
3.1	PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	81
3.2	PARÂMETROS MORFOLÓGICOS	88
3.3	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	90
3.4	PARÂMETROS FITOSSANITÁRIOS	96
3.5	ESTRESSE POR CALOR	97
4.	CONCLUSÕES	99
5.	REFERÊNCIAS	100

CAPÍTULO 03 – COMPARAÇÃO ENTRE OS EFEITOS DA ELICIAÇÃO VEGETAL NOS MODELOS DE EXPERIMENTAÇÃO NO FORMATO DE DELINEAMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS E DELINEAMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM MODIFICAÇÕES

1.	INTRODUÇÃO	107
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	109
2.1	COMPARAÇÃO DE MÉDIAS	110
2.2	COMPARAÇÃO ENTRE DESENHOS EXPERIMENTAIS	110
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	111
4.	CONCLUSÕES	116
5.	REFERÊNCIAS	116

APÊNDICES	118
-----------------	-----

1 INTRODUÇÃO GERAL

Eliciação vegetal, também denominada de elicitação vegetal ou simplesmente de indução de resistência, é uma prática que se baseia na utilização de uma molécula única e/ou combinada a outras moléculas (voláteis ou não) com alta atividade biológica, e de estímulos táteis/sonoros capazes de elicitar diferentes mecanismos/rotas de crescimento e defesa dentro dos vegetais (DUCATTI, 2023).

Essa prática busca condicionar plantas para elevar suas resistências à estresses bióticos/abióticos decorrentes do meio de cultivo, propiciando a obtenção de melhores produtividades e melhorando a qualidade dos frutos/grãos colhidos (DUCATTI, TIRONI & MAZARO, 2021b). Nesse contexto, enquadram-se os produtos agrícolas produzidos com a utilização de macroalgas marinhas (SHUKLA et al., 2021).

As macroalgas marinhas (visíveis a olho nu) são classificadas de acordo com suas pigmentações e podem ser distribuídas em três grandes grupos, sendo: algas marrons (Phaeophyceae), algas verdes (Chlorophyta) e algas vermelhas (Rhodophyta) (SAHOO; SECKBACH, 2015). Embora o senso comum acredite que algas sejam todas “iguais”, sabe-se que existe uma grande diferença genética e evolutiva entre esses grupos (Figura 1) (SAHOO; SECKBACH, 2015; DUCATTI, 2020).

Relatos da utilização de macroalgas marinhas como fertilizantes datam por volta do século VIII d.C. (PEREIRA; BAHCEVANDZIEV; JOSHI, 2021). Entretanto, sua utilização com apelo na bioestimulação de plantas para mitigação de estresses bióticos e/ou abióticos é muito mais recente (YAKHIN et al., 2017). Por crescerem em ambientes extremamente inóspitos, com alta variação de salinidade, pressão, luminosidade, dentre outros, esses macroorganismos tornaram-se capazes de sintetizar diversas substâncias de defesa para superarem os estresses que os acometem durante seu desenvolvimento.

Dessas substâncias, incluindo aqui os aminoácidos, fitohormônios, osmorreguladores e protetores, vitaminas, dentre outras, as mais importantes são aquelas classificadas como polissacarídeos exclusivos das algas marinhas e que possuem grande poder de eliciação vegetal, incluindo os famosos alginatos, laminarinas e fucoïdanos (algas marrons), as ulvanas (algas verdes), as carragenas e os agars (algas vermelhas) (STADNIK; FREITAS, 2014).

A aplicação desses polímeros em vegetais demonstra grande poder de eliciação e de estímulo à superação de estresses (SHUKLA et al., 2021). As

evitar que dados errôneos e tendenciosos sejam gerados, métodos tradicionais de experimentação devem ser ajustados para impedir intercomunicações entre tratamentos, parcelas e plantas (DUCATTI, 2023).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Avaliar o potencial eliciador de um bioestimulante a base de carragena sobre os aspectos de crescimento e defesa de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.)

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar, em campo aberto, a eliciação vegetal de plantas de trigo conduzidas na forma de delineamento em blocos casualizados (DBC);
- Avaliar, em ambiente controlado, a eliciação vegetal de plantas de trigo conduzidas na forma de delineamento inteiramente casualizado (DIC), com adaptações;
- Comparar os experimentos em DBC e DIC (com adaptações) e definir um modelo para a condução de experimentos de eliciação vegetal com o objetivo de evitar a produção de dados errôneos e/ou tendenciosos no que se refere ao potencial eliciador de uma molécula/produto/estímulo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para uma melhor compreensão do assunto a ser exposto a seguir, e culminando com os objetivos desse trabalho, é importante salientar a necessidade, para a agricultura e indústria, da descoberta de produtos naturais e/ou sintéticos, orgânicos e/ou inorgânicos, capazes de atuar de forma direta e/ou indireta sobre fungos, bactérias e vírus fitopatogênicos, buscando melhorar a qualidade final dos grãos/frutos colhidos e aumentar as produtividades.

É importante também salientar que a agricultura necessita tornar-se mais sustentável e menos poluente, por isso, a utilização de moléculas/produtos naturais associadas a diferentes práticas, como a eliciação vegetal, é fundamental para aumentar as resistências dos cultivos, tornando-os menos suscetíveis ao ataque de pragas e patógenos.

O grande obstáculo nesse sentido, é como realizar uma correta avaliação do potencial eliciador de uma molécula uma vez que as práticas convencionais de experimentação fogem do ideal para a geração de dados não tendenciosos e incorretos. Muitas vezes, moléculas e produtos eliciadores são desclassificados como benéficos para o controle de pragas/patógenos e para o aumento da produtividade e qualidade dos cultivos devido a utilização de práticas experimentais que não se enquadram como ideais para esse tipo de avaliação.

O autor desse trabalho não está se referindo, muito menos afirmando, que os delineamentos experimentais, como por exemplo o quadrado latino (DQL), o delineamento em blocos casualizados (DBC) e o delineamento inteiramente casualizados (DIC) são incorretos para experimentos de eliciação vegetal. Pelo contrário, esses delineamentos devem ser utilizados levando em conta todos os pressupostos da experimentação. Entretanto, as práticas experimentais devem ser adaptadas a esses delineamentos para que trabalhos de eliciação vegetal consigam estimar o real valor/potencial eliciador de uma molécula/produto.

Essas práticas experimentais devem levar em consideração o total isolamento de tratamentos e parcelas, para que não ocorra a intercomunicação entre plantas, evitando assim, que ocorram interferências entre diferentes tratamentos. Os principais vilões nesse caso são os denominados Compostos Orgânicos Voláteis (VOCs), os quais são intensamente produzidos a partir da eliciação vegetal e, por serem voláteis, conseguem eliciar plantas vizinhas, alterando seus mecanismos de crescimento e defesa. Vide o trabalho publicado por Ducatti (2023) referente ao assunto.

2.1 A CULTURA DO TRIGO

O trigo, pertencente à família Poaceae, é a cultura que ocupa a maior área de produção do mundo (219,15 milhões de hectares em 2022) e está em segundo lugar como o grão mais produzido a nível mundial (80,8 bilhões de toneladas em 2021), ficando atrás apenas do milho (FAO, 2024). Acredita-se que essa cultura tenha tido sua origem nas regiões que hoje abrangem os países conhecidos como Líbano, Síria, Palestina, Turquia, Israel e Etiópia (LEV-YADUN, 2000) por volta de 9.000 a.C. (COOPER, 2015).

No Brasil, a introdução do trigo ocorreu em 1534 (ABITRIGO, 2021). Entretanto, foi apenas a partir da década de 1950 que a cultura alavancou no País (BRUM; HECK, 2005). Atualmente, o Brasil é altamente dependente da importação de trigo para seu abastecimento. Em 2023, o País importou cerca de 45,23% a mais do que produziu para atender a demanda do mercado (USDA:FAS, 2024).

2.1.1 A problemática do trigo

Embora o trigo seja a base da alimentação e nutrição humana e animal (DIXON et al., 2009), essa cultura sofre incessantemente com a incidência de doenças como por exemplo o oídio e a giberela.

A giberela é ocasionada principalmente pelo fungo fitopatogênico *F. graminearum* (fase sexual: *Gibberella zeae*). De acordo com McMullen et al. (2012) entre 1993 e 2001 os EUA perderam mais de US\$7,6 bilhões em decorrência dessa doença em trigo e cevada. Para a América do sul e Europa, as perdas foram contabilizadas em 70% e 60%, respectivamente (RANDHAWA et al., 2019). No Brasil, a giberela está associada a perdas que giram em torno de 18,6% a 39,9% (REIS et al., 2016). Condições ideais para o desenvolvimento da giberela são: Umidade Relativa (UR%) maior que 80%, molhamento entre 8-72 horas e temperatura variando entre 10 e 30 °C (DEL PONTE et al., 2004; LESLIE; SUMMEREL, 2006).

Outra doença de importância econômica para a cultura do trigo é o oídio, o qual tem como agente causador o fungo fitopatogênico *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. De acordo com Costamilan & Scheeren (2006) essa doença pode causar perdas de até 62% à cultura no Brasil. O oídio é uma das primeiras doenças a aparecer na cultura do trigo durante seu desenvolvimento e, ao contrário da giberela, não necessita de intenso molhamento/umidade para seu desenvolvimento. Essa doença desenvolve-se

melhor com temperaturas variando entre 10 e 22 °C (COSTAMILAN; SCHEEREN, 2006),

Embora a queda de produtividade ocasionada pela incidência dessas doenças impacte profundamente o setor agrícola e a segurança alimentar das nações, outra problemática associada principalmente a incidência de giberela na cultura do trigo diz respeito a produção e acúmulo de micotoxinas, especialmente a desoxinivalenol (DON) (PONTS, 2015), a qual pode ocasionar perdas de até 100% à cultura (DUVEILLER et al., 2016) devido a inviabilização do uso dos grãos.

Conhecendo os decréscimos em produtividade que a giberela e o oídio podem trazer às lavouras, é comum a utilização de fungicidas para o controle dessas doenças. Todavia, acredita-se que o fungo *F. graminearum*, assim como outros fungos filamentosos pertencentes ao gênero *Fusarium*, possuem mecanismos de defesa associados à produção de micotoxinas (PONTS, 2015), ou seja, ao fazer-se uso de fungicidas para o controle de oídio e giberela também acaba-se estimulando a produção de micotoxinas por *Fusarium* sp. que sobrevivem a aplicação desses produtos fitossanitários.

2.2 OS BIOESTIMULANTES E AS ALGAS

Por definição, Vieira (2001) estabeleceu que: “bioestimulantes são produtos que possuem a mistura de dois ou mais reguladores vegetais, ou de reguladores vegetais com outros compostos de natureza bioquímica diferentes (aminoácidos, nutrientes, vitaminas)”. Em 2015, o pesquisador Du Jardin descreveu bioestimulantes como sendo “produtos com base em substâncias naturais ou microorganismos que melhoram a eficiência nutricional, a resistência a estresses abióticos, a produtividade, e a qualidade final dos produtos, sem levar em consideração o conteúdo nutricional que esses produtos possuem”.

Em 2020 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020) definiu bioestimulante como sendo um “produto que contém substância natural com diferentes composições, concentrações e proporções, que pode ser aplicado diretamente nas plantas, nas sementes e no solo, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade de sementes, estimular o desenvolvimento radicular, favorecer o equilíbrio hormonal da planta e a germinação mais rápida e uniforme, interferir no desenvolvimento vegetal, estimular a divisão, a diferenciação e o alongamento celular, incluídos os processos e as tecnologias derivadas do

bioestimulante”.

Logo após, em 2021, outros autores definiram bioestimulantes como sendo “misturas de um ou mais biorreguladores com outros compostos de natureza química diferente como os aminoácidos, as vitaminas e os sais minerais principalmente” (POSSENTI; MENEGHELLO, 2022).

Embora esses conceitos tenham sido descritos na literatura, o autor desse presente estudo acredita que todos os conceitos devam ser reformulados. Isso deve-se ao fato de que bioestimulantes não necessariamente necessitam ser originados da mistura de dois ou mais reguladores vegetais, assim como, bioestimulantes não necessariamente necessitam ser provenientes apenas de substâncias naturais e/ou orgânicas. Um exemplo é a utilização de precursores de ácido salicílico na agricultura (Acibenzolar-S-Metil), um bioestimulante orgânico, porém sintético, que é capaz de estimular vários mecanismos vegetais (KOO et al., 2020), ou, o uso de silício, um bioestimulante natural, porém inorgânico que possui a função de estimular plantas a se defenderem de estresses bióticos e abióticos (SARKAR et al., 2022). Entretanto, não apenas substâncias físicas funcionam como eliciadores de plantas, o som e o toque também podem estimular plantas a se desenvolverem (DUCATTI et al., 2024).

Dessa forma, esse autor sugere como um melhor conceito para bioestimulantes a seguinte definição: “produto e/ou mistura de produtos, sintéticos (KOO et al., 2020) e/ou naturais (SHUKLA et al., 2021), orgânicos (KAUR et al., 2021) e/ou inorgânicos (SARKAR et al., 2022), capazes de estimular direta (KAUR et al., 2021) ou indiretamente (MARKOVIC et al., 2019), de maneira positiva (BRAMBILLA et al., 2022) e/ou negativa (WU et al., 2022) mecanismos de crescimento e defesa vegetal, sem levar em consideração a quantidade de nutrientes fornecidas por tais produtos e sem considerar que possuem ação pesticida” (DUCATTI et al., 2024). Ou seja, bioestimulantes são produtos que estimulam (estimulante) as plantas (bio) a desenvolver-se e a criar seus próprios mecanismos de defesa, não sendo considerados, e não tendo função direta como pesticida.

Nesse contexto, enquadram-se as micro e macroalgas marinhas. Esses seres fotossintetizantes além de possuírem milhares de anos de evolução (Figura 1), o que os possibilitou sintetizar e acumular diversos componentes de defesa a fim de superarem estresses causados em decorrência de seus *habitats* de crescimento (marés, salinidade, temperatura, pressão, etc), também possuem uma diversa gama de polissacarídeos polianiônicos exclusivos e com grande poder eliciador frente aos

vegetais (STADNIK; FREITAS, 2014; DUCATTI, 2020).

Dentre os polissacarídeos polianiônicos com maior interesse para os processos de eliciação dos vegetais encontram-se os alginatos, laminarinas e fucoidanos (algas marrons – Filo Phaeophyta), as ulvanas (algas verdes – Filo Chlorophyta) e as carragenas (algas vermelhas – Filo Rhodophyta) (STADNIK; FREITAS, 2014).

2.2.1 Carragena

As carragenas são polímeros sulfatados exclusivamente encontrados em algas vermelhas. Esses polímeros (polissacarídeos) podem ser divididos em seis principais grupos, mas não os únicos, sendo: iota(ι)-, kappa(κ)-, lambda(λ)-, mu(μ)-, nu(ν)-, e theta(Θ) carragenas. Acredita-se que quanto maior o grau de sulfatação das carragenas (lambda(λ), iota(ι)- e kappa(κ) tendo os maiores graus) mais solúveis em água essas se apresentam e maior sua capacidade de eliciação vegetal (SHANGA et al., 2011; SHUKLA et al., 2016).

Em estudos realizados por Ducatti et al. (2021 a,b; 2022 a,b), bioestimulantes a base de carragena foram aplicados no início do desenvolvimento das culturas de trigo, cevada e milho e, apresentaram ótimo retorno quanto ao aumento de produtividade e redução na biossíntese e acúmulo de micotoxinas nessas culturas. O que esses autores também notaram em seus estudos foi que, quanto mais tardiamente o produto havia sido aplicado a nível de campo, mais suprimidos haviam sido os resultados colhidos tanto em produtividade quanto em redução no acúmulo de micotoxinas.

Diante desses fatos, acredita-se que produtos naturais a base de carragenas possuem a capacidade de eliciar os vegetais por um longo período. Deve-se a essa hipótese o fato de que cada carragena possui distintos graus de solubilidade, o que permite com que plantas absorvam diferentes carragenas ao longo do tempo e tenham processos de eliciação continuados até sua senescência.

Em um estudo realizado por Gunupuru et al. (2019) utilizando extrato de *Ascophyllum nodosum* (alginatos + laminarinas + fucoidanos) em combinação com quitosana em plantas de trigo (aplicados em plantas com duas folhas totalmente desenvolvidas) para supressão da síntese e acúmulo de micotoxinas por *F. graminearum*, ficou demonstrado a importância e a capacidade desses polímeros em eliciar plantas de trigo e ajudar na supressão da síntese e acúmulo de micotoxinas.

2.3 METABOLISMO ESPECIALIZADO (SECUNDÁRIO) VEGETAL

Assim como para os fungos, graças ao ciclo evolutivo (DALIO, 2013), as plantas também adquiriram a capacidade de produzir vários componentes de defesa (mais de 200.000 compostos conhecidos (HOUNSOME et al., 2008)) para se proteger contra estresses bióticos e abióticos no decorrer de seu desenvolvimento, os famosos metabólitos especializados (secundários) (SHUKLA et al., 2016). Dentre esses metabólitos encontram-se aqueles ligados as rotas do ácido chiquímico (compostos fenólicos), do ácido mevalônico e do metileritritol fosfato (compostos terpênicos) (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Além desses, uma série de outros componentes de defesa incluindo as espécies reativas ao oxigênio (EROs - H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$, 1O_2 , etc.), enzimas (CAT, SOD, FAL, APX, POX, etc.), fitoalexinas e genes/proteínas de defesa vegetal (PR-proteínas) também são amplamente produzidos pelas plantas como resposta à hipersensibilidade e para a aquisição da resistência sistêmica adquirida (SAR) e da resistência sistêmica induzida (ISR) (HENRY et al., 2012).

A ativação do metabolismo especializado vegetal pode ocorrer através da utilização de diversas substâncias/moléculas/produtos, os famosos bioestimulantes (FOSKET, 1994). Sabe-se também que as plantas são sensíveis ao toque e ao som, dessa forma, estímulos táteis (MARKOVIC et al., 2019) como um simples toque e estímulos sonoros (GAGLIANO et al., 2017; PLANT DEAFNESS, 2022) também são capazes de ativar processos de eliciação nos vegetais.

2.3.1 Ativação do metabolismo especializado vegetal com MAMPs, DAMPs e PAMPs

Assim como para fatores abióticos (luminosidade, salinidade, metais pesados, vento, toque, som, etc.), as plantas possuem a capacidade de reconhecimento de vários padrões moleculares associados a componentes bióticos graças a proteínas denominadas PRRs (*pattern-recognition receptors*), sendo eles os PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*), os DAMPs (*damage-associated molecular patterns*) e os MAMPs (*microbe-associated molecular patterns*).

Por definição, os MAMPs são padrões moleculares específicos existentes em diferentes organismos não-patogênicos, como é o caso das carragenas. Esses padrões são reconhecidos pelos vegetais através de estruturas/moléculas/enzimas/proteínas/etc. ainda não totalmente elucidadas (MEJÍA-TENIENTE et al.,

2010), da mesma forma que ocorre com os VOCs (LORETO; D'AURIA, 2022). Em contrapartida, os DAMPs (padrões moleculares encontrados em insetos) e os PAMPs (padrões moleculares encontrados em microrganismos patogênicos) são padrões moleculares reconhecidos por PRRs específicas. Ao serem reconhecidos esses padrões desencadeiam a famosa PTI (*PAMP-Triggered Immunity*) (Figura 2) (HENRY et al., 2012; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Ao ser desencadeada, e devido ao processo evolutivo dos patógenos e insetos, a PTI consegue ser superada através da secreção de genes de avirulência por parte desses organismos (genes de avirulência), tornando as plantas novamente suscetíveis (ETS → *Effector-Triggered Susceptibility*). Entretanto, as plantas também possuem a capacidade, através de sua evolução, de produzir genes de resistência aos genes de avirulência secretados por patógenos/insetos, tornando-se novamente resistentes a esses organismos (ETI → *Effector-Triggered Immunity*) (WIESEL et al., 2014).

É devido a exatamente esse processo infinito de susceptibilidade/resistência, o qual passa de uma geração para a outra, que se baseiam grande parte das recomendações utilizadas para se evitar que produtos fitossanitários percam sua efetividade tão rapidamente, como é o caso, por exemplo, da rotação de produtos fitossanitários com diferentes mecanismos de ação.

2.3.2 O ácido salicílico (AS)

Assim como as algas, todas as plantas terrestres possuem a capacidade de produção de AS, um composto fenólico produzido por plantas principalmente a partir da quebra do aminoácido fenilalanina em ácido trans-cinâmico para a produção de uma vasta gama de compostos fenólicos de defesa e crescimento (TAIZ; ZEIGER, 2017).

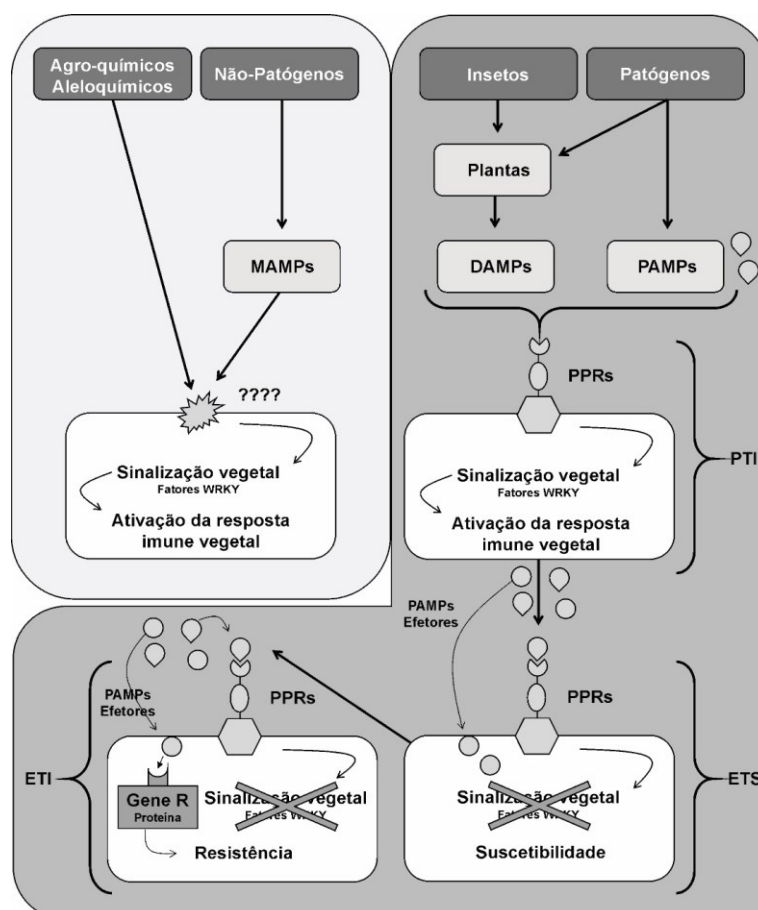
Muitos acreditam que o AS, dentre outros metabólitos de defesa, seja o grande benefício do consumo de vegetais por animais. Muito mais do que uma simples fonte de vitaminas, fibras, proteínas, carboidratos, etc. os vegetais são fontes de vários componentes de defesa, os quais, quando ingeridos, possuem a capacidade de eliciar mecanismos de defesa nos animais protegendo-os contra agressões externas causadas por agentes patogênicos e por variações ambientais. Da mesma forma, e por alguns desses componentes serem altamente voláteis, a presença de plantas próximas de animais também pode ajudar a mitigar os efeitos indesejáveis de diversos

fatores estressantes que os acometem (TALEB, 2014).

Em uma revisão realizada por Hounscome et al. (2008) são apresentados vários benefícios provenientes do consumo de vegetais que se relacionam com a presença de metabólitos de defesa nesses organismos além dos componentes comumente relatados por profissionais da área de nutrição, como fibras, proteínas, ácidos graxos, entre outros.

Nesse mesmo princípio, acredita-se que o AS produzido por plantas após eliciação com carragena (hipótese: produção de grandes quantidades de AS ao longo do tempo – até a senescência) possa ter um efeito benéfico indireto sobre o metabolismo fúngico, levando o fungo a diminuir seu metabolismo e consequentemente seu crescimento. Essa diminuição do metabolismo fúngico pode levá-lo a não sentir as agressões impostas pelo uso de fungicidas e pelas condições abióticas que os cercam, reduzindo assim o estresse por ele sentido e consequentemente ajudando na supressão da síntese de DON (DUCATTI et al. 2021 a,b; 2022 a,b). Isso porque, acredita-se que a síntese de micotoxinas por *F. graminearum* seja ocasionada como forma de defesa do fungo contra agentes estressores (PONTS, 2015).

Figura 2 – MAMPs, PAMPs, DAMPs e seus mecanismos de ação associados também a formação de PTIs, ETs e ETIs.



Fonte: Adaptado de DALIO (2013), HENRY *et al.* (2015), e TAIZ; ZEIGER (2017). Elaborado pelo autor.

Embora, Hao *et al.* (2019) tenham demonstrado a capacidade de algumas linhagens de *F. graminearum* em degradar AS produzido naturalmente por plantas e utilizá-lo como fonte de carbono para seu crescimento, acredita que a alta quantidade de AS produzida por plantas após sua eliciação com carragena é capaz de produzir um efeito indireto sobre os fungos, reduzindo assim a quantidade de micotoxinas por eles produzidos. Vide os resultados reportados por Ducatti *et al.* (2021 a,b) com a utilização de carragena e por Gunupuru *et al.* (2019) utilizando nesse caso alginatos, laminarinas e fucoidanos associados, ou não, a quitosana.

2.4 COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (VOCs) E EXPERIMENTOS EM CAMPO ABERTO

Quando plantas são eliciadas por fatores bióticos e/ou abióticos, além da

síntese de diversos componentes de defesa vegetal não-voláteis, também são produzidos vários componentes de defesa voláteis, os quais são liberados no ar e possuem a capacidade de eliciar plantas vizinhas. Praticamente, 20% de todo o CO₂ fixado pelas plantas diariamente é liberado novamente à atmosfera na forma de compostos voláteis (BALDWIN, 2010). Além de terem ação sobre outros vegetais e animais, esses VOCs também são fundamentais para a formação de ozônio (O₃) na atmosfera (PINTO et al., 2010).

Devido ao fato de plantas serem sésseis, esses organismos conseguem tirar grandes proveitos dos VOCs por elas emitidas, uma vez que plantas vizinhas podem facilmente reconhecer esses compostos voláteis e desencadear processos de defesa vegetal, condicionando-se a possíveis agressões (BALDWIN, 2010; MEENTS; MITHÖFER, 2020). Da mesma forma, vários compostos voláteis emitidos por vegetais, possuem a capacidade de repelir e/ou atrair insetos e outros organismos com o objetivo de promover um melhor desenvolvimento (ex. polinização) e/ou defesa vegetal (ex. atração de organismos predadores de agentes patogênicos vegetais) (HOLOPAINEN; BLANDE, 2012).

Em estudo realizado em campo aberto com plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) e artemísia (*Artemisia tridentata*), Karban et al. (2000) identificaram a presença, a uma distância de até três metros, de compostos voláteis acima de níveis detectáveis (metil-jasmonato) emitidos por plantas de artemísia que haviam sofrido danos mecânicos. Esses compostos voláteis foram capazes de eliciar plantas de tabaco localizadas próximo de plantas de artemísia. Quanto mais próximo as plantas de tabaco se encontraram das plantas de artemísia, maiores foram os efeitos positivos dessa intercomunicação.

Para trigo e cevada, Piesik et al. (2013) demonstraram que plantas localizadas a distâncias de 1 e 3 metros de plantas eliciadas, tiveram a produção de seus VOCs afetada. Plantas localizadas a 1 e a 3 metros de plantas eliciadas produziram uma quantidade entre 25-50% e 10-25%, respectivamente, de compostos voláteis similares àqueles produzidos pelas plantas eliciadas, demonstrando a capacidade de eliciação e de interferência que plantas eliciadas podem promover em decorrência da emissão de VOCs.

Não obstante, é necessário considerar que o tempo médio de vida desses compostos voláteis, assim como a distância por eles percorrida pode variar de segundos a vários dias, sendo esse tempo totalmente dependente da concentração

de radicais reativos presentes na atmosfera (principalmente O_3 e NO_3), da temperatura, umidade relativa do ar, radiação, etc. (BLANDE; HOLOPAINEN; LI, 2010; MEENTS; MITHÖFER, 2020). Blande, Holopainen e Li (2010) demonstraram que concentrações de O_3 acima de 80ppb reduziram a distância na qual essa sinalização entre plantas ocorreu.

Dessa forma, pode-se considerar que experimentos de indução de resistência em campo aberto devem ser realizados com parcelas maiores (quanto maior melhor) e mais espaçadas entre si, diminuindo assim ruídos e interferências de parcelas vizinhas em parcelas controle ou que não receberam eliciadores durante o decorrer dos testes. Isso explica por que em sua grande maioria, experimentos para a avaliação do potencial eliciador de diferentes compostos sobre os vegetais, são realizados em casa de vegetação e/ou laboratório (KOLESKA, et al. 2017; BRILLI et al., 2019; GUNUPURU et al., 2019; ALMEIDA et al., 2022; CRISTINA, et al., 2020).

Além disso, ainda não foram identificados e nem elucidados os caminhos pelos quais diferentes VOCs são percebidos e ou assimilados por plantas (LORETO; D'AURIA, 2022). Sabe-se que VOCs possuem uma grande capacidade de eliciação vegetal, e que inclusive, essa capacidade é superior àquela encontrada em compostos eliciadores isolados, como por exemplo a carragena (JIN et al., 2021). Isso deve-se ao fato de que VOCs não chegam às plantas sozinhos, mas sim, em uma mistura de componentes voláteis, os quais possuem diferentes formas de serem identificados por plantas, e possuem diferentes ações nos vegetais.

2.5 ELICIAÇÃO VEGETAL

Conforme exposto anteriormente, a eliciação vegetal (indução de resistência) baseia-se na ativação e/ou potencialização de diferentes rotas do metabolismo primário e/ou especializado dos vegetais a fim de torná-los mais resistentes à estresses bióticos e abióticos e auxiliar no aumento de qualidade e produtividade de grãos e frutos (DUCATTI, 2023).

O primeiro relato de eliciação vegetal ocorrido a nível mundial foi em 1901, quando pesquisadores utilizaram esporos atenuados de *Botrytis cinerea* para aumentar a resistência de plantas de begônias contra essa mesma espécie de fungo (CONRATH, 2006). Entretanto, foi apenas após a década de 1970 que estudos de eliciação vegetal realmente decolaram no mundo, a partir da descoberta das rotas

envolvidas na produção de metabólitos de defesa vegetal (metabólitos especializados), os quais até então eram considerados lixos metabólicos (HARTMANN, 2007).

Atualmente, estudos de eliciação vegetal são performados através de uma vasta gama de compostos, podendo ser do tipo orgânico/inorgânico, natural/sintético, ou através de estímulos táteis e/ou sonoros. Independente de qual forma a eliciação é realizada, o objetivo é sempre o mesmo, ativar a hipersensibilidade vegetal (explosão oxidativa), levando a aquisição da SAR e/ou da SIR, aumentando a eficiência de pesticidas através da utilização das defesas naturais das plantas e elevando a qualidade e produtividade dos cultivos (DUCATTI, 2023).

2.6 ELICIAÇÃO VEGETAL: QUAL O CUSTO?

Assim como ocorre para qualquer outro organismo vivo, todo processo metabólico, independente se for voltado ao metabolismo primário ou especializado, envolve um custo energético (NEILSON et al., 2013; BRILLI et al., 2019). Entretanto, esse custo é geralmente compensado pelos vastos benefícios da eliciação vegetal e o retorno acaba sendo superior ao gasto energético dispendido pelas plantas, vide vários estudos utilizando eliciadores vegetais com benefícios não apenas para a saúde vegetal, mas também com retorno em qualidade e produtividade (DUCATTI et al., 2021 a,b; PEREIRA et al., 2021).

Embora se descreva o metabolismo especializado (secundário) vegetal como sendo o metabolismo de defesa das plantas, essa descrição é uma mera simplificação e não reflete o real papel desse metabolismo para os vegetais (NEILSON et al., 2013). Os metabolismos primário e especializado se completam em todas as etapas de desenvolvimento das plantas, e dificilmente, ou, apenas em um mundo utópico, vegetais conseguiriam prosperar sem a existência do metabolismo “especializado” (ERB; KLIEBENSTEIN, 2020).

Ainda que, de difícil mensuração (NEILSON et al., 2013; BRILLI et al., 2019; ERB; KLIEBENSTEIN, 2020), em 2007, Foyer e seus colegas publicaram um trabalho onde avaliaram os custos de produção de metabólitos especializados voltados a defesa de plantas contra herbivoria. Interessantemente, esses autores calcularam e reportaram que o custo total da produção de metabólitos de defesa, em plantas anuais, representa uma demanda por carbono que pode ser satisfeita com menos de uma hora de fotossíntese plena.

Ou seja, de acordo com esses autores, correlações existentes entre utilização de eliciadores e diminuição de taxas fotossintéticas e produtividade, estão muito mais associadas ao “*down-regulation*” por parte das plantas e ao refinamento genético de culturas anuais performados por seres humanos, do que propriamente dito ao custo metabólico associado a produção desses componentes de defesa (FOYER; NOCTOR; VAN EMDEN, 2007).

Já para Bekaert et al. (2012), estudando os custos associados a produção de glucosinolatos em *Arabidopsis thaliana*, reportaram a necessidade de aumentos de 15% nas taxas fotossintéticas para compensar o custo metabólico envolvido na produção de um complexo de 30 glucosinolatos.

Conforme exposto, todo processo de eliciação envolve um custo metabólico extra que deve ser dispendido pelas plantas. Embora de difícil mensuração, esses custos são superados pelos vastos benefícios associados aos processos de “indução de resistência” (NEILSON et al., 2013).

3 REFERÊNCIAS

ABITRIGO, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE TIGO. **História do trigo**. 2021. Disponível em: <<https://www.abitrigo.com.br/conhecimento/historia-do-trigo/+&cd=4&hl=en&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 31 de agosto de 2021.

ALMEIDA, L. G.; MAGALHÃES, P. C.; KARAM, D.; DA SILVA, E. M.; ALVARENGA, A. A. Chitosan application in the induction of water deficit tolerance in maize plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 42, 2020.

BALDWIN, I. T. Plant volatiles. **Current Biology**, v. 20, p. 392-397, 2010.

BLANDE, J. D.; HOLOPAINEN, J. K.; LI, T. Air pollution impedes plant-to-plant communication by volatiles. **Ecology Letters**, v. 13, p. 1172-1181, 2010.

BEKAERT, M.; EDGER, P. P.; HUDSON, C. M.; PIRES, J. C.; CONANT, G. C. Metabolic and evolutionary costs of herbivory defense: systems biology of glucosinolate synthesis. **New Phytologist**, v. 196, p. 296-605, 2012.

BRAMBILLA, A.; SOMMER, A.; GHIRARDO, A.; WENIG, M.; KNAPPE, C.; WEBER, B.; AMESMAIER, M.; LENK, M.; SCHNITZLER, J. P.; VLOT, A. C. Immunity-associated volatile emissions of b-ionone and nonanal propagate defence responses in neighbouring barley plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 615-630, 2022.

BRILLI, F.; LORETO, F.; BACCELLI, I. Exploiting plant volatile organic compounds (VOCs) in agriculture to improve sustainable defense strategies and productivity of crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 264, 2019.

BRUM, A. L.; HECK, C. R. A Economia do Trigo no Rio Grande do Sul: Breve Histórico do Cereal na Economia do estado. **Análise**, v. 16, n. 1, p. 29-44, 2005.

CONRATH, U. Systemic Acquired Resistance. **Plant Signaling and Behavior**, v. 1, p. 179-184, 2006.

COOPER, R. Re-discovering ancient wheat varieties as functional foods. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 5, p. 138-143, 2015.

COSTAMILAN, L.M.; SCHEEREN, P.L. **Comportamento de genótipos de trigo, oriundos do Paraná, quanto à severidade de oídio, na safra 2006**. Embrapa Trigo: Documento online. 2006. Disponível em:

<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do65_1.htm>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2023.

CRISTINA, C.; GRANGE, E.; MANNINO, G.; VAN ARKEL, J.; BEEKWILDER, J.; KARLOVA, R.; GARABELLO, C.; CONTARTESE, V.; BERTEA, C. M. A Biostimulant seed treatment improved heat stress tolerance during cucumber seed germination by acting on the antioxidant system and glyoxylate cycle. **Frontier in Plant Science**, v. 11, article 836, 2020.

DALIO, R.J.D. **Deciphering mechanisms of pathogenicity and resistance induction in the interaction between *Phytophthora* spp. And European beech (*Fagus sylvatica* L.)**. 2013. Dissertation, Technische Universitaet Muenchen

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do Trigo – Aspectos Epidemiológicos e Modelos de Previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 587-605, 2004

DIXON, J.; BRAUN, H.-J.; KOSINA, P.; CROUCH, J. **Wheat Facts and Futures 2009**. Mexico, D.F.: CIMMYT, 2009.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulture**, v. 196, p. 3–14, 2015.

DUCATTI, R. D. B. Plant Elicitation: The Generation of Misleading and Biased Information. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 3785-3788, 2023.

DUCATTI, R. D. B. **Uso de macroalgas na agricultura – Diferenças e vantagens da utilização de distintos grupos de macroalgas como bioestimulantes no agronegócio: uma realidade cada vez mais frequente**. Revista Grupo GConci, ano XXIII, v. 126, p. 6-8, 2020. Disponível em: <https://www.gconci.com.br/Conteudo/Pdf/Revistas/126.pdf>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2023.

DUCATTI, R.B.D.; ANUNCIAÇÃO, C.R.; SARTORI, V.C.; PIVA, M.B.C.; COMUNELLO, L.; TIRONI, S.P. Use of carrageenan for the reduction of deoxynivalenol contamination in wheat and barley kernels. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 9, p. 40-47, 2021a.

DUCATTI, R.D.B.; TIRONI, S. P.; MAZARO, S. M. An algal sulphated polysaccharide capable of reducing mycotoxin biosynthesis by *Fusarium*. **Communications in Plant**

Science, v. 11, p.57-59, 2021b.

DUCATTI, R.D.B.; TIRONI, S. P.; WORDELL-FILHO, J. A.; MAZARO, S. M.

Carrageenan as an elicitor of wheat's mechanisms of defense. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 8, p.1-11, 2022a.

DUCATTI, R.D.B.; WORDELL-FILHO, J. A.; MAZARO, S. M. Deoxynivalenol biosynthesis and accumulation in wheat under application of carrageenan. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 21, p.176-181, 2022b.

DUCATTI, R.D.B.; WORDELL-FILHO, J. A.; TIRONI, S. P.; MAZARO, S. M.

Photosynthesis, Salicylic Acid Content and Enzyme Activity of *Triticum aestivum* L. Influenced by the Use of a Seaweed Biostimulant Based on *Solieria chordalis*. **Journal of Plant Growth and Regulation**, 2024.

DUVEILLER, E.; HE, X.; SINGH, P. K. **Wheat blast: An Emerging Disease in**

South America Potentially Threatening Wheat Production. In: BONJEAN, A.;

VAN GINKEL, M. (Eds.). World Wheat Book, Volume 3. A History of Wheat. Paris: Lavoisier, 2016.

ERB, M.; KLIEBENSTEIN, D. J. Plant secondary metabolites as defense, regulators and primary metabolites: The blurred functional trichotomy. **Plant Physiology**, v. 184, p. 39-52, 2020.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

FAOSTATS: **Wheat**. 2024. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>.

Acesso em: 19 de fevereiro de 2024.

FOSKET, D. E. Biotic factors regulate some aspects of plant development. In:

FOSKET, D. E. (author). **Plant Growth and Development: A Molecular Approach**, 1 ed. California: Academic Press, 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G.; VAN EMDEN, H. F. An evaluation of the costs of making specific secondary metabolites: Does the yield penalty incurred by host plant resistance to insects result from competition for resources? **International Journal of Pest Management**, v. 53, p. 175-182, 2007.

GAGLIANO, M.; GRIMONPREZ, M.; DEPCZYNSKI, M.; RENTON, M. Tuned in: plant roots use sound to locate water. **Oecologia**, v. 184, p. 151-160, 2017.

GUNUPURU, L. R.; PATEL, J. S.; SUMARAH, M. W.; RENAUD, J. B.; MANTIN, E.

G.; PRITHIVIRAJ, B. A plant biostimulant made from the marine brown algae *Ascophyllum nodosum* and chitosan reduce *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination in wheat. **PLOS ONE**, 14(9): e0220562, 2019.

HAO, G., NAUMANN, T. A., VAUGHAN, M. M., MCCORMICK, S., USGAARD, T., KELLY, A. & WARD, T. J. Characterization of a *Fusarium graminearum* salicylate hydroxylase. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, e3219, 2019.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2831-2846, 2007.

HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, p. 257-268, 2012.

HOLOPAINEN, J. K.; BLANDE, J. D. **Molecular plant volatile communication**, Chapter 2. 2012. In: Sensing in Nature. López-Larrea C. New York: Springer.

HOUNSOME, N.; HOUNSOME, B.; TOMOS, D.; EDWARDS-JONES, G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 48-65, 2008.

JIN, J.; ZHAO, M.; GAO, T.; JING, T.; ZHANG, N.; WANG, J.; ZHANG, X.; HUANG, J.; SCHWAB, W.; SONG, C. Amplification of early drought responses caused by volatile cues emitted from neighboring tea plants. **Horticulture Research**, v. 8, article 243, 2021.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T.; BAXTER, K. J.; LAUE, J. G.; FELTON, G. W. Communication between plants: induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. **Oecologia**, v. 125, p. 66-71, 2000.

KAUR, G.; PRAKASH, P.; SRIVASTAVA, R.; VERMA, P. C. **Enhanced Secondary Metabolite Production in Hairy Root Cultures Through Biotic and Abiotic Elicitors**. Em: RAMAWAT, K. G.; EKIERT, H. M.; GOYAL, S. eds. Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry. Springer: Cham, p. 625-660, 2021

KOLESKA, I.; HASANAGIC, D.; TODOROVIC, V.; MURTIC, S.; KLOKIC, I.; PARADIKOVIC, N.; KUKAVICA, B. Biostimulant prevents yield loss and reduces oxidative damage in tomato plants grown on reduced NPK nutrition. **Journal of Plant**

Interactions. V. 12, p. 209-218, 2017.

KOO, Y. M.; HEO, A. Y.; CHOI, H. W. Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator. **Plant Pathology Journal**, v. 36, n. 1, p. 1-10, 2020.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* Laboratory Manual**. 1 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2006.

LEV-YADUN, S.; GOPHER, A.; ABBO, S. The Cradle of Agriculture. **Science**, v. 288, p. 1602-1603, 2000.

LORETO, F.; D'AURIA, S. How do plants sense volatiles sent by other plants? **Trends in Plant Science**, v. 27, p. 29-38, 2022.

MARKOVIC, D.; COLZI, I.; TAITI, C.; RAY, S.; SCALONE, R.; ALI, J.G.; MANCUSO, S.; NINKOVIC, V. Airborne signals synchronize the defenses of neighboring plants in response to touch. **Journal of Experimental Botany**, v. 2, p. 691-700, 2019.

MCMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; DE WOLF, E.; DILL-MACKY, R.; HERSHMAN, D.; SHANER, G.; SANFORD, D. V. A Unified Effort to Fight and Enemy of Wheat and Barley: *Fusarium* Head Blight. **Plant Disease**, v. 96, n. 12, p.1712-1728, 2012.

MEENTS, A. K.; MITHÖFER, A. Plant-Plant communication: Is there a role for volatile damage-associated molecular patterns? **Frontiers in Plant Science**, v. 11, Artigo 583275, 2020.

MEJÍA-TENIENTE, L.; TORRES-PACHECO, I.; GONZÁLEZ-CHAVIRA, M. M.; OCAMPO-VELAZQUEZ, R. V.; HERRERA-RUIZ, G.; CHAPA-OLIVER, A. M.; GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. Use of elicitors as an approach for sustainable agriculture. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 54, p. 9155-9162, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Conceitos**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acessado em: 04 de fevereiro de 2023.

NEILSON, E.H.; GOODGER J. Q. D.; WOODROW, I. E.; MOLLER, B. L. Plant chemical defense: At what cost? **Trends in Plant Science**, v. 18, p. 250-258, 2013.

PEREIRA, L., BAHCEVANDZIEV, K. & JOSHI, N. H. **Seaweeds as plant fertilizer, agricultural biostimulants and animal fodder**. CRC Press: Florida. 2021. 232p.

PIESIK, D.; PANKA, D.; JESKE, M.; WENDA-PIESIK, A.; DELANEY, K. J.; WEAVER,

D. K. Volatile induction of infected and neighboring uninfected plants potentially influence attraction/repellence of a cereal herbivore. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 296-309, 2013.

PINTO, D. M.; BLANDE, J. D.; SOUZA, S. R. S.; NERG, A-M.; HOLOPAINEN, J. K. Plant volatile organic compounds (VOCs) in ozone (O₃) polluted atmospheres: the ecological effects. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, p. 22-34, 2010.

PLANT DEAFNESS. **Nature Plants**, v. 8, p. 859, 2022.

PONTS, N. Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, Article 1234, 2015.

POSSENTI, J. C.; MENEGHELLO, G. E. **Tratamento de sementes e sulco de semeadura**. 2022. Capítulo 5. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (editores). Bioinsumos na cultura da soja. Brasília, DF: Embrapa. 2022.

RANDHAWA, M. S.; BHAVANI, S.; SINGH, P. K.; HUERTA-ESPINO, J.; SINGH, R. P. **Disease Resistance in Wheat: Present Status and Future Prospects**. In: WANI, S. H. (Ed.). Disease Resistance in Crop Plants, Volume 1. Suíça: Springer, 2019.

REIS, E. M.; BOARETO, C.; DANELLI, A. L. D.; ZOLDAN, S. M. Anthesis, the infectious process and disease progress curves for fusarium head blight in wheat. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 134-139, 2016.

SAHOO, D. & SECKBACH, J. **The Algae World**. Springer: London. 2015. 594p.

SANGHA, J. S.; KHAN, W.; JI, X.; ZHANG, J.; MILLS, A. A. S.; CRITCHLEY, A. T.; PRITHIVIRAJ, B. Carrageenans, sulphated polyssacharides of red seaweeds, differentially affect *Arabidopsis thaliana* resistance to *Trichoplusia ni* (Cabbage Looper). **PlosOne**, v. 6, n. 10, e26834, 2011.

SARKAR, M. M.; MATHUR, P.; MITSUI, T.; ROY, S. A review on functionalized silica nanoparticles amendment on plant growth and development under stress. **Plant Growth Regulation**, v. 98, p. 421-437, 2022.

SAUCEDO, S., CONTRERAS, R. A. & MOENNE, A. Oligo-carrageenan kappa increases C, N and S assimilation, auxin and gibberellin contents, and growth in *Pinus radiata* trees. **Journal of Forest Research**, v. 26, n. 3, p. 635-640, 2015

SHUKLA, P.S.; BORZA, T.; CRITCHLEY A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed-based

compounds and products for sustainable protection against plant pathogens. **Marine drugs**, v. 19, Article 59, 2021.

SHUKLA, P.S.; BORZA, T.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Carrageenans from red seaweeds as promoters of growth and elicitors of defense responses in plants. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, artigo 81, 2016.

STADNIK, M. J. & FREITAS, M. B. Algal polysaccharides as a source of plant resistance inducers. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TALEB, N. N. **Antifrágil**: Coisas que se beneficiam com o caos. Best Business, SP. 664p. 2014.

USDA:FAS, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE: FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE. **Grain: World Markets and Trade**. January 2024. 2024. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2024.

VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine max* L. Merrill), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.)**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2001. 122p.

WIESEL, L.; NEWTON, A.C.; ELLIOTT, I.; BOOTY, D.; GILROY, E.M.; BIRCH, P.R.J.; HEIN, I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, article 655, 2014.

WU, B.; ZENG, Z.; WU, X.; LI, Y.; WANG, F.; YANG, J.; LI, X. Jasmonic acid negatively regulation of root growth in *Japonica* rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium treatment. **Plant Growth Regulation**, v. 98, p. 651-667, 2022.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. **Frontiers in Plant Science**, e02049, 2016.

CAPÍTULO 01 – ELICIAÇÃO DE PLANTAS DE TRIGO EM CAMPO ABERTO SOB A FORMA DE DELINEAMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

Doi: <https://doi.org/10.55905/revconv.16n.7-057>

RESUMO

Como fonte primária e básica para a alimentação humana e animal, é indispensável o surgimento de novas tecnologias, práticas agronômicas e produtos para tornar o cultivo de trigo mais sustentável e com a geração de grãos/sementes de melhor qualidade. Esse estudo buscou utilizar dois eliciadores vegetais (Acibenzolar-S-Metil e Carragena) para condicionar plantas de trigo e assim aumentar a atividade de seus metabolismos primário e especializado, a fim de proporcionar ganhos qualitativos e quantitativos à cultura. O estudo foi conduzido em Chapecó-SC no ano agrícola de 2021 na forma de delineamento em blocos casualizados com oito tratamentos e quatro repetições. A cultivar utilizada foi a TBio Noble. As variáveis analisadas no decorrer do trabalho incluíram parâmetros fisiológicos, morfológicos, bioquímicos, fitossanitários, agronômicos de rendimento, qualitativos (presença de patógenos e micotoxinas nas sementes) e parâmetros referentes a qualidade das sementes. A utilização dos eliciadores permitiu a obtenção de plantas maiores, menor severidade de oídio, e sementes com maior vigor. Entretanto, acredita-se que o desenho experimental do trabalho, as condições meteorológicas e o número de tratamentos possam ter afetado significativamente os resultados obtidos. Os eliciadores testados podem ser recomendados como aditivos aos fungicidas para melhorar a eficiência no controle de doenças e proporcionar maiores ganhos à cultura.

Palavras-chave: Acibenzolar-S-Metil, Algomel PUSH®, Carragena, Indução de resistência, *Triticum aestivum*.

ABSTRACT

As a staple food for human and animal nutrition, the emergence of new technologies, agronomic practices and products is essential to make wheat cultivation more sustainable and with greater quality. This study aimed to use two plant elicitors (Acibenzolar-S-Methyl and Carrageenan) to condition wheat plants and thus increase the activity of their primary and specialized metabolism in order to provide qualitative and quantitative gains to the crop. The study was conducted in Chapecó-SC during

the harvest season of 2021 in a randomized block design with eight treatments and four replicates. The cultivar used was TBio Noble. The variables analyzed during the work included physiological, morphological, biochemical, phytosanitary, yield components, qualitative parameters (presence of pathogens and mycotoxins in the kernels) and parameters referring exclusively to seed quality. The use of the elicitors allowed plants with larger size, lower powdery mildew severity, and seeds with greater vigor. However, it is believed that the experimental design of the work, the meteorological conditions and the number of treatments may have significantly affected the results obtained. The tested elicitors can be recommended as additives to fungicides to improve efficiency in disease control and provide greater gains to the crop.

Keywords: Acibenzolar-S-Methyl, Algomel PUSH®, Carrageenan, Resistance induction, *Triticum aestivum*.

1. INTRODUÇÃO

O trigo, fonte primária para a alimentação e nutrição humana e animal (DIXON et al., 2009), é amplamente cultivado mundo a fora (FAO, 2023). Entretanto, as incidências de insetos-pragas e doenças sobre a cultura geram um grande impacto sobre a rentabilidade das lavouras e a qualidade dos grãos/sementes produzidas (MCMULLEN et al., 2012; REIS et al., 2016; RANDHAWA et al., 2019).

Um dos grandes entraves da cultura para a obtenção de altas produtividades e para uma aceitável qualidade de grãos e sementes diz respeito a incidência da doença Giberela (*Fusarium graminearum*). Essa doença, além de causar grandes impactos econômicos no que tange a produtividade das lavouras (WEGULO, 2012), também pode ocasionar perdas de até 100% em decorrência da incidência da micotoxina desoxinivalenol (DON) sobre os grãos da cultura (RANDHAWA et al., 2019).

Uma vez que produtos fitossanitários, como é o caso dos fungicidas, vêm perdendo sua eficiência ao longo dos anos (CORKLEY; FRAAIJE; HAWKINS, 2022), produtos alternativos acabam ganhando espaço. Esses produtos alternativos, quando aplicados junto aos pesticidas visam, além de aumentar seus efeitos, também atuar na melhoria quantitativa e qualitativa dos cultivos (MEYER et al., 2022). Enquadram-se nesses produtos alternativos os eliciadores vegetais.

Eliciadores vegetais, popularmente denominados de indutores de resistência, “elicitores” vegetais ou simplesmente bioestimulantes, são produtos que condicionam

as plantas, reforçando seus metabolismos primário e especializado, e permitindo que seu crescimento e defesas sejam reforçados (DUCATTI, 2023). Não é novidade que, as plantas conseguem sintetizar milhares de compostos de defesa (mais de 200 mil compostos conhecidos) ao serem expostas à moléculas/estímulos eliciadores e/ou a estresses bióticos e/ou abióticos (HARTMANN, 2007).

Além disso, acredita-se que a síntese de DON por *F. graminearum* esteja atrelada a um sistema de defesa fúngica similar ao sistema de defesa naturalmente utilizado por vegetais (PONTS, 2015), ou seja, ao ser exposto a estresses, o fungo *F. graminearum* sintetiza grandes quantidades de DON para se defender dessas agressões (MCMULLEN et al., 2012; PONTS, 2015). McMullen et al. (2012), demonstraram que por não serem 100% eficientes, o uso de fungicidas acaba proporcionando uma maior produção e acúmulo de DON sobre os grãos de trigo e cevada proporcionalmente a porcentagem de incidência de giberela sobre as plantas.

Dessa forma, buscou-se com o presente trabalho avaliar em campo aberto, na forma de delineamento em blocos casualizados, o poder eliciador de um bioestimulante produzido com uma molécula denominada carragena sob plantas de trigo, visando melhorar a produtividade e aumentar a qualidade de grãos e sementes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido na área experimental da Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) localizada na cidade de Chapecó – SC (27°06'34"S; 52°40'18"O e altitude de 623m) durante o ano de 2021. A área possui um solo classificado como latossolo vermelho distroférrico típico e encontra-se localizada em uma região que apresenta clima mesotérmico úmido com verão quente (Classificação Köppen Cfa). Nas tabelas 1 e 2, são apresentadas as características físico-químicas da área e as condições meteorológicas mensais encontradas durante a condução dos experimentos.

Tabela 1 – Características físico-químicas da área experimental utilizada para a condução dos experimentos. EPAGRI, Chapecó, SC, 2021.

Argila (% p/v)	pH em H ₂ O	P (mg/dm ³)	K (mg/dm ³)	Matéria Orgânica (% p/v)
51,5	5,95	17,3	153,6	3,65
Al (cmolc/dm ³)	Ca (cmolc/dm ³)	Mg (cmolc/dm ³)	Al + H (cmolc/dm ³)	CTC pH7,0 (cmolc/dm ³)
0,0	3,25	0,55	2,71	13,8

Tabela 2 – Condições meteorológicas mensais da área utilizada para a condução dos experimentos. EPAGRI, Chapecó, SC, 2021.

	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro
Temperatura mínima média (° C)	13,25	12,78	17,60	20,85	18,65
Temperatura máxima média (° C)	14,19	14,06	18,78	22,33	19,87
Umidade relativa média (%)	81,93	65,01	63,29	63,21	72,50
Precipitação mensal (mm)	185,60	56,00	20,20	13,20	323,60

Dados obtidos diretamente da estação meteorológica A895 da EPAGRI, Chapecó, SC, através do site do INMET (www.bdmep.inmet.gov.br).

2.2 DESENHO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

A condução do experimento foi realizada em blocos casualizados (DBC) com oito tratamentos e quatro repetições. A cultivar utilizada para a condução dos ensaios foi a TBIO Noble com uma densidade final de 330 plantas m⁻². As parcelas possuíam tamanho de 1,0 × 5,0 metros com linhas de semeadura espaçadas em 0,2 metros. O espaçamento utilizado entre parcelas foi de 0,8 metros (Figura 3).

Figura 3 – Disposição das parcelas na área experimental. EPAGRI, Chapecó – SC, 2021.



Fonte: Rafael Dal Bosco Ducatti, 2021.

A utilização do delineamento em blocos casualizados visou “uniformizar” as variações existentes no ambiente experimental a fim de tornar o ambiente onde os experimentos foram conduzidos o mais homogêneo possível. Para isso, a área experimental foi dividida em subáreas (blocos), aonde cada uma dessas subáreas recebeu, de forma totalmente aleatória, todos os tratamentos igualmente repetidos (ZIMMERMAN, 2014).

Diante da análise físico-química realizada na área experimental (Tabela 1), perspectiva de produtividade e, baseando-se nas recomendações de adubação e calagem para o estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016), a área recebeu no momento da semeadura (16/06/2021), 62 kg ha⁻¹ de ureia, 100 kg ha⁻¹ de fertilizante NPK 09-33-12 e 16 kg ha⁻¹ de KCl. Aos 30 e 40 dias após a emergência (24/06/2021) foram aplicados 100 kg ha⁻¹ de ureia a lanço. A colheita das parcelas ocorreu no dia 25/10/2021.

Na tabela 3, descreve-se os tratamentos utilizados para a condução do experimento.

Tabela 3 – Descrição dos tratamentos, doses e épocas de aplicação para a condução dos experimentos na safra 2021. EPAGRI, Chapecó, SC.

Tratamento*	Algomel Push®1,4**	Bion®1,4***	Fungicida2,4	Inseticida3,4
Controle negativo	-	-	-	Imidacloprid + Bifen- thrin (200 mL ha ⁻¹)
Apenas ASM (1x)	-	25 g ha ⁻¹	-	
Apenas Carragena (1x)	1,0 L ha ⁻¹	-	-	
Apenas fungicida (3x)	-	-	Trifloxystrobin + Prothioconazole (500 mL ha ⁻¹)	
ASM (1x) + fungicida (3x)	-	25 g ha ⁻¹		
ASM (2x) + fungicida (3x)	-	25 g ha ⁻¹		
Carragena (1x) + fungicida (3x)	1,0 L ha ⁻¹	-		
Carragena (2x) + fungicida (3x)	1,0 L ha ⁻¹	-		

¹aplicação dos eliciadores ocorreu no início da fase de perfilhamento (GS20 – 16/07/2021) (1x), e início do perfilhamento (GS20 – 16/07/2021) + início do florescimento (GS60 – 03/09/2021) (2x), em mistura com o fungicida utilizado (ZADOKS et al., 1974).

²foram realizadas um total de 03 aplicações de fungicidas seguindo os princípios ativos e dosagens descritas na tabela acima. As aplicações ocorreram no início do perfilhamento (GS20), início do emborrachamento (GS40) e início do florescimento (GS60). O fungicida utilizado foi o Fox®. Para todas as aplicações foi utilizado 500 mL.ha⁻¹ de Aureo® (adjuvante).

³o inseticida foi aplicado conforme necessidade. Para todas as aplicações foi utilizado 500 mL.ha⁻¹ de Aureo® (adjuvante).

⁴a aplicação de pesticidas (fungicidas e inseticidas) e dos eliciadores foi realizada utilizando pulverizador costal de precisão pressurizado com CO₂ e um volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹ (100 mL de calda por parcela).

*o controle de ervas daninhas foi feito de forma manual.

**Algomel PUSH® é um produto comercial a base de algas vermelhas produzido com algas da espécie *Solieria chordalis*.

***ASM (Acibenzolar-S-Metil) é registrado junto ao Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA) como um eliciador vegetal sintético produzido e comercializado com a marca Bion® pela empresa Syngenta®.

2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

2.3.1 Parâmetros fisiológicos

Os parâmetros fisiológicos foram mensurados aos 1, 8, 15 e 22 dias após a primeira aplicação dos eliciadores (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após a segunda aplicação dos eliciadores (DA2A). Para a avaliação dos parâmetros fisiológicos foi utilizado um Infra-Red Gas analyzer (IRGA – Lcpro-SD Serial N° 33961 – ADC BioScientific Ltd, Hoddesdon, UK) ajustado para saturação de luz constante ($1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (LI-COR, 2015). Todas as medições foram realizadas entre as 8 – 12 horas da manhã. Os parâmetros diretamente determinados pelo IRGA foram:

- Condutância estomática (GS - $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- Concentração interna de CO_2 ($\text{Ci} - \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$)
- Transpiração (E – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- Taxa Fotossintética Líquida (A – $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Através desses parâmetros foi possível o cálculo da:

- Eficiência instantânea de carboxilação ($\text{A/Ci} - \text{EiC}$)
- Eficiência do uso da água ($\text{A/E} - \text{WUE}$)

Para a medição com o IRGA foram utilizadas três plantas (medições) por parcela. Cada análise foi considerada válida apenas quando da estabilização das leituras realizadas pelo equipamento após a clipagem das folhas (tempo médio de 2 minutos por leitura).

Além desses parâmetros, foi utilizado um leitor de clorofila (atLEAF PLUS Chlorophyll meter – Wilmington, Delaware, USA) para a medição do índice SPAD (medição não destrutiva do teor de clorofila das plantas), realizando-se 10 medições por parcela. Todas as medições, tanto para o IRGA quanto para o clorofilômetro foram realizadas apenas com plantas da linha central de cada parcela, desconsiderando-se as bordaduras e sempre na última folha totalmente distendida.

2.3.2 Parâmetros morfológicos

A altura de 10 plantas aleatórias da linha central de cada parcela foi checada aos 1, 8, 15 e 22 DA1A e aos 1, 8 e 15 DA2A. A medição da altura das plantas foi realizada com a utilização de uma régua convencional com um metro de comprimento

(mesma régua para todas as medições). Para a medição da altura de plantas, foi utilizada sempre a última folha totalmente distendida.

2.3.3 Parâmetros bioquímicos

Foram analisadas as atividades enzimáticas das enzimas CAT, SOD e FAL as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação dos eliciadores (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A) seguindo as metodologias propostas por Monteiro & Lima (2017a, b, c).

- A enzima CAT (MONTEIRO & LIMA, 2017a) foi extraída utilizando-se tampão extrator constituído por fosfato de potássio 100 mM e pH 7,5. Ao tampão extrator foram adicionados 1,3 mM EDTA, 3mM DTT e 0,3 g L⁻¹ PVPP. A determinação da atividade da enzima CAT foi realizada utilizando-se tampão de determinação constituído por fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5, sem adição de EDTA, PVPP e DTT. Solução de 50 mM peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi preparada para determinação da atividade da CAT. Uma amostra de 100 mg de tecido vegetal (folha), mantida em ultra freezer, foi macerada em nitrogênio líquido, adicionada de 2,5 mL de tampão extrator e centrifugada por 25 minutos a 10.000 rpm (centrífuga refrigerada a 4 °C (SIGMA 3-18KS)). A verificação da atividade enzimática da CAT foi realizada em espectrofotômetro (Analytik Jena SPECORD 200 PLUS) (240 nm), verificando-se a extinção do H₂O₂ por um minuto com leituras espaçadas a cada 10 segundos. Todo o processo de extração e quantificação da atividade enzimática foi realizado no “escuro”.
- A enzima SOD (MONTEIRO & LIMA, 2017b) foi extraída utilizando-se tampão extrator constituído por fosfato de potássio 100 mM e pH 7,5. Ao tampão extrator foram adicionados 1,3 mM EDTA, 3mM DTT e 0,3 g L⁻¹ PVPP. A determinação da atividade da enzima SOD foi realizada utilizando-se tampão de determinação constituído por fosfato de sódio 52,5 mM, pH 7,8. Soluções de 0,4 mM NBT, 12,6 mM d EDTA, 20 µM riboflavina e 60 mM metionina também foram produzidas para determinação da SOD. Uma amostra de 100 mg de tecido vegetal (folha), mantida em ultra freezer, foi macerada em nitrogênio líquido,

adicionada de 2,5 mL de tampão extrator e centrifugada por 25 minutos a 10.000 rpm (centrífuga refrigerada a 4 °C (SIGMA 3-18KS)). A verificação da atividade enzimática da SOD foi realizada em espectrofotômetro (Analytik Jena SPECORD 200 PLUS) (560 nm), verificando-se a atividade necessária para inibição de 50% da fotorredução do NBT. Todo o processo de extração e quantificação da atividade enzimática foi realizado no “escuro”.

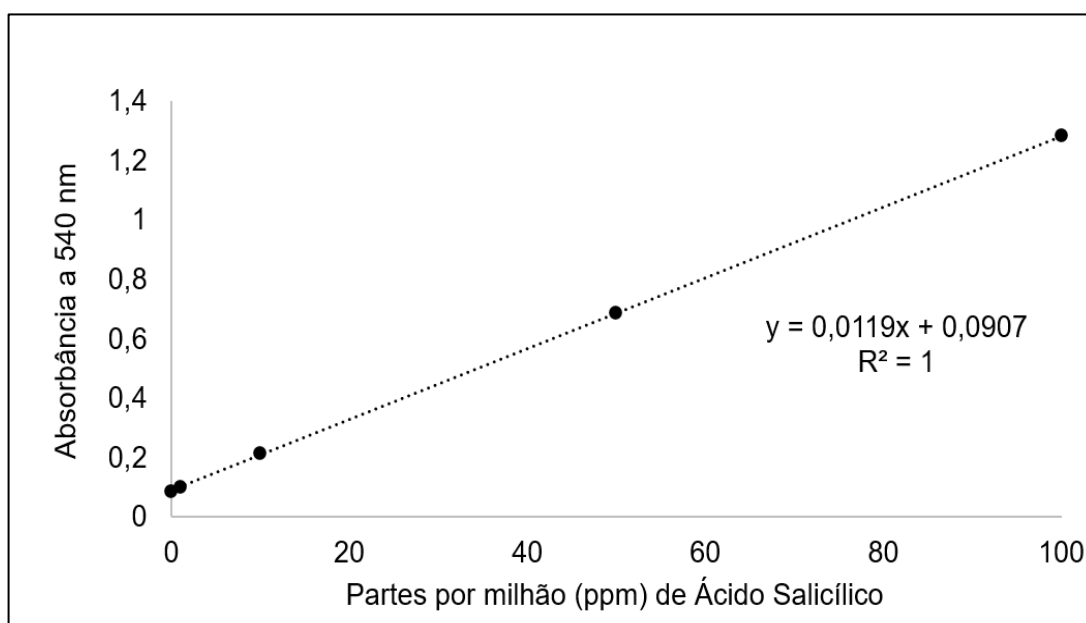
- A enzima FAL (MONTEIRO & LIMA, 2017c) foi extraída utilizando-se tampão extrator constituído por borato de sódio 0,1 mM, pH 8,8 e acrescido de 5% p/v de PVP + 1,2 mL L⁻¹ de β-mercaptoetanol. A determinação da atividade da enzima FAL foi determinada utilizando-se tampão de determinação constituído por borato de sódio 0,2 mM, pH 8,8. Soluções de 0,1 M de fenilalanina e ácido clorídrico (HCl) 6N também foram produzidas para determinação da FAL. Uma amostra de 50 mg de tecido vegetal (folha), mantida em ultra freezer, foi macerada em nitrogênio líquido, adicionada de 5 mL de tampão extrator e centrifugada por 25 minutos a 12.000 rpm (centrífuga refrigerada a 4 °C (SIGMA 3-18KS)). A verificação da atividade enzimática da FAL foi realizada em espectrofotômetro (Analytik Jena SPECORD 200 PLUS) (290 nm), verificando-se a extinção da fenilalanina. Todo o processo de extração e quantificação da atividade enzimática foi realizado no “escuro”.

Também se verificou a concentração interna de ácido salicílico as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação dos eliciadores (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A) para os tratamentos controle negativo, apenas fungicida (3x) e para os tratamentos que receberam a aplicação do bioestimulante Algomel PUSH® + fungicida, seguindo a metodologia proposta por Warriier et al. (2013).

- O AS (WARRIER et al., 2013) foi quantificado utilizando-se tampão extrator constituído por 100 ppm de ácido salicílico e solução de 0,1% de cloreto férrico (FeCL₃). Uma amostra de 100 mg de tecido vegetal (folha), mantida em ultra freezer, foi macerada em nitrogênio líquido, adicionada de 2 mL de tampão extrator (100 ppm AS) e centrifugada por 10 minutos a 10.000 rpm (centrífuga refrigerada a 4 °C (SIGMA 3-

18KS)). Ao entrar em contato com o FeCl_3 o ácido salicílico forma um complexo de coloração violeta possibilitando a medição da extinção do FeCl_3 a 540 nm (Analytik Jena SPECORD 200 PLUS). Uma curva de calibração foi realizada utilizando-se as concentrações de 0, 1, 10, 50 e 100 ppm para determinação do AS. Abaixo, encontra-se a curva de calibração produzida e utilizada para a realização da quantificação de AS nas amostras analisadas.

Figura 4 – Curva de calibração para quantificação de Ácido Salicílico em plantas de trigo. Chapecó, SC, 2021.



2.3.4 Parâmetros fitossanitários

A severidade da doença foliar oídio (*Blumeria graminis*) foi determinada a cada 14 dias com leituras no início do perfilhamento (23/07/2021) até o florescimento (10/09/2021), num total de cinco leituras. Para essas determinações foram checadas 10 plantas da fileira central de cada parcela e atribuída uma porcentagem de incidência em relação a área foliar total das plantas amostradas (DOMICIANO et al., 2013). Após as avaliações, foi determinada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (ROESE et al., 2012).

A severidade de giberela (*F. graminearum*) foi contabilizada iniciando-se a partir do florescimento (GS60) (10/09/2021). As leituras (cinco no total) foram realizadas a cada 7 dias e tiveram sua última análise realizada no dia 08/10/2021. A incidência de

giberela foi determinada checando-se 30 espigas aleatórias da fileira central dentro de cada parcela (STACK; MCMULLEN, 2011) e atribuída uma média geral de incidência. As análises de doenças foliares e de giberela foram todas realizadas entre as 8 e 10 horas da manhã.

2.3.5 Parâmetros agronômicos de rendimento

O peso de mil sementes (PMS), o peso hectolitro (PH) e o rendimento total (kg.ha^{-1}) dos tratamentos foram determinados. O PMS foi obtido contando-se e pesando-se 1000 sementes por parcela experimental (Sanick ESC 2008). O PH foi estimado utilizando-se um recipiente de volume conhecido e extrapolando o valor obtido para volume de um hectolitro. O rendimento total foi estimado colhendo-se a parcela inteira, pesando-se o volume colhido e extrapolando o valor obtido para um hectare. Para o cálculo dos parâmetros agronômicos de rendimento o peso das amostras foi ajustado para umidade padrão de 13%.

2.3.6 Parâmetros qualitativos (patológico e micotoxicológico)

Um total de 200g de grãos de cada parcela foi enviado ao laboratório Mercolab® para serem analisados quanto a contaminação por DON via teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de alta sensibilidade (AgraQuant Deoxynivalenol Assay Kit. Lote 1000007221).

Os testes patológicos foram realizados utilizando-se 100 sementes por parcela. As sementes foram desinfestadas com Hipoclorito de Sódio (NaClO) (50%), transferidas para uma germ-box contendo meio BDA + antibiótico e encubadas por sete dias ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 12 horas fotoperíodo). As sementes foram consideradas infectadas quando crescimento fúngico foi observado. Após encubadas, as sementes foram analisadas em estetoscópio para checar a porcentagem de incidência de *F. graminearum*.

2.3.7 Qualidade de semente

Testes de germinação das sementes provenientes de cada tratamento foram realizados seguindo as metodologias descritas nas Regras para Análise de Sementes (RAS) (MAPA, 2009). Para tanto, utilizou-se substrato do tipo Papel Germitest contendo volume de água equivalente a duas vezes o peso total do substrato utilizado.

Foram realizadas quatro repetições por parcela, cada repetição contendo 50 sementes. Anteriormente ao início dos testes, as sementes foram pré-secadas em estufa de circulação de ar forçada por sete dias (30-35 °C) e então colocadas sob resfriamento (5 – 10 °C) por um período de cinco dias. As sementes foram acondicionadas entre papéis (quatro papéis no total, sendo dois sob as sementes e dois sobre as sementes) e embrulhadas na forma de rolo. Os rolos foram acomodados dentro de bacias plásticas contendo água e colocados em germinador na posição vertical sob temperatura constante de 20 ± 2 °C e ausência de luz. As leituras para plântulas normais, anormais e sementes não germinadas foram realizadas aos 4 e 8 dias após o início do teste.

Testes de vigor das sementes também foram realizados para cada tratamento seguindo o Método de “Comprimento de Plântula” descrito no Manual de Vigor de Sementes: Conceitos e Testes (KRZYZANOWSKI et al., 1999) com modificações. O teste foi conduzido em Papel Germitest (4 folhas) umedecidos com volume de água duas vezes o peso total do substrato utilizado. As sementes, em fileiras únicas, foram acondicionadas na parte superior do Papel Germitest, o papel foi enrolado, e os rolos acomodados na posição vertical dentro de bandejas contendo água. Os rolos, dentro das bandejas, foram então colocados em câmara germinadora sob temperatura constante de 20 ± 2 °C e ausência de luz. A medição do comprimento da parte aérea e da raiz foi realizado utilizando-se régua milimetrada aos 8 dias após instalação do experimento. Foram utilizadas 10 sementes por parcela.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados coletados foram primeiramente submetidos a verificação de outliers (dados que evidentemente se diferenciam dos demais – Teste de Amplitude Interquartílica) com seus respectivos descartes e posteriormente foi verificada a análise de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk Test). Na observância de uma distribuição não normal dos resíduos, os dados foram tratados (tratamentos descritos nas tabelas e figuras caso existam) para aderirem a uma distribuição normal. Dados que, mesmo após tratamento apresentaram distribuição fora de normalidade, foram analisados com testes não-paramétricos.

Dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (One-way-ANOVA) e suas médias, quando significativas (< 5%), foram comparadas pelo teste estatístico Tukey HSD (< 5%). Os dados que apresentaram distribuição fora de

normalidade, mesmo após tratamento, foram submetidos ao teste não paramétrico Kruskal-Wallis e suas médias, quando significativas ($< 5\%$), foram comparadas pelo teste estatístico Friedman Rank Test ($< 5\%$).

Correlações lineares de Pearson foram utilizadas para se verificar as relações entre algumas variáveis avaliadas nesse trabalho. Análises de multivariância (MANOVA) foram realizadas para a verificação da relação de diferentes variáveis dependentes sobre outras variáveis analisadas no trabalho. A Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença também foi calculada para a severidade de oídio utilizando-se integração trapezoidal, conforme demonstrado por Roese et al. (2012).

Todas as análises estatísticas do trabalho em questão foram realizadas via JMP® Pro 14.0.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para facilitar a compreensão dos resultados e evitar um acúmulo exagerado de dados, optou-se por apresentar as variáveis analisadas como média de todas as leituras realizadas. Mesmo assim, os valores médios de cada uma das leituras podem ser encontrados nos apêndices desse trabalho.

3.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Para os parâmetros fisiológicos analisados, diferenças significativas entre as médias dos tratamentos foram encontradas apenas para o parâmetro “Taxa Fotossintética Líquida (A)”. O feito do bloco foi significativo para os parâmetros “Transpiração (E)”, e “Eficiência do Uso da Água” (WUE) (Tabela 4). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice A.

Tabela 4. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do IRGA (Infrared Gas Analyzer). Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Ci	Tratamento	7	168,4328	24,0618	0,6030	0,7507
	Bloco	3	104,0851	34,6950	0,8695	0,4628
	Erro	53	2114,9004	39,9038		
	Total	63	2387,4183			
E	Tratamento	7	1,2962	0,1851	0,8653	0,5398

	Bloco	3	11,7977	3,9325	18,3774	< 0,0001*
	Erro	53	11,3415	0,2139		
	Total	63	24,4354			
Gs	Tratamento	7	0,0182	0,0026	0,6945	0,6763
	Bloco	3	0,0251	0,0083	2,2326	0,0951
	Erro	53	0,1992	0,0037		
	Total	63	0,2426			
A	Tratamento	7	22,8247	3,2606	2,3049	0,0397*
	Bloco	3	5,6704	1,8901	1,3361	0,2725
	Erro	53	74,9765	1,4146		
	Total	63	103,4717			
EiC	Tratamento	7	0,000401	0,000057	2,1379	0,0552
	Bloco	3	0,000094	0,000032	1,1764	0,3275
	Erro	53	0,001420	0,000027		
	Total	63	0,001916			
WUE	Tratamento	7	0,2547	0,0363	0,6706	0,6959
	Bloco	3	2,3429	0,7809	14,3901	<0,0001*
	Erro	53	2,8764	0,0542		
	Total	63	5,4741			

*significativo para o teste F (< 5%). Ci (Concentração interna de CO₂ - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), E (Transpiração - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), GS (Condutância estomática - $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), A (Taxa fotossintética líquida - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), EiC (Eficiência instantânea de carboxilação - A/C_i), WUE (Eficiência do uso da água - A/E).

Ao se analisar o efeito dos tratamentos referentes a variável “Taxa fotossintética líquida” (A), observou-se que os únicos tratamentos que se diferenciaram entre si foram os tratamentos “Apenas fungicida” e “ASM (2x) + Fungicida (3x)”. Os demais tratamentos foram similares entre si e entre os tratamentos “Apenas fungicida” e “ASM (2x) + Fungicida (3x)”.

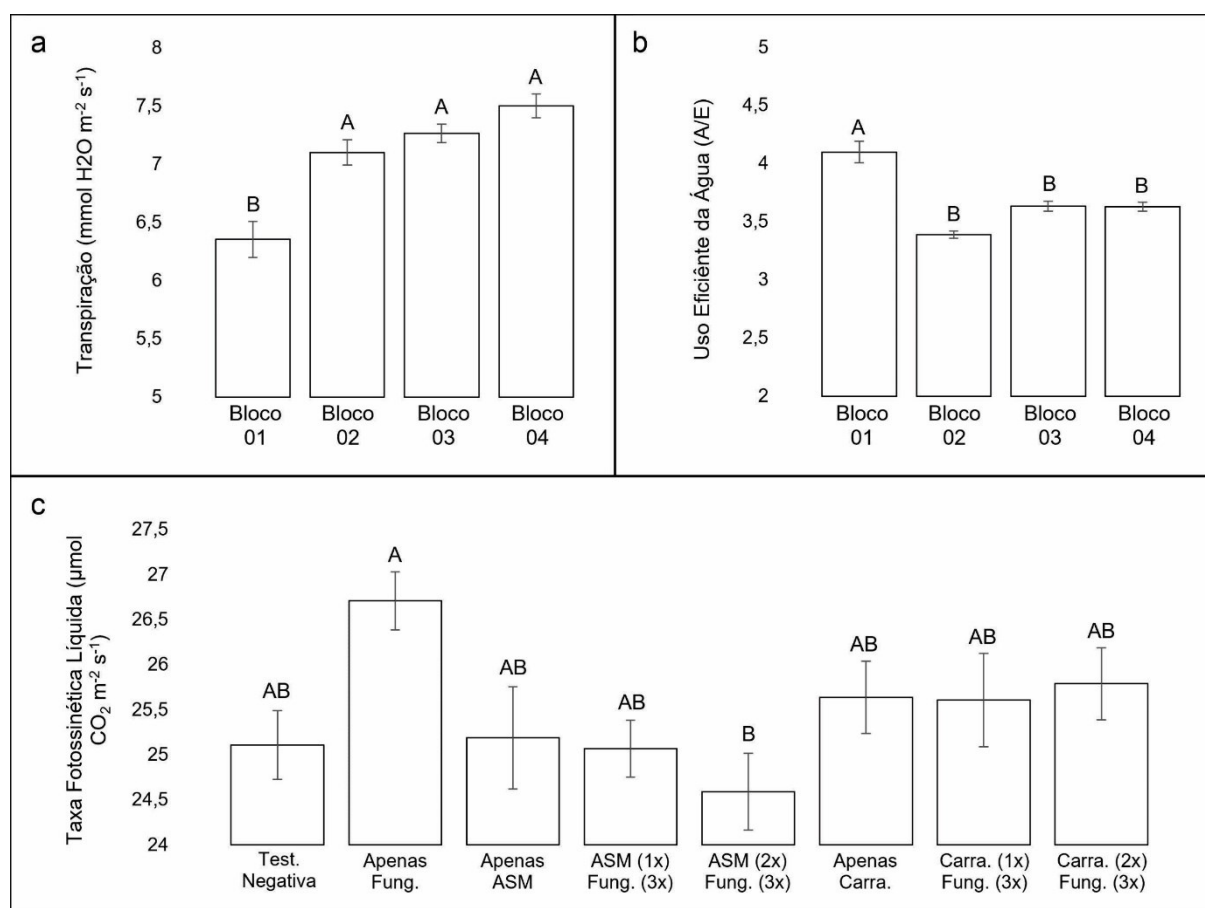
Em relação ao efeito do bloco, o bloco 01 foi o que se diferenciou do demais para ambos os parâmetros. No caso da WUE, o bloco 01 apresentou os maiores valores, se diferenciando estatisticamente dos demais blocos. Para a transpiração (E), o bloco 01 apresentou os menores valores e se diferenciou estatisticamente dos demais. Os demais blocos não se diferenciaram entre si para ambos os parâmetros (Figura 5 a,b,c).

Embora o tratamento “Apenas Fungicida” tenha apresentado um maior valor para a taxa fotossintética líquida, esse valor foi apenas diferente do tratamento “ASM (2x) + fungicida (3x)”. Quando os eliciadores foram utilizados, as taxas fotossintéticas

foram menores e aproximaram-se daquelas observadas para a testemunha negativa. Liu et al. (2021) demonstrou que o uso de fungicidas a base de difenoconazol afetaram o desenvolvimento de plantas de trigo. Esses autores sugerem que o desenvolvimento do trigo foi afetado devido a explosão oxidativa ocasionada pela utilização dos fungicidas (produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) e, consequentemente, a redução de clorofila causada pelas EROs.

O fungicida utilizado no presente trabalho é a base de Trifloxystrobin + Prothioconazole, porém pode também ter afetado de forma negativa a síntese de clorofila e as taxas fotossintéticas das plantas de trigo. Dessa forma, o tratamento “Apenas fungicida” pode ter apresentado uma maior taxa fotossintética líquida em relação ao tratamento “ASM (2x) + fungicida (3x)” apenas como uma coincidência das mensurações realizadas, uma vez que, os outros tratamento que também receberam fungicida apresentaram se estatisticamente similares.

Figura 5 – Diferenças estatísticas entre os blocos para as variáveis “Transpiração” (a) e “Uso eficiente da água” (b), e entre os tratamentos para a variável “Taxa fotossintética líquida” (c). Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



Outro fator que pode ter afetado consideravelmente os resultados reportados para os parâmetros fisiológicos, diz respeito ao desenho experimental do trabalho. Nesse desenho experimental possibilitou-se a intercomunicação entre os diferentes tratamentos através da emissão de VOCs pelas plantas. Trabalhos de eliciação vegetal realizados em campo aberto e/ou com parcelas experimentais pequenas e muito próximas umas das outras tendem a gerar grandes ruídos nos resultados obtidos (Piesik et al. (2013). Por isso, adaptações aos modelos experimentais existentes devem ser consideradas para esses estudos.

Em contrapartida, o índice SPAD foi afetado significativamente pelos tratamentos, assim como pelo bloco (Tabela 5). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice B.

Tabela 5. Resultado da análise de variância para o índice SPAD. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
SPAD	Tratamento	7	83,2586	11,8941	2,3663	0,0228*
	Bloco	3	50,7977	16,9326	3,3688	0,0189*
	Erro	309	1553,1394	5,0263		
	Total	319	1687,1956			

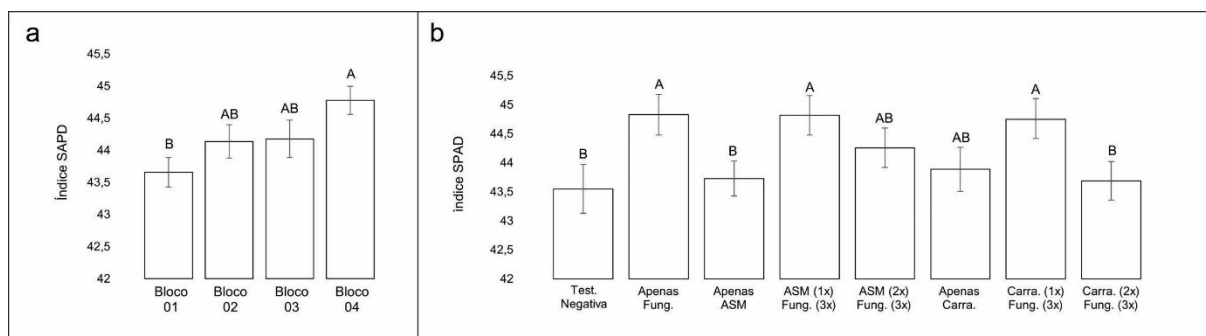
*significativo para o teste F (< 5%).

Conforme pode ser observado na tabela 5, tanto os tratamentos como os blocos tiveram efeitos significativos nos valores reportados para o índice SPAD. O bloco que apresentou os maiores valores de SPAD foi o bloco 04, enquanto o bloco com os menores valores foi o bloco 01. Ao se fazer uma correlação entre as variáveis fisiológicas apresentadas na figura “5a” e “5b” pode se observar que o bloco que apresentou a maior taxa de transpiração também foi o bloco que apresentou os maiores índices SPAD. Da mesma forma, o bloco com o melhor WUE foi o que apresentou os menores índices SPAD. Os blocos 2 e 3 não se diferenciaram estatisticamente dos blocos 1 e 4 para o índice SPAD. Soares et al. (2021) também reportaram maiores índices SPAD para aqueles tratamentos que apresentaram maiores taxas de transpiração.

Já com relação aos tratamentos “apenas fungicida”, “ASM (1x) + fungicidas (3x)” e “Carragena (1x) + fungicidas (3x)”, foram esses os tratamentos com os

melhores valores para o índice SPAD. A utilização de duas aplicações de eliciadores não trouxe benefícios extras às plantas em relação aos parâmetros fisiológicos analisados (Figura 6).

Figura 6 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Índice SPAD. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



3.2 PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

O único parâmetro morfológico analisado neste estudo foi referente à altura das plantas. Na média de todas as leituras realizadas, observou-se uma notável interferência dos tratamentos e dos blocos sob esse parâmetro, conforme apresentado na tabela 6. Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice C.

Tabela 6. Resultado da análise de variância para a altura de plantas. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Altura de Plantas	Tratamento	7	202,6395	28,9485	18,6695	< 0,0001*
	Bloco	3	36,1971	12,0657	7,7814	< 0,0001*
	Erro	309	479,1289	1,5506		
	Total	319	717,9656			

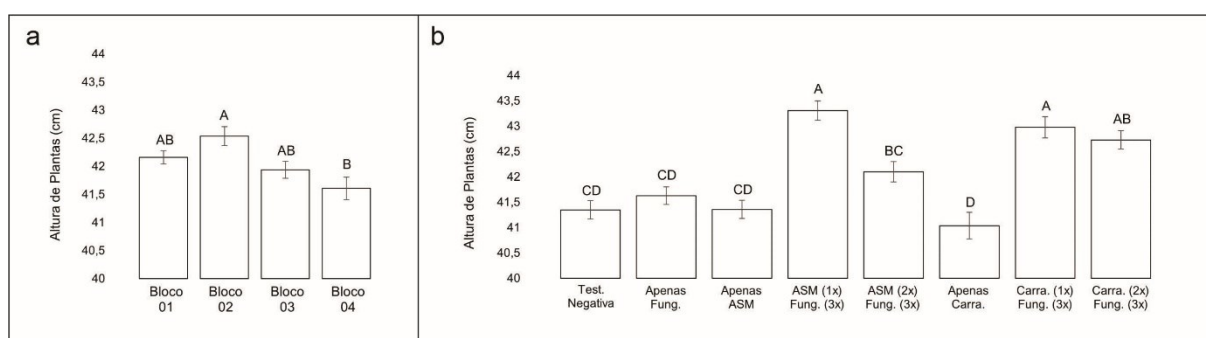
*significativo para o teste F (< 5%).

Os eliciadores apresentaram ótimas respostas para ajudar no incremento da altura das plantas quando aplicados junto aos fungicidas. Entretanto, quando foram aplicados apenas uma única vez, os resultados superaram aqueles observados quando da aplicação repetida dos eliciadores. Görlach e seus colegas (1996) já haviam mencionado que uma única aplicação de eliciadores em plantas de trigo era o

suficiente para condicioná-las durante todo seu ciclo. Também relataram em seus estudos com precursores de ácido salicílico que, múltiplas aplicações de eliciadores poderiam acarretar efeitos contrários àqueles desejados.

Na figura 7, são apresentadas as comparações de médias entre os tratamentos e blocos. O bloco que mais se destacou foi o bloco 02, o qual se diferenciou estatisticamente apenas do bloco 04.

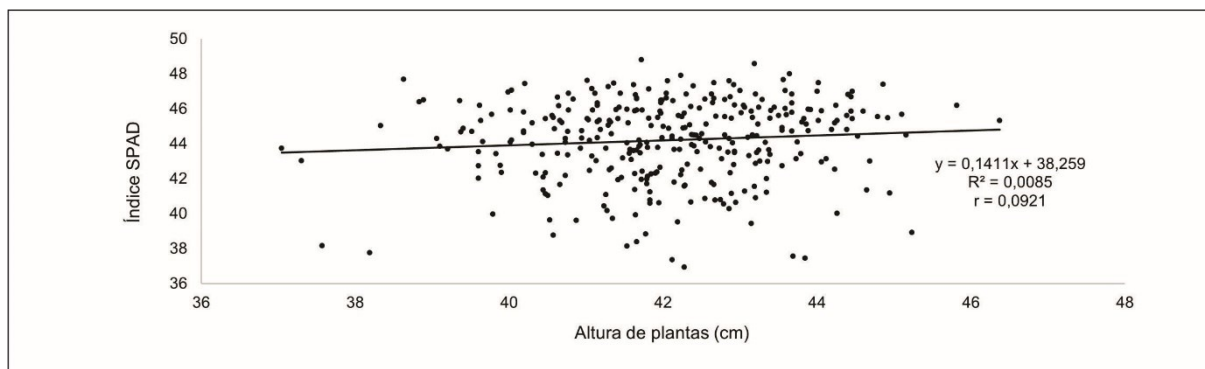
Figura 7 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Altura de Plantas”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



A aplicação de “apenas fungicidas” não surtiu um efeito para o incremento da altura das plantas se comparado aos tratamentos que não receberam aplicações de fungicidas. Para Liu et al. (2021), o uso de fungicidas pode acarretar redução do índice de clorofila nas plantas, o que levaria a uma menor produção de carboidratos e consequentemente, a um desenvolvimento mais lento. Entretanto, isso não foi observado nesse presente estudo, uma vez que as parcelas que receberam fungicidas apresentaram os maiores teores de clorofila (Figura 6).

A constatação de que o bloco 04 e o tratamento “apenas fungicidas”, os quais apresentaram maiores teores de clorofila (Figura 6), e apresentaram plantas com menores portes, pode estar correlacionado a outros fatores que vão além do teor de clorofila. Em uma análise simples entre os parâmetros “altura de plantas” e “índice SPAD”, observou-se que a correlação entre esses valores foi de apenas 9,2%, conforme demonstrado na figura 8.

Figura 8 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Índice SPAD” e “Altura de plantas”. Chapecó, SC, 2021. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. 320 observações.



3.3 PARÂMETROS FITOSSANITÁRIOS

Os parâmetros fitossanitários analisados nesse estudo foram a severidade de oídio e giberela. De acordo com os dados coletados durante o decorrer do estudo, os blocos e os tratamentos influenciaram na severidade do oídio, enquanto a severidade da giberela não foi influenciada por nenhum desses fatores (Tabela 7). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice D.

Tabela 7. Resultado da análise estatística para a severidade de oídio e giberela. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F ¹ ChiSq ²	p valor
Oídio ¹	Tratamento	7	8825,188	1260,74	159,2485	<0,0001*
	Bloco	3	132,542	44,18	5,5806	0,0010*
	Erro	309	2446,296	7,92		
	Total	319	11404,027			
Giberela ²	-	7	-	-	0,0021	1,000

¹dados paramétricos. Análise de variância

²dados não paramétricos. Friedman Rank Test.

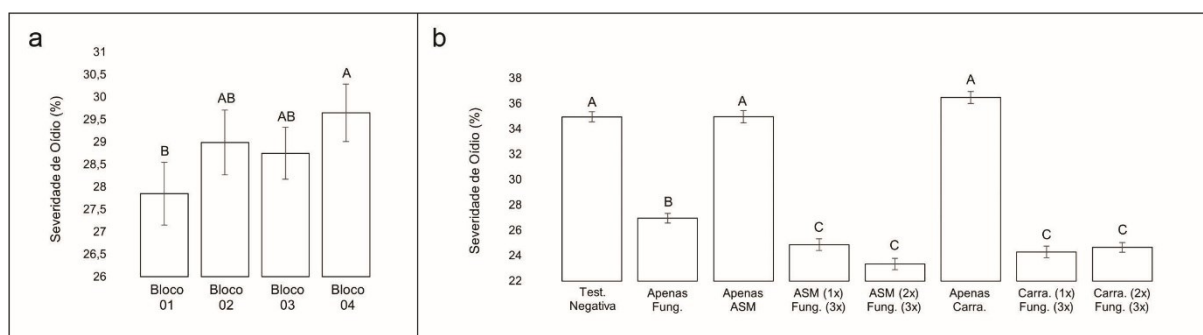
*significativo para o teste F (< 5%).

A não observância de altas infestações de giberela podem estar associadas ao ano seco. Baixas precipitações foram observadas durante o desenvolvimento dos testes, e de acordo com Del Ponte et al. (2004), a ocorrência de giberela em lavouras de trigo é favorecida com temperaturas variando entre 5 – 35 °C e molhamento entre 18 – 72 horas, condições não observadas durante o decorrer dos experimentos.

Em contrapartida, a ocorrência de oídio, por não necessitar de intenso molhamento (COSTAMILAN; SCHEEREN, 2006), se beneficiou das condições

climáticas e foi registrada com altas taxas de severidade durante o decorrer do trabalho. Essa doença é uma das mais comumente encontradas em lavouras tritícolas no Brasil, e pode acarretar perdas de até 62% às lavouras (COSTAMILAN; SCHEEREN, 2006). Na figura 9, são apresentadas as diferenças encontradas entre as médias dos tratamentos e blocos.

Figura 9 – Diferenças estatísticas entre os blocos (a) e tratamentos (b) para a variável “Severidade de Oídio”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.

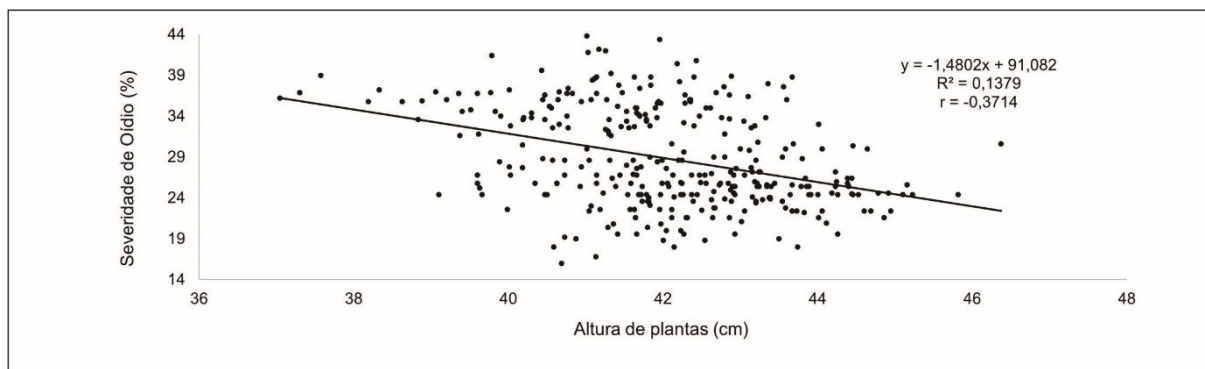


Ambos os eliciadores utilizados durante o estudo, quando em associação à aplicação de fungicidas, apresentaram excelentes resultados para a diminuição média da severidade da doença oídio. Na ausência da aplicação do fungicida, os eliciadores não apresentaram nenhuma vantagem em comparação a testemunha negativa (sem aplicação de fungicidas).

Esse efeito benéfico de eliciadores vegetais para fins de diminuição da incidência e severidade de doenças na cultura do trigo já havia sido reportado diversas vezes na literatura (GÖRLACH et al., 1996; TWAMLEY et al., 2019; DUCATTI, 2021). Conseguimos comprovar os mesmos benefícios durante esse estudo, e mostrar que uma única aplicação de eliciadores é o suficiente para diminuir a severidade da doença durante todo seu ciclo. Ou seja, não houve vantagens da reaplicação dos eliciadores em plantas de trigo.

Quanto ao efeito do bloco, o bloco 04 foi o bloco que apresentou a maior severidade da doença, o que ajudaria a explicar o porquê esse bloco foi também o que apresentou o menor tamanho de plantas (Figura 7). Para melhor entender essa interação, foi rodada uma análise de correlação entre essas variáveis (Figura 10).

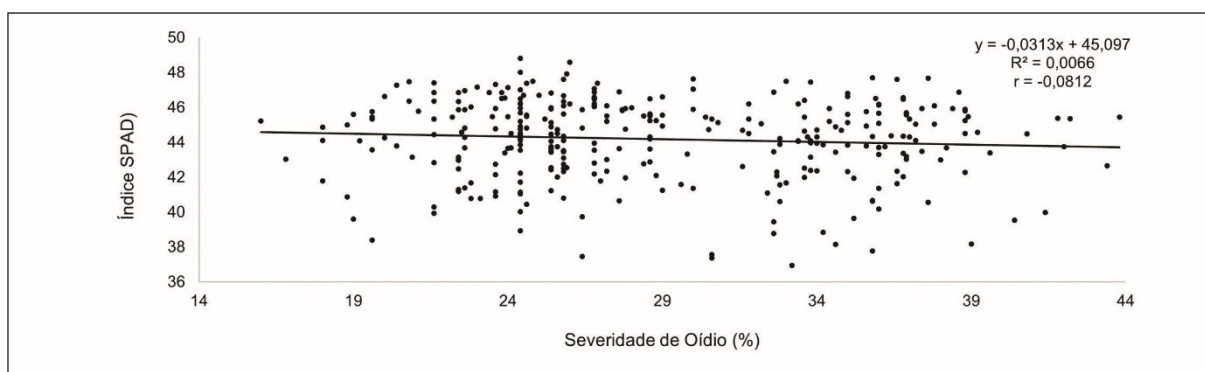
Figura 10 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Oídio” e “Altura de plantas”. Chapecó, SC, 2021. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. 320 observações.



Uma correlação fraca e negativa (-37,1%) foi observada entre as variáveis “severidade de oídio” e “altura de plantas”, demonstrando que existe uma tendência de que as plantas atinjam tamanhos maiores quanto menor for a severidade de oídio sobre elas. Essa mesma tendência, porém, mais forte, já havia sido reportado por Ducatti (2021).

Também foi verificada a correlação existente entre as variáveis “severidade de oídio” e “índice SPAD”. A correlação encontrada entre essas variáveis foi de -8,1% (Figura 11), mostrando que existe uma tendência do índice SPAD ser elevado quando a severidade da doença diminui. Todavia, essa tendência foi muito baixa. Ducatti (2021) havia demonstrado uma correlação entre “índice SPAD” e “severidade de oídio” negativa e maior que 90%. Entretanto, na análise reportada por Ducatti (2021) havia sido levado em consideração apenas 6 pontos, o que reduz drasticamente a confiabilidade da correlação.

Figura 11 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Oídio” e “Índice SPAD”. Chapecó, SC, 2021. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. 320 observações.



A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) também foi calculada para se verificar a progressão da doença nas plantas de trigo (Tabela 8). Conforme a AACPD, os tratamentos que tiveram uma maior progressão e severidade da doença foram aqueles que não receberam fungicidas. A aplicação dos eliciadores junto aos fungicidas também propiciou uma melhora na redução do progresso da doença.

Tabela 8. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para oídio aos 8, 22, 36 e 50 dias após a primeira aplicação dos eliciadores (DA1A) e aos 8 dias após segunda aplicação dos eliciadores (DA2A). Chapecó – SC, 2021.

Tratamento	AACPD Oídio					Equação	R ²
	8DA1A	22DA1A	36DA1A	50DA1A	8DA2A		
Controle negativo	0	2,97	263,72	697,2	1215,90	$y = 1,4979x - 8,6979$	0,9398
Apenas fungicidas (3x)	0	1,75	87,32	474,95	943,42	$y = 1,3498x - 12,19$	0,8792
Carragena (1x)	0	3,32	313,95	751,80	1267,35	$y = 1,4955x - 7,1605$	0,9228
Carragena (1x) + fung. (3x)	0	0,43	61,68	388,58	850,58	$y = 1,276x - 12,701$	0,8718
Carragena (2x) + fung. (3x)	0	0,08	69,03	417,63	862,83	$y = 1,2642x - 12,009$	0,8742
ASM (1x)	0	4,02	287,52	700,87	1220,10	$y = 1,4773x - 7,9823$	0,9395
ASM (1x) + fung. (3x)	0	0,87	62,47	408,80	870,62	$y = 1,295x - 12,68$	0,8686
ASM (2x) + fung. (3x)	0	0,52	60,02	420,52	817,07	$y = 1,1766x - 10,777$	0,8456

R²: coeficiente de determinação da reta

A equação apresentada na tabela 8 foi calculada tomando como base a severidade da doença notada em cada uma das leituras. O objetivo desse calculado foi analisar o coeficiente angular médio da severidade da doença, ou seja, quão agressiva a progressão da doença foi em decorrência dos tratamentos utilizados. Da mesma forma, o coeficiente de determinação (R²) da reta nos indica que, quanto mais próximo de 1,0 (100%) menores foram as interferências causadas na progressão da doença.

Assim, podemos de diferentes formas, observar que os tratamentos com carragena e/ou ASM em combinação com os fungicidas foram os que apresentaram os menores coeficientes angulares de severidade/progresso da doença, assim como as menores AACPD e os menores coeficientes de determinação, indicando que a combinação desses produtos desacelerou o progresso da doença.

3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Na média geral, tanto as atividades enzimáticas quanto a quantificação de ácido salicílico nas plantas não apresentaram diferenças estatísticas entre si (Tabela

9). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados nos Apêndices E e F.

Tabela 9. Resultado da análise de variância para os parâmetros bioquímicos analisados. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Catalase (CAT)	Tratamento	7	17,3240	2,47486	0,6302	0,7309
	Erro	304	1193,8781	3,92723		
	Total	311	1211,2021			
Superóxido Dismutase (SOD)*	Tratamento	7	91,1026	13,0147	1,6967	0,1094
	Erro	292	2239,7441	7,6704		
	Total	299	2330,8467			
Fenilalanina Amônia Liase (FAL)	Tratamento	7	0,076757	0,010965	1,9982	0,0551
	Bloco	304	1,668250	0,005488		
	Total	311	1,745008			
Ácido Salicílico (AS)**	Tratamento	3	1,586775	0,528925	0,9783	0,4056
	Bloco	116	62,714259	0,540640		
	Total	119	64,301034			

*um total de 12 leituras foram descartadas por terem sido identificadas como *outliers* (Teste de Amplitude Interquartilica)

**não levou em consideração os tratamentos que utilizaram o ASM

A ausência de uma significância estatística entre a média dos tratamentos pode ser explicada por diferentes fatores. Um deles, diz respeito ao desenho experimental do trabalho. Ao serem eliciadas, as plantas ativam seu metabolismo especializado para se condicionar contra possíveis fatores estressantes que possam atingi-las. Nesse condicionamento, muitos metabólitos voláteis (VOCs) são emitidos pelas plantas (BALDWIN, 2010), e acabam afetando plantas vizinhas (PIESIK et al., 2013; DUCATTI, 2023).

Dessa forma, tratamentos controle também são afetados e acabam sendo eliciados por VOCs emitidos por plantas/parcelas vizinhas. Essa eliciação ocorre através de mecanismos ainda não elucidados (LORETO & DÁURIA, 2022). O que se sabe, é que muitas vezes os VOCs possuem uma ação eliciadora muito maior do que compostos simples, como por exemplo o ASM e a carragena, pois chegam às plantas vizinhas na forma de um conjunto de diferentes compostos voláteis, os quais acabam

eliciando plantas através de diferentes mecanismos e rotas (BRAMBILLA et al., 2022; LORETO & DÁURIA, 2022).

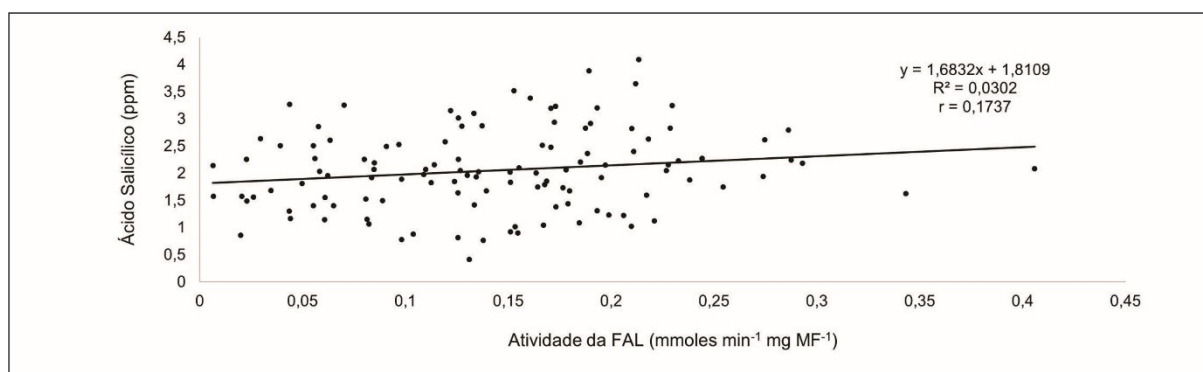
As enzimas CAT e SOD são enzimas que estão ligadas aos primeiros mecanismos de defesa vegetal, ou seja, estão condicionadas à explosão oxidativa causada por fatores estressantes e/ou eliciadores, uma vez que, essas enzimas são fundamentais para a eliminação de espécies reativas ao oxigênio (EROs) (TAIZ & ZEIGER, 2017). Já a enzima FAL, não está atrelada à eliminação de EROs, mas sim na produção de uma gama de compostos fenólicos de crescimento e defesa vegetal (DUCATTI, 2023).

Essa enzima tem como papel fundamental a quebra do aminoácido fenilalanina, proveniente da rota do ácido chiquímico, em ácido trans-cinâmico para dar origem a uma gama de mais de 10.000 compostos fenólicos conhecidos, dentre eles, o ácido salicílico (TAIZ & ZEIGER, 2017).

Uma das hipóteses desse trabalho é que a carragena poderia propiciar uma ação de longa duração de eliciação em plantas de trigo, e que, em contrapartida, isso acarretaria em maiores e mais constantes produções de AS nas plantas. Dessa forma, o AS agiria frente ao metabolismo fúngico para reduzir estresses e consequentemente diminuir a síntese de micotoxinas produzidas por esses organismos.

Assim, se esperava ver uma correlação positiva e forte entre a atividade da FAL e a síntese de AS pelas plantas. Essa correlação foi checada para os dados obtidos no presente estudo (Figura 12).

Figura 12 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Atividade da FAL” e “Ácido Salicílico”. Chapecó, SC, 2021. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. 120 observações.



De acordo com Pál et al. (2020) os teores de AS reportados nesse estudo estão dentro das concentrações médias esperadas para plantas de trigo. Mesmo assim, não

foi observada uma correlação forte entre a atividade da FAL e os teores de AS (17,3%) produzidos pelas plantas de trigo. Isso pode ter ocorrido pela possível intercomunicação entre os tratamentos (VOCs), o que pode ter gerado grandes ruídos nos dados coletados, e por que uma maior atividade da enzima FAL não necessariamente significa que a planta sintetizará AS, uma vez que essa rota pode dar origem a mais de 10.000 compostos fenólicos conhecidos.

Ao ser produzido pelas plantas, o AS é rapidamente convertido em um componente volátil (VOC), o composto Metil-Salicilato (MeSA) através de um processo denominado metilação. Por isso, apesar das concentrações reportadas na figura 12 estarem de acordo com as concentrações médias encontradas em plantas de trigo, acredita-se que essas concentrações não necessariamente indiquem a real concentração de AS nas plantas (não identifica suas variantes, como por exemplo o MeAS).

3.5 PARÂMETROS QUALITATIVOS (PATOLÓGICO E MICOTOXICOLÓGICO)

As análises realizadas para a caracterização da qualidade patológica e micotoxicológica das sementes/grãos produzidos em cada parcela revelaram a inexistência de diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos. Os blocos também não tiveram influência nos resultados para a variável Desoxinivalenol nas sementes/grãos. Entretanto, os blocos influenciaram a resposta da incidência de *Fusarium* nas sementes/grãos (Tabela 10). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice G.

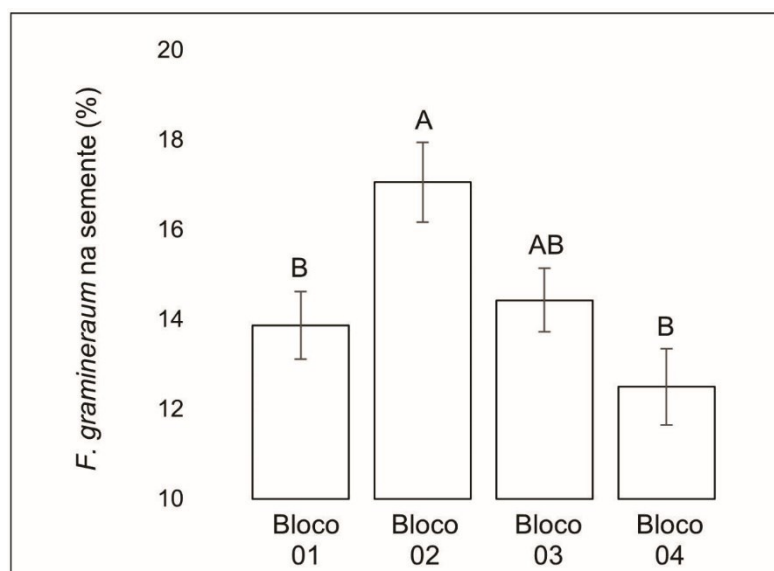
Tabela 10. Resultado da análise de variância para a incidência de *Fusarium* e a presença de Desoxinivalenol (DON) nas sementes/grãos de trigo. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
<i>Fusarium graminearum</i> na semente	Tratamento	7	54,96875	7,8527	1,7955	0,1413
	Bloco	3	87,65625	29,2188	6,6808	0,0024*
	Erro	21	91,84375	4,3735		
	Total	31	234,46875			
DON	Tratamento	7	37371,88	4810,3	0,7081	0,6657
	Bloco	3	40959,38	13653,1	2,0097	0,1434
	Erro	21	142665,63	6793,6		
	Total	31	217296,88			

*significativo para o teste F (< 5%).

Ao se analisar a significância dos blocos sob o parâmetro *Fusarium* nas sementes/grãos, foi verificado que o bloco que apresentou maior presença de *Fusarium* nas sementes/grãos colhidos foi o bloco 02, com incidência média de 17,06% (Figura 13).

Figura 13 – Diferenças estatísticas entre os blocos para a variável “Incidência de *Fusarium* nas sementes/grãos”. Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.

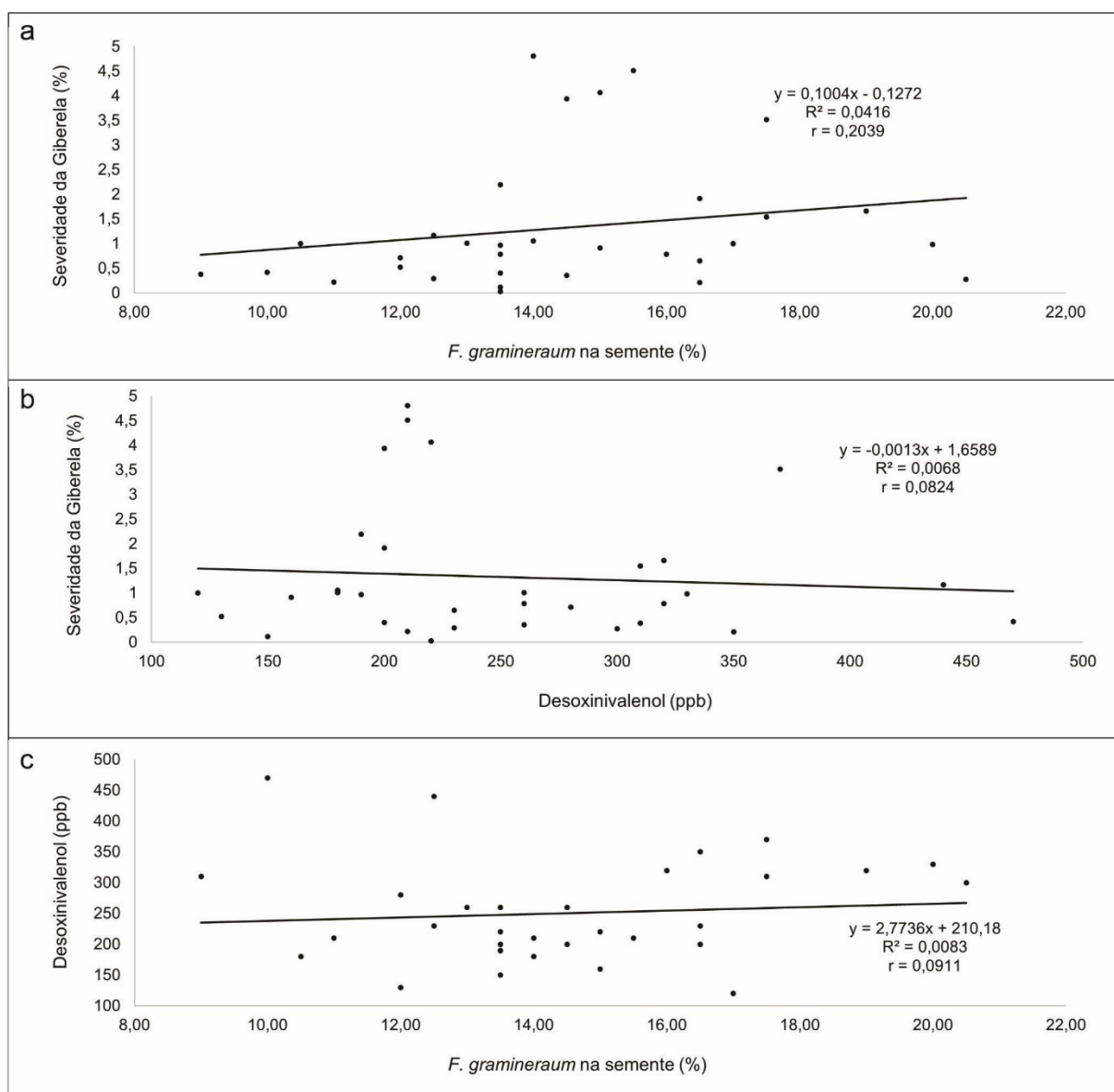


Talvez por apresentar parcelas localizadas em locais com menor circulação de ar, o que levaria a um maior acúmulo de umidade e maiores temperaturas, os blocos 02 e 03 foram os que apresentaram maiores quantidades de *Fusarium* nas sementes/grãos colhidos (Figura 13). Já os blocos 01 e 04, que estavam dispostos nos extremos da área experimental, e assim estavam expostos a uma maior circulação de ar, tiveram uma menor incidência de *Fusarium* nas sementes.

Em decorrência do ano seco (Tabela 2), não foram observadas grandes contaminações por *F. graminearum* e por DON nos grãos/sementes de trigo analisados. Os níveis detectados de DON para as amostras enviadas ao laboratório mostraram que o ano de 2021 foi um ano extremamente satisfatório para a produção de trigo de excelente qualidade (trigo plantado sob as condições meteorológicas reportadas na Tabela 2).

Não obstante, e buscando melhor compreender a correlação existente entre “Severidade de Giberela”, “presença de *F. graminearum* em grãos/semantes colhidas” e “contaminação de semantes/grãos por DON”, foram realizadas análises de correlação para esses parâmetros (Figura 14 a,b,c).

Figura 14 – Correlação de Pearson entre as variáveis “Severidade de Giberela” vs. “*F. graminearum* na semente” (a), “Severidade de Giberela” vs. “DON na semente” (b) e “DON na semente” vs. “*F. graminearum* na semente” (c). Chapecó, SC, 2021. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. 32 observações.



Conforme já exposto por diferentes autores (WEGULO, 2012; PONTE et al., 2012; DUCATTI et al., 2022), a correlação existente entre “Severidade de Giberela” vs. “Desoxinivalenol” tende a ser muito fraca e insignificante. Nesse presente trabalho

essa correlação foi de apenas 8,2%. Isso indica que, a presença da doença não necessariamente acarretará a síntese de DON. Essa observação vai de encontro com o trabalho de Ponts (2015), o qual defende que a síntese de DON por *F. graminearum* é decorrente da existência de fatores estressantes ao fungo. Ou seja, ao ser desafiado, o fungo, como forma de defesa, tende a produzir micotoxinas.

Como o ano de 2021 foi um ano seco, não se constatou grande presença de giberela nas parcelas, assim como não se constatou grande presença de *F. graminearum*, muito menos de DON nos grãos/sementes colhidas. Entretanto, quando se analisou a correlação entre “*F. graminearum* nos grãos/sementes” vs. “Desoxinivalenol”, percebeu-se uma correlação mais forte, porém, ainda assim fraca (9,1%). Isso indica que ao rodar estimativas da possível contaminação de sementes/grãos por DON, a melhor forma seria através da análise da quantidade de *Fusarium* na semente/grão, e não através da quantificação da incidência e/ou severidade de giberela a campo.

Não obstante, pode-se verificar que a quantificação da severidade de giberela a campo também é um fraco indicativo para a predição da quantidade de *Fusarium* que a semente/grão poderá ter após a colheita (20,3%), mas, são técnicas extremamente favoráveis para a tomada de decisão quanto ao controle da doença a nível de campo.

3.6 PARÂMETROS AGRONÔMICOS DE RENDIMENTO

Em relação aos parâmetros agronômicos de rendimento, observou-se que o uso dos eliciadores não proporcionou ganhos significativos em relação ao tratamento “apenas fungicida (3x)”. Entretanto, houve diferenças entre os tratamentos, conforme demonstrado na tabela 11. Os parâmetros produtividade, PH e PMS não foram afetados significativamente pelos blocos, porém, a produtividade e o PMS mostraram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos. Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice H.

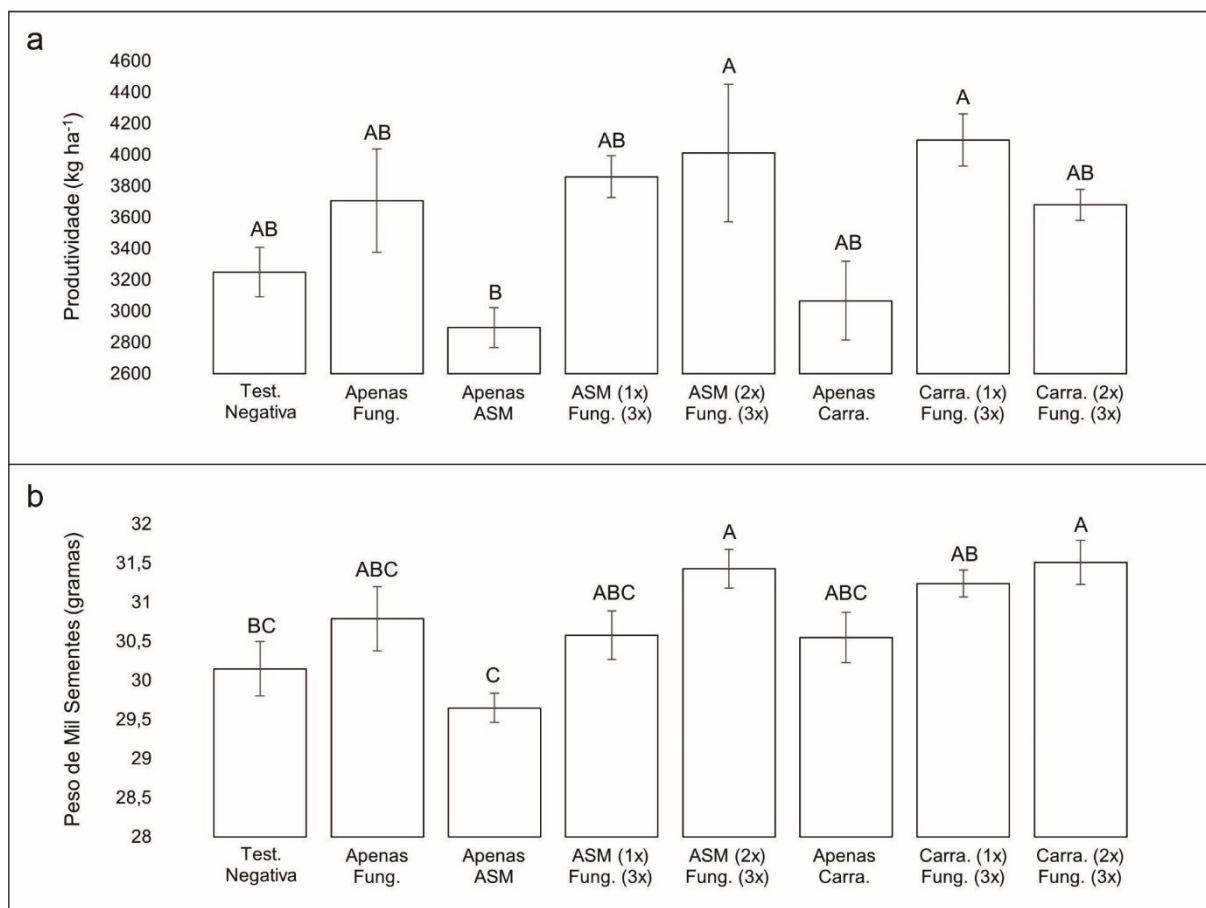
Tabela 11. Resultado da análise de variância para a produtividade, peso de mil sementes (PMS) e peso hectolitro (PH). Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Produtividade	Tratamento	7	5594176	799168	3,8249	0,0078*
	Bloco	3	1161109	387036	1,8524	0,1687
	Erro	21	4387748	208940		
	Total	31	11143032			
PMS	Tratamento	7	11,618205	1,65974	5,7803	0,0008*
	Bloco	3	2,367899	0,78930	2,7488	0,0684
	Erro	21	6,029948	0,28714		
	Total	31	20,016053			
PH	Tratamento	7	2,6018460	0,371692	1,9476	0,1121
	Bloco	3	0,2970420	0,099014	0,5188	0,6739
	Erro	21	4,0078460	0,190850		
	Total	31	6,9067340			

*significativo para o teste F (< 5%).

Embora não se tenha notado diferenças significativas para o PH, esse demonstrou-se satisfatório principalmente em decorrência do ano mais seco. A média dos valores de PH para todos os tratamentos foi de 78,05. Em relação a produtividade, pode-se afirmar que, em campo aberto, o uso de fungicidas é extremamente essencial para se atingir produtividades e PMS mais elevados (Figura 15).

Figura 15 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Produtividade” (a) e “Peso de Mil Sementes (PMS)” (b). Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



Por mais que o uso dos eliciadores não tenham apresentado uma resposta significativa para os parâmetros de rendimento agrônomo, vale salientar que seus usos trazem diversas vantagens para os vegetais que vão além de apenas produtividade. Dentre elas, pode-se destacar o aumento nas taxas fotossintéticas, na atividade de enzimas de defesa, no crescimento vegetal (SAUCEDO et al., 2015; DUCATTI et al., 2021) e na diminuição do progresso de doenças como o oídio (demonstrado anteriormente).

Conforme já mencionado, a não observância de efeitos benéficos em relação a produtividade das culturas após o uso de eliciadores vegetais, está muito mais correlacionada ao “*down-regulation*” ocasionado pela adaptabilidade genética

(penalidade adaptativa) das plantas do que propriamente dito ao uso desses compostos (PIESIK et al., 2013).

Outro fator que pode ter afetado significativamente a resposta ao uso dos eliciadores foi as condições em que o experimento foi conduzido, conforme já mencionado anteriormente. O uso dobrado dos eliciadores não trouxe benefícios extras às plantas.

Com o objetivo de identificar se as variáveis analisadas nesse trabalho tiveram efeito significativo sobre a produtividade da cultura, análises de correlação de Pearson e de multivariância foram conduzidas (Tabela 12).

Tabela 12 – Correlações e análises de bi- e multivariância (MANOVA) em relação ao parâmetro produtividade. Chapecó, SC, 2021.

Correlações	r
Produtividade vs. PMS	0,3361
Produtividade vs. PH	-0,5743
Produtividade vs. Severidade de oídio	-0,6612
Produtividade vs. Severidade de giberela	-0,3238
Produtividade vs. Altura de plantas	0,4097
Produtividade vs. Índice SPAD	0,3252
Análise de Multivariância sobre a produtividade	<i>p-valor</i>
Severidade de oídio * Severidade de giberela	0,7271
Severidade de oídio * Altura de plantas	0,4124
Severidade de oídio * Índice SPAD	0,3731
Severidade de giberela * Altura de plantas	0,2118
Severidade de giberela * Índice SPAD	0,4632
Altura de plantas * Índice SPAD	0,2050
Severidade de oídio * Severidade de giberela * Altura de plantas	0,6790
Severidade de oídio * Severidade de giberela * Índice SPAD	0,3208
Severidade de oídio * Altura de plantas * Índice SPAD	0,7306
Severidade de giberela * Altura de plantas * Índice SPAD	0,2495
Severidade de oídio * Severidade de giberela * Altura de plantas * Índice SPAD	0,5412

De acordo com os dados apresentados na tabela 12, pode-se observar que as correlações mais fortes existentes para com a variável produtividade foram as variáveis PH e incidência de oídio.

Não é novidade que a incidência e a severidade de diferentes doenças afetam a produtividade. Nesse caso, a severidade do oídio afetou a produtividade em

praticamente 66%, indo de encontro com a informação reportada por Costamilan & Scheeren (2006), os quais informaram que as perdas acarretadas pelo oídio podem chegar a até 62% em lavouras de trigo.

No caso do PH, embora a correlação tenha sido negativa e acima de 50%, acredita-se que essa correlação seja uma mera coincidência frente as condições encontradas durante o experimento, principalmente àquelas relacionadas ao clima. Isso por que, está muito bem estabelecido na literatura que o PH influencia a produtividade de forma positiva (SURMA et al., 2012), e não negativa como foi verificado no presente trabalho.

Para a severidade da giberela, embora a correlação tenha sido menor que 50%, considerada uma correlação fraca, ela vai de encontro com o reportado por Reis et al. (2016), os quais associaram perdas médias entre 18,6 – 39,9% devido a incidência de giberela em campos tritícolas brasileiros.

Em relação as análises de multivariância realizadas, não se observou nenhuma significância entre a interação das variáveis descritas na tabela 12 sobre a produtividade.

3.7 QUALIDADE DE SEMENTE

Ao avaliar se o uso dos eliciadores poderia de alguma forma influenciar na qualidade das sementes produzidas, foram realizados testes de germinação e vigor das sementes colhidas de cada parcela (Tabela 13). Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice I e J.

Tabela 13. Resultado da análise de variância para a germinação, sementes não germinadas (SNG), Plântulas normais e Plântulas anormais. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Germinação	Tratamento	7	87,34375	12,4777	0,6979	0,6889
	Bloco	3	114,84375	38,2813	0,2098	0,1335
	Erro	21	386,53125	18,4063		
	Total	31	588,71875			
SNG	Tratamento	7	87,34375	12,4777	0,6979	0,6889
	Bloco	3	114,84375	38,2813	0,2098	0,1335
	Erro	21	386,53125	18,4063		
	Total	31	588,71875			

	Tratamento	7	163,75000	23,3929	1,1177	0,3888
Plântulas	Bloco	3	39,625000	13,2083	0,6311	0,6031
normais	Erro	21	439,50000	20,9286		
	Total	31	642,87500			
	Tratamento	7	50,71875	7,2455	0,8240	0,5786
Plântulas	Bloco	3	39,84375	13,2813	1,5104	0,2409
anormais	Erro	21	184,65625	8,7932		
	Total	31	275,21875			

*significativo para o teste F (< 5%).

O uso, tanto dos eliciadores quanto dos fungicidas, em combinação ou não, não tiveram efeitos significativos sobre a germinação das sementes. A baixa incidência de giberela nas espigas pode ter influenciado esses resultados. De acordo com Taiz e Zeiger (2017), a germinação é um processo que depende apenas de fatores como água, temperatura, oxigênio, luz e nitrato.

Entretanto, sementes gibereladas (grãos chochos, esbranquiçados, roseados, etc.) possuem sua germinação, emergência e vigor significativamente alteradas, conforme demonstrado por Gilbert e Tekauz (1995). Durante os testes, verificou-se que as sementes oriundas das parcelas desse trabalho não tiveram sua germinação afetada, o que indica e vai de acordo com a baixa infecção das espigas por giberela, conforme demonstrado anteriormente.

É importante salientar que, a presença de *Fusarium* sp. e/ou outros patógenos nas sementes podem influenciar seu estabelecimento e vigor, mas não necessariamente sua germinação (KRZYZANOWSKI, VIEIRA & NETO, 1999; TAIZ & ZEIGER, 2017).

Conforme demonstrado na tabela 13, não houve efeito dos blocos nem dos tratamentos sobre os parâmetros de germinação, SNG, plântulas normais e anormais. Entretanto, quando o vigor das sementes foi analisado via comprimento da parte aérea e comprimento radicular, efeitos significativos foram observados em decorrência do uso dos diferentes tratamentos (Tabela 14).

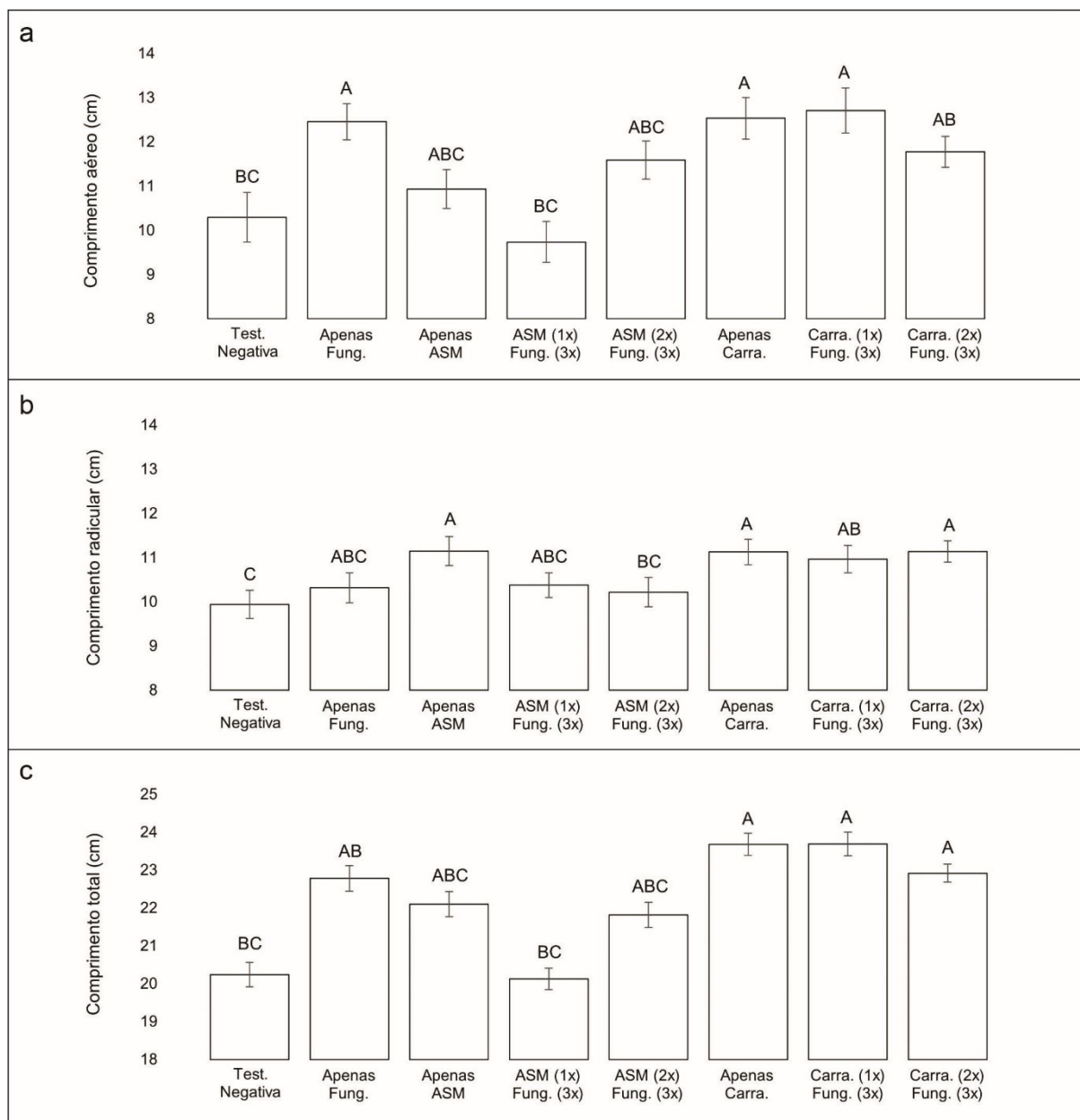
Tabela 14. Resultado da análise de variância para o comprimento radicular, comprimento aéreo e comprimento total de plântulas de trigo. Chapecó – SC, 2021.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Comprimento radicular	Tratamento	7	67,5126	9,64465	2,4854	0,0170*
	Erro	312	1210,7309	3,88055		
	Total	319	1278,2435			
Comprimento aéreo	Tratamento	7	336,2127	48,0304	5,5803	<0,0001*
	Erro	312	2685,4498	8,6072		
	Total	319	3021,6625			
Comprimento total	Tratamento	7	540,7496	77,2499	5,1488	<0,0001*
	Erro	312	4681,1071	15,0035		
	Total	319	5221,8567			

*significativo para o teste F (< 5%).

Os testes de vigor mostraram que existe uma diferença significativa entre os tratamentos utilizados no experimento. Para melhor compreender essa diferença foi realizada uma análise *post-hoc* para a comparação das médias dos tratamentos para os diferentes parâmetros apresentados na tabela 13. Essas análises são apresentadas na figura 16.

Figura 16 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Comprimento aéreo” (a), “Comprimento radicular” (b) e “Comprimento total” (c). Chapecó, SC, 2021. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



Analisando a figura 16, fica evidente a importância da utilização de fungicidas para a obtenção de plantas mais saudáveis e que possibilitem maiores ganhos quantitativos e qualitativos. Entretanto, observa-se também que, a utilização de eliciadores sozinhos (sem fungicidas), também podem proporcionar ganhos qualitativos às sementes, quando comparados as parcelas que não receberam nenhum tratamento.

Com o objetivo de verificar se a presença de “*Fusarium* na semente” afetou de forma significativa o vigor das sementes, e tentando justificar o exposto acima, de que a presença de patógenos nas sementes pode acabar influenciando o vigor das mesmas, foram realizadas análises de correlação entre “*Fusarium* na semente” e o “comprimento de raiz”, “comprimento da parte aérea” e “comprimento total” (Tabela 15).

Tabela 15 – Correlação entre “comprimento de raiz”, “comprimento da parte aérea” e “comprimento total” vs. “*Fusarium* na semente”, e análise de multivariância entre a incidência de “*Fusarium* na semente” vs. “comprimento de raiz”, “comprimento da parte aérea” e “comprimento total” em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2021.

Correlações	r
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento radicular	-0,4738
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento aéreo	-0,3994
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento total	-0,4824
	<i>p-valor</i>
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento radicular	0,2356
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento aéreo	0,3269
<i>Fusarium</i> na semente vs. Comprimento total	0,2261

De acordo com a informação apresentada na tabela 15, pode se verificar uma tendência da diminuição do vigor quando da presença de *Fusarium* na semente. Embora essa correlação tenha sido menor que 50%, ela foi observada em todas as correlações realizadas. Essa observação vai de encontro com o exposto por Gilbert e Tekauz (1995), os quais relataram que sementes gibereladas e com a presença de *Fusarium* possuem seu vigor afetado.

Por mais que essa tendência exista, não se observou uma significância entre a variável “*Fusarium* na semente” com as variáveis “comprimento de raiz”, “comprimento aéreo” e “comprimento total”, conforme dados apresentados na tabela 15 (*p-valor*). Dessa forma, não podemos afirmar que o vigor das sementes foi afetado pela presença de *Fusarium* nesse estudo. Essa diferença em vigor, relatada na figura 16, pode estar atrelada a outros fatores não analisados no decorrer do trabalho.

4. CONCLUSÕES

O uso dos eliciadores em conjunto com os fungicidas proporcionaram reduções significativas na severidade e no progresso da doença oídio sobre as plantas de trigo,

podendo dessa forma, ser recomendado para tal. Da mesma forma, o uso dos eliciadores ajudaram as plantas a atingirem maiores alturas, e a produzirem grãos/sementes com maior qualidade (vigor). Entretanto, essa foi uma das únicas respostas positivas observadas nesse estudo. Isso pode estar correlacionado as condições meteorológicas, ao número de tratamentos e ao desenho experimental utilizado no trabalho em questão.

Estudos de eliciação vegetal realizados em campo aberto e com parcelas muito próximas umas das outras, tendem a apresentar dados com muitos ruídos, o que pode levar a más interpretações e gerar conclusões errôneas. A não observância de diferença nas atividades enzimáticas assim como nos parâmetros fisiológicos das plantas são indicativos de que pode ter ocorrido grande interferência entre os tratamentos, possivelmente em decorrência de VOCs.

Dessa forma, por mais que se tenha observado benefícios da utilização do ASM e da carragena sob diversos parâmetros analisados no decorrer desse estudo, recomenda-se que estudos similares sejam realizados em ambientes totalmente controlados e com a utilização de barreiras físicas entre os tratamentos, buscando diminuir ao máximo a possível interferência que possa ocorrer entre os diferentes tratamentos sendo estudados.

5. REFERÊNCIAS

BALDWIN, I. T. Plant volatiles. **Current Biology**, v. 20, p. 392-397, 2010.

BRAMBILLA, A.; SOMMER, A.; GHIRARDO, A.; WENIG, M.; KNAPPE, C.; WEBER, B.; AMESMAIER, M.; LENK, M.; SCHNITZLER, J. P.; VLOT, A. C. Immunity-associated volatile emissions of b-ionone and nonanal propagate defence responses in neighbouring barley plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 615-630, 2022.

CORKLEY, I.; FRAAIJE, B.; HAWKINS, N. Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. **Plant Pathology**, v. 71, p. 150-169, 2022.

COSTAMILAN, L.M.; SCHEEREN, P.L. **Comportamento de genótipos de trigo, oriundos do Paraná, quanto à severidade de oídio, na safra 2006**. Embrapa Trigo: Documento online. 2006. Disponível em:

<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do65_1.htm>. Acesso em: 30 de jan. de 2023.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do Trigo – Aspectos Epidemiológicos e Modelos de Previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 587-605, 2004

DIXON, J.; BRAUN, H.-J.; KOSINA, P.; CROUCH, J. **Wheat Facts and Futures 2009**. Mexico, D.F.: CIMMYT, 2009.

DOMICIANO, G. P.; DUARTE, H. S. S.; MOREIRA, E. N.; RODRIGUES, F. A. Development and validation of a set of standard area diagrams to aid in estimation of spot blotch severity on wheat leaves. **Plant Pathology**, Artigo 12150, 2013

DUCATTI, R. D. B. **Carragena como eliciadora em trigo e sua ação na biossíntese de desoxinivalenol por *Fusarium graminearum***. 79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Proteção de Plantas), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2021.

DUCATTI, R. D. B. Plant Elicitation: The Generation of Misleading and Biased Information. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 3785-3788, 2023.

DUCATTI, R.D.B.; TIRONI, S. P.; WORDELL-FILHO, J. A.; MAZARO, S. M. Carrageenan as an elicitor of wheat's mechanisms of defense. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 8, p.1-11, 2022.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTATS: **Wheat**. 2023. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2023.

GILBERT, J. TEKAUZ, A. Effects of fusarium head blight and seed treatment on germination, emergence, and seedling vigour of spring wheat. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 26, p. 448-452, 1995.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BELTER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K-H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, R.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, v. 8, p.

629-643, 1996.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2831-2846, 2007.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. B. F. **Vigor de sementes: Conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

LI-COR. **Faster Field Measurements of Asat**. **LI-COR Technical Solutions**. 2015.

Disponível em:

<<https://www.licor.com/documents/qjedc5txk0g3gcitrfevslhnotgx327.pdf>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2023.

LIU, R.; LI, J.; ZHANG, L.; FENG, T.; ZHANG, Z.; ZHANG, B. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat. **Plants**, v. 10, 2304, 2021.

LORETO, F.; D'AURIA, S. How do plants sense volatiles sent by other plants?

Trends in Plant Science, v. 27, p. 29-38, 2022.

MCMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; DE WOLF, E.; DILL-MACKY, R.; HERSHMAN, D.; SHANER, G.; SANFORD, D. V. A Unified Effort to Fight and Enemy of Wheat and Barley: Fusarium Head Blight. **Plant Disease**, v. 96, n. 12, p.1712-1728, 2012.

MEYER, C. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022. 550 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

MONTEIRO, G.C.; LIMA, G.P.P. **Fenilalanina Amônia Liase (FAL)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017c. Disponível em

<<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-fenilalanina-amonia-liase-pal.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

MONTEIRO, G.C.; LIMA, G.P.P. **Superóxido Dismutase (SOD)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017b. Disponível em

<<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo->

da-atividade-da-superoxido-dismutase-sod.pdf>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

MONTEIRO, G.C; LIMA, G.P.P. **Catalase (CAT)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017a. Disponível em <<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-catalase-cat.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

PÁL, M., SZALAI, G., LANTOS, E., NAGYÉRI, G., JANDA, T. Comparative study of salicylic acid contents in young wheat and rice plants and their anticancer activities in HelG2 and Caco-2 cells. **Biologia futura**, v. 71, p. 265-271, 2020.

PIESIK, D.; PANKA, D.; JESKE, M.; WENDA-PIESIK, A.; DELANEY, K. J.; WEAVER, D. K. Volatile induction of infected and neighboring uninfected plants potentially influence attraction/repellence of a cereal herbivore. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 296-309, 2013.

PONTE, E.M.D., GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Deoxynivalenol and nivalenol in commercial wheat grain related to Fusarium Head Blight epidemics in southern Brazil. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1087-1091, 2012.

PONTS, N. Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, Article 1234, 2015.

RANDHAWA, M. S.; BHAVANI, S.; SINGH, P. K.; HUERTA-ESPINO, J.; SINGH, R. P. **Disease Resistance in Wheat: Present Status and Future Prospects**. In: WANI, S. H. (Ed.). Disease Resistance in Crop Plants, Volume 1. Suíça: Springer, 2019.

REIS, E. M.; BOARETO, C.; DANELLI, A. L. D.; ZOLDAN, S. M. Anthesis, the infectious process and disease progress curves for fusarium head blight in wheat. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 134-139, 2016.

ROESE, A. D.; MELO, C. L. P.; GOULART, A. C. P. Espaçamento entre linhas e severidade da ferrugem-asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 300-305, 2012.

SAUCEDO, S., CONTRERAS, R. A. & MOENNE, A. Oligo-carrageenan kappa increases C, N and S assimilation, auxin and gibberellin contents, and growth in

Pinus radiata trees. **Journal of Forest Research**, v. 26, n. 3, p. 635-640, 2015

SOARES, M. B.B.; GALLI, J. A.; MARTINS, M. H.; OLIVEIRA, A. C.; BIANCO, S. Weed management in the dry season: interferences in physiology and quality of Persian lime fruits. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, e67779, 2021.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. **Manual de calagem e adubação para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina** – Núcleo Regional Sul. Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC, 2016. 376 p.

STACK, R. W.; MCMULLEN, M. P. **A visual scale to estimate severity of Fusarium head blight in wheat**. NDSU Extension Service, North Dakota State University, 2011

SURMA, M., ADAMSKI, T., BANASZAK, Z., KACZMAREK, Z., KUCZYNSKA, Z., MAJCHER, M. A., LUGOWSKA, B., OBUCHOWSKI, W., SALMANOWICZ, B. P., KRYSTKOWIAK, K. Effect of genotype, environment and their interaction on quality parameters of wheat breeding lines of diverse grain hardness. **Plant Production Science**, v. 15, p.192-203, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TWAMLEY, T.; GAFFNEY, M.; FEECHAN, A. A microbial fermentation mixture primes for resistance against powdery mildew in wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 01241, 2019.

WARRIER, R. R., PAUL, M., VINEETHA, M. V. Estimation of salicylic acid in *Eucalyptus* leaves using spectrophotometric methods. **Genetics and Plant Physiology**, v. 3, p. 90–97, 2013.

WEGULO, S.N. Factors Influencing Deoxynivalenol Accumulation in Small Grain Cereals. **Toxins**, v. 4, p. 1157-1180, 2012.

ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZIMMERMANN, F. J. P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. 2ª Edição Ampliada e Revisada. Brasília – DF: Embrapa, 2014. 582 p.

CAPÍTULO 02 – ELICIAÇÃO DE PLANTAS DE TRIGO EM AMBIENTE CONTROLADO SOB A FORMA DE DELINEAMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADOS COM MODIFICAÇÕES

Doi: <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/geama/article/view/5935>

Doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-023-11214-6>

RESUMO

A eliciação vegetal fornece múltiplos benefícios para o desenvolvimento e defesa das plantas, além de ajudar a tornar a agricultura mais sustentável. No entanto, o uso de técnicas e desenhos experimentais errados afetam diretamente os resultados obtidos. Isso favorece a geração de dados tendenciosos e não confiáveis. Dessa forma, um experimento contendo quatro tratamentos e 12 repetições foi realizado para avaliar o potencial de eliciação de um bioestimulante a base de algas vermelhas sozinho ou em combinação com fungicida em condições totalmente controladas. Plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) da cultivar TBio Audaz foram utilizadas para o experimento. Avaliações dos parâmetros fisiológicos, bioquímicos, fitossanitários, morfológicos e de estresse calórico foram realizadas durante o decorrer do trabalho. O uso do eliciador vegetal evitou a incidência de oídio em plantas de trigo, aumentou diversos parâmetros fisiológicos, bioquímicos, morfológicos e de resistência ao estresse calórico quando comparado aos tratamentos controle ou que receberam apenas aplicações de fungicida. O uso de fungicida sozinho proporcionou uma maior fitotoxicidade às plantas, além de causar uma redução da atividade enzimática de algumas enzimas antioxidantes e de reduzir a transferência de elétrons entre os fotossistemas II e I. Uma maior atividade da Fenilalanina amônia liase (FAL) não garantiu um maior acúmulo de Ácido salicílico (AS) nas plantas. Entretanto, os tratamentos que receberam o eliciador apresentaram uma correlação positiva entre a atividade da FAL e o teor de AS. No geral, o uso de fungicida afetou negativamente os metabolismos primário e especializado do trigo quando comparado à aplicação do eliciador sozinho.

Palavras-chave: Atividade enzimática, *Blumeria graminis*, conteúdo de ácido salicílico, *Solieria chordalis*, taxas fotossintéticas.

ABSTRACT

Plant elicitation provides multiple benefits for plant development and defense, as well as helping to make agriculture more sustainable. However, the use of wrong techniques and experimental designs directly affects the results obtained. This favors the generation of biased and unreliable data. Thus, an experiment containing four treatments and 12 replications was carried out to evaluate the eliciting potential of a biostimulant based on red algae alone or in combination with a fungicide under fully controlled conditions. Wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of the cultivar TBio Audaz were used for the experiment. Evaluations of the physiological, biochemical, phytosanitary, morphological, and heat stress parameters were performed during the development of this study. The use of the elicitor prevented the incidence of powdery mildew in wheat plants and increased several physiological, morphological, biochemical parameters, and raised the resistance against heat stress when compared to control treatments or treatments that received only fungicide applications. The use of the fungicide alone provided greater phytotoxicity to plants, in addition to causing a reduction in the enzymatic activity of some antioxidant enzymes and reducing the transfer of electrons between the photosystems II and I. Greater Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) activity did not guarantee greater accumulation of Salicylic acid (SA) in plants. However, the treatments that received the elicitor showed a positive correlation between PAL activity and SA content. Overall, fungicides negatively affected the primary and specialized wheat metabolism when compared to the application of the elicitor alone.

Keywords: *Blumeria graminis*, enzymatic activity, salicylic acid content, *Solieria chordalis*, photosynthetic rate.

1. INTRODUÇÃO

O uso consciente e intencional das defesas naturais das plantas (metabolismo especializado) contra condições estressantes de ordens bióticas e abióticas realmente decolou a partir da década de 1970 com a descoberta das vias metabólicas envolvidas na síntese dos metabólitos especializados das plantas, até então considerados como lixos metabólicos (HARTMANN, 2007). Posteriormente, muitos manuscritos têm mostrado o poder das plantas de se condicionarem e se defenderem contra condições estressantes (GIRON-CALVA et al., 2017; MARKOVIC et al., 2019; VICHEROVÁ et al., 2020; JIN et al., 2021; BRAMBILLA et al., 2022).

O metabolismo especializado das plantas pode ser desencadeado com o uso de eliciadores e diferentes estímulos, como som (GAGLIANO et al., 2017) e toque (MARKOVIC et al., 2019). Interessantemente, em 2023, pela primeira vez na história, um estudo demonstrou a capacidade das plantas em emitir sons que podem ser detectados por outras plantas (KHAIT e al., 2023)), ou seja, as plantas conseguem se comunicar de diferentes formas.

Universidades, indústrias e agricultores usam essas técnicas para estimular as plantas a produzirem uma ampla gama de compostos bioquímicos, aproveitando as defesas naturais das plantas para, além de outros benefícios, favorecer a redução do uso de pesticidas sintéticos e tornar a agricultura mais sustentável (THAKUR & SOHAL, 2013).

Na agricultura, os eliciadores são mais frequentemente referidos como bioestimulantes, um produto (substância única) ou uma mistura de diferentes produtos, podendo ser compostos por substâncias orgânicas (KAUR et al., 2021) e/ou inorgânicas (SARKAR et al., 2022), naturais (SHUKLA et al., 2021) e/ou sintéticas (SAKATA et al., 2021), capazes de estimular diretamente (KAUR et al., 2021) ou indiretamente (MARKOVIC et al., 2019) o metabolismo primário e especializado das plantas de forma positiva (BRAMBILLA et al., 2022) ou negativa (WU et al., 2022), sem considerar a quantidade de nutrientes fornecidos por esses produtos, ou a ação que podem ter diretamente como pesticidas.

As macroalgas são exemplos de organismos naturais que podem ser utilizados para induzir/estimular o desenvolvimento vegetal e suas defesas naturais, principalmente, mas não só, porque estes organismos apresentam polissacarídeos exclusivos, como alginatos, fucoidanos, laminarinas, ulvanas e carragenas, que têm demonstrado possuir efeitos positivos nos metabolismos primário e especializado das plantas (SHUKLA et al., 2021).

No entanto, a maioria dos estudos de eliciação vegetal são realizados em ambientes pouco controlados, onde a interferência dos metabólitos especializados das plantas, como os compostos voláteis orgânicos (VOCs), sobre plantas/organismos vizinhos interfere nos resultados obtidos (MARKOVIC et al., 2019; JIN et al., 2021; BRAMBILLA et al., 2022). Isso favorece a geração de dados tendenciosos e não confiáveis (DUCATTI, 2022).

Portanto, este estudo teve como objetivo investigar, em condições totalmente controladas, os efeitos de um bioestimulante produzido com *Solieria chordalis* (C.

Agardh) J. Agardh 1842, uma alga vermelha encontrada no litoral da Bretanha francesa, sobre o metabolismo de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). Este é o primeiro relato do uso de um bioestimulante a base de *Solieria cordalis* no metabolismo do trigo em condições totalmente controladas, com o objetivo de verdadeiramente atestar o real potencial eliciador dessa alga sob plantas de trigo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido em Fitotron (câmara de crescimento) localizado na Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) situada na cidade de Chapecó – SC (27°06'34"S; 52°40'18"O e altitude de 623m) durante o ano de 2022.

As plantas de trigo foram cultivadas em vasos de 20 litros completados com material oriundo de uma mistura contendo 9 partes de latossolo virgem proveniente da área experimental da EPAGRI junto com 1 parte de substrato orgânico comercializado pela empresa Ferticel®. As características físico-químicas do material utilizado para o preenchimento dos vasos podem ser encontradas na tabela 16. A mistura foi realizada com a utilização de uma betoneira de 600 litros.

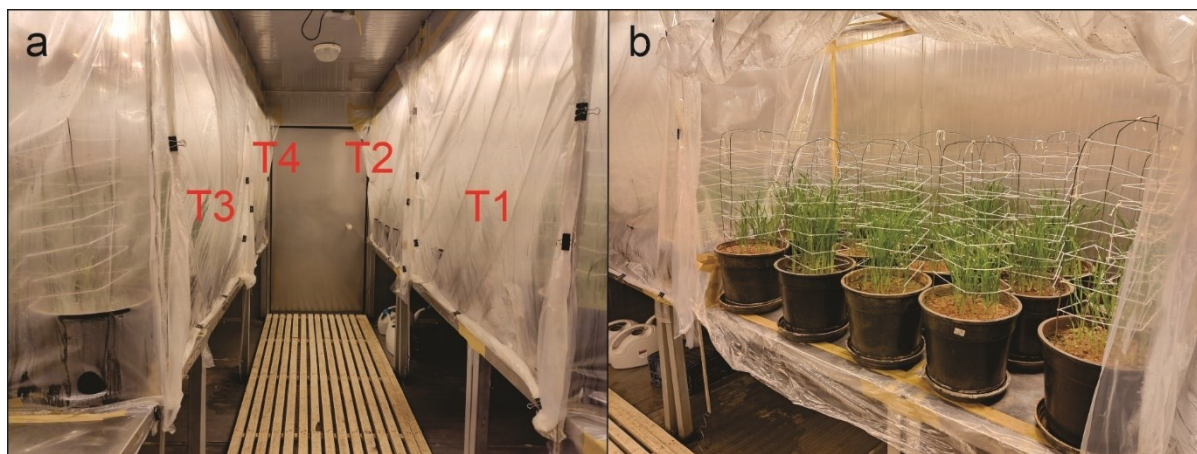
Tabela 16 – Características físico-químicas do solo utilizado para o preenchimento dos vasos para a condução dos experimentos. Chapecó – SC, 2022.

Argila (% p/v)	pH em H ₂ O	P (mg/dm ³)	K (mg/dm ³)	Matéria Orgânica (% p/v)
28,0	6,5	155,9	172,0	4,0
Al (cmolc/dm ³)	Ca (cmolc/dm ³)	Mg (cmolc/dm ³)	Al + H (cmolc/dm ³)	CTC pH7,0 (cmolc/dm ³)
0,0	12,4	6,1	1,74	20,66

2.2 DESENHO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

A condução do experimento foi realizada na forma de delineamento inteiramente casualizado (DIC) com adaptações (Figura 17). A utilização do delineamento inteiramente casualizado visou “fornecer” as mesmas condições experimentais para todas as plantas/tratamentos a fim de evitar interferências nos resultados colhidos (ZIMMERMANN, 2014). As adaptações realizadas dizem respeito a utilização de barreiras físicas para impedir a intercomunicação dos diferentes tratamentos devido a intensa emissão de VOCs pelas plantas.

Figura 17 – Disposição das miniestufas (a), tratamentos (a) e vasos (b) dentro do Fitotron. Chapecó – SC, 2022.



Fonte: Rafael Dal Bosco Ducatti, 2021.

Para a barreira física, foi montado dentro do Fitotron quatro miniestufas de 2,50 × 1,00 metros utilizando plástico de 150 micras. Os vasos de cada um dos tratamentos foram acondicionados dentro dessas miniestufas, de modo que, cada miniestufa receba-se todos os vasos de um único tratamento. Cada um desses foi composto por 15 vasos contendo 12 plantas cada. Desses 15 vasos, três foram utilizados para a coleta de material vegetal para a condução das análises bioquímicas.

As mesmas condições de crescimento foram utilizadas para todos os tratamentos, sendo: Radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de $700 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$, Temperatura de $32 \pm 4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante a exposição à luz, e $17 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante o período de escuro total, Fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, Umidade do ar de $85 \pm 5\%$, Umidade do solo dos vasos mantida em capacidade de campo durante todo o período do experimento. A cultivar utilizada para a condução dos testes foi a TBio Audaz®. A semeadura ocorreu no dia 08/08/2022 com a utilização de 15 sementes por vaso e posterior raleio para um estande final de 12 plantas por vaso. A emergência foi registrada no dia 15/08/2022.

Para a amostragem de materiais e para a realização da medição das variáveis mensuradas nesse experimento, cada miniestufa foi aberta apenas durante a amostragem e/ou medição das plantas pertencentes aquela miniestufa/tratamento. Logo após, a miniestufa foi fechada (vedada) e um período superior a 5 minutos foi aguardado para a abertura da miniestufa seguinte (DUCATTI, 2023). Isso foi realizado para permitir a dissipação dos VOCs provenientes de cada tratamento e diminuir a

possibilidade de interferências entre tratamentos ocasionada por esses compostos voláteis.

Diante da análise físico-química realizada no material utilizado para preenchimento dos vasos (Tabela 16), estabeleceu-se a necessidade de aporte nutricional através da suplementação de 100 mL de um meio composto por 1,5% p/p KCl, 1,5% p/p $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,05% p/p H_3BO_3 , 0,05% p/p Na_2MoO_4 aos 25, 41 e 56 dias após a emergência das plantas.

Na tabela 17, descreve-se os tratamentos utilizados para a condução do experimento.

Tabela 17 – Descrição dos tratamentos, doses e épocas de aplicação para a condução dos experimentos. Chapecó – SC, 2022.

Tratamento*	Algomet Push® ^{1,4**}	Fungicida ^{2,4}	Inseticida ^{3,4}
Controle negativo	-	-	Imidacloprid + Bifenthrin (200 mL ha ⁻¹)
Apenas Carragena (1x)	1,0 L ha ⁻¹	-	
Apenas fungicida (3x)	-	Trifloxystrobin + Prothioconazole	
Carragena (1x) + fungicida (3x)	1,0 L ha ⁻¹	(500 mL ha ⁻¹)	

¹aplicação dos eliciadores ocorreu no início da fase de perfilhamento (GS20 – 09/09/2022) em mistura com o fungicida utilizado (ZADOKS et al., 1974).

²foram realizadas um total de 03 aplicações de fungicidas seguindo os princípios ativos e dosagens descritas na tabela acima. As aplicações ocorreram no início do perfilhamento (GS20 – 09/09/2022), início do emborrachamento (GS40 – 07/10/2022) e início do florescimento (GS60 – 11/11/2022). O fungicida utilizado foi o Fox®.

³o inseticida foi aplicado conforme necessidade.

⁴a aplicação de pesticidas (fungicidas e inseticidas) e dos eliciadores foi realizada utilizando pulverizador costal de precisão pressurizado com CO₂ e um volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹.

*o controle de ervas daninhas foi feito de forma manual quando necessário.

**Algomet PUSH® é um produto comercial a base de algas vermelhas produzido com algas da espécie *Solieria chordalis*.

2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

2.3.1 Parâmetros fisiológicos

Os parâmetros fisiológicos foram mensurados aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação do eliciador. Para a avaliação dos parâmetros fisiológicos foi utilizado um Infra-Red Gas analyzer (IRGA – Lcpro-SD Serial N° 33961 – ADC BioScientific Ltd, Hoddesdon, UK) ajustado para saturação de luz constante (1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (LICOR, 2015). Os parâmetros diretamente determinados pelo IRGA foram:

- Condutância estomática (GS - $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- Concentração interna de CO₂ (Ci – $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$)
- Transpiração (E – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- Taxa Fotossintética Líquida (A – $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Através desses parâmetros foi possível o cálculo da:

- Eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) – E_iC
- Eficiência do uso da água (A/E) – WUE

Para a medição com o IRGA foram utilizadas oito plantas por tratamento (uma planta por vaso). Cada análise foi considerada válida apenas quando da estabilização das leituras realizadas pelo equipamento após a clipagem das folhas (tempo médio de dois minutos por leitura).

Um fluorômetro portátil (FluorPen ASCII – Photon Systems Instruments (PSI), Czech Republic) foi utilizado durante o experimento. Anteriormente as leituras com o fluorômetro, as plantas foram adaptadas ao escuro por um período de 15 minutos. Foram realizadas dez leituras por tratamento. O fluorômetro foi utilizado para a determinação das seguintes variáveis:

- Φ_{Po} : rendimento quântico máximo do PSII
- Ψ_o : probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b
- Φ_{Eo} : rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b
- Φ_{Ro} : rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI
- Pl_{ABS} : índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b
- ABS/RC : Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo)
- TR_o/RC : Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC)
- ET_o/RC : Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (RC)
- Di_o/RC : Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC)

Um leitor de clorofila portátil (atLEAF PLUS Chlorophyll meter – Wilmington, Delaware, USA) foi utilizado para a determinação do índice SPAD (medição não destrutiva do teor de clorofila das plantas), realizando-se 12 medições por tratamento. Todas as medições dos parâmetros fisiológicos foram realizadas utilizando-se sempre a última folha totalmente distendida.

2.3.2 Parâmetros morfológicos

No 49º dia após a aplicação do eliciador nas plantas de trigo, foram contabilizados o número de perfilhos e a área foliar (cm²) de dez plantas por tratamento. Para a medição da área foliar foi utilizado um medidor de área foliar (LI-3100 Area Meter – LI-COR, inc. Lincoln, Nebraska, USA).

2.3.3 Parâmetros bioquímicos

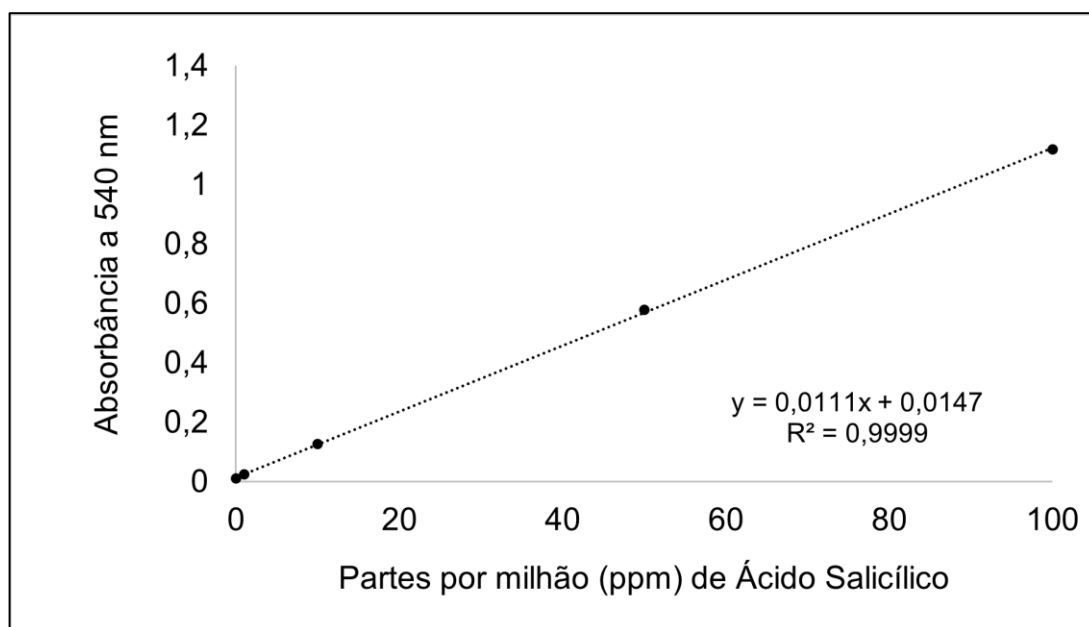
Foram analisadas, para todos os tratamentos, as atividades enzimáticas das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e fenilalanina amônia liase (FAL) as 0, 24, 48, 96, 192, 384 e 768 horas após a aplicação (HAA) do eliciador. Também foram contabilizados para esses mesmos períodos o teor de proteína e ácido salicílico das plantas.

Os procedimentos adotados para a quantificação das atividades enzimáticas das enzimas CAT, FAL e SOD foram os mesmos descritos no Capítulo 01 deste trabalho (MONTEIRO & LIMA 2017 a,b,c), apenas com a modificação de serem expressados por grama de proteína ao invés de matéria fresca.

- A enzima APX (BETTINI et al., 2014) foi extraída utilizando-se tampão extrator constituído por fosfato de potássio 100 mM e pH 7,5. Ao tampão extrator foram adicionados 1,3 mM EDTA, 3mM DTT e 0,3 g L⁻¹ PVPP. A determinação da atividade da enzima APX foi realizada utilizando-se tampão de determinação constituído por fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, com a adição de 0,8 mM ascorbato e 1,0 mM peróxido de hidrogênio. Uma amostra de 100 mg de tecido vegetal (folha), mantida em ultra freezer, foi macerada em nitrogênio líquido, adicionada de 2,5 mL de tampão extrator e centrifugada por 25 minutos a 10.000 rpm (centrífuga refrigerada a 4 °C (SIGMA 3-18KS)). Após centrifugação uma alíquota de 100 µL foi adicionado a 2,9 mL da solução de determinação. A verificação da atividade enzimática da APX foi realizada em espectrofotômetro (Analytik Jena SPECORD 200 PLUS) (290 nm), verificando-se a extinção do Ascorbato por um minuto com leituras espaçadas a cada dez segundos. Todo o processo de extração e quantificação da atividade enzimática foi realizado no “escuro”.

A verificação da concentração interna de ácido salicílico as 0, 24, 48, 96, 192, 384 e 768 horas após a aplicação do eliciador para todos os tratamentos seguiu a metodologia descrita no Capítulo 01 deste trabalho (WARRIER et al., 2013). Na figura 18 apresenta-se a curva de calibração para a quantificação do AS em plantas de trigo para o experimento em ambiente controlado.

Figura 18 – Curva de calibração para quantificação de Ácido Salicílico em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2022.

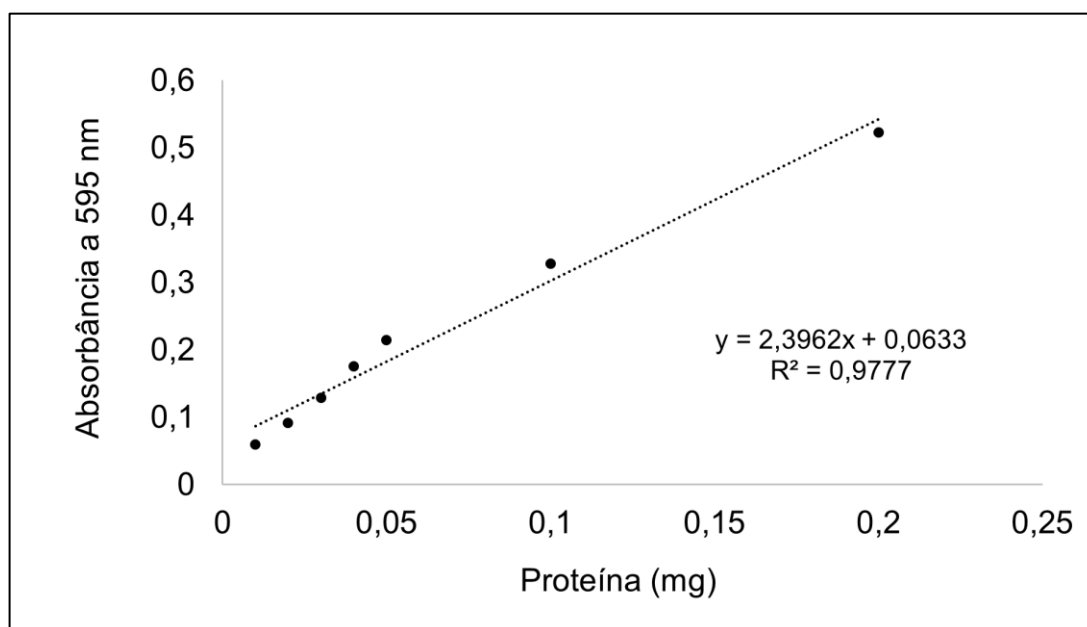


A verificação da concentração de proteína no tecido vegetal as 0, 24, 48, 96, 192, 384 e 768 horas após a aplicação do eliciador para todos os tratamentos seguiu a metodologia descrita por Bradford (1976).

- Uma fração de 500 mg de material vegetal (folha) mantido em ultra-freezer foi amostrado, lavado e macerado em almofariz contendo 5 mL de solução tampão de Fosfato 0,2 M, pH 7,5. Após macerado, o material foi acondicionado em eppendorf e centrifugado por 10 minutos a 12.000 RPM em centrífuga refrigerada a 4 °C. Do sobrenadante, uma alíquota de 40 µL foi adicionada a uma cubeta de determinação junto com 460 µL de água destilada e 1,0 mL de reagente Bradford. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm. A absorbância verificada na leitura foi

comparada a curva de calibração para a determinação do teor de proteína no tecido vegetal. Na figura 19 é apresentada a curva de calibração obtida a partir de solução de soro de albumina bovina.

Figura 19 – Curva de calibração para quantificação de proteína em plantas de trigo. Chapecó – SC, 2022.



2.3.4 Parâmetros fitossanitários

A severidade da doença foliar oídio (*Blumeria graminis*) foi determinada uma única vez no 49º dia após a aplicação do eliciador. A severidade do oídio foi checada em dez plantas aleatórias por tratamento seguindo a metodologia e escala proposta por Domiciano et al. (2013).

2.3.5 Estresse por calor

No 42º dia após a aplicação dos eliciadores todos os tratamentos foram submetidos a um estresse calórico com a elevação da temperatura para 48 ± 4 °C por 12 horas. Sete dias após as plantas terem sido expostas a essa temperatura, determinou-se os danos ocasionados pelo estresse calórico, sendo: massa seca sem danos (mg) e massa seca com danos (mg) ocasionados pelo estresse calórico (queima da folha).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados coletados foram primeiramente submetidos a análise de outliers (dados que evidentemente se diferenciam dos demais – Teste de Amplitude Interquartílica) com seus respectivos descartes e posteriormente foi realizada a análise de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk Test). Na observância de uma distribuição não normal dos resíduos, os dados foram tratados (tratamentos descritos nas tabelas e figuras caso existam) para aquisição de uma distribuição normal. Dados que, mesmo após tratamento apresentaram distribuição fora de normalidade, foram analisados via análises não-paramétricas.

Dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (One-way-ANOVA) e suas médias, quando significativas ($< 5\%$), foram comparadas pelo teste estatístico Tukey HSD. Os dados que apresentaram distribuição fora de normalidade, mesmo após tratamento, foram submetidos ao teste não paramétrico Kruskal-Wallis e suas médias, quando significativas ($< 5\%$), foram comparadas pelo teste estatístico Mann-Whitney ($< 5\%$).

Correlações lineares de Pearson foram utilizadas para se verificar as relações entre algumas variáveis avaliadas nesse trabalho. Análises de multivariância (MANOVA) foram realizadas para a verificação da relação de diferentes variáveis dependentes sobre outras variáveis analisadas no trabalho.

Todas as análises estatísticas do trabalho em questão foram realizadas via JMP® Pro 14.0.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da mesma forma que para o Capítulo 01, com o objetivo de facilitar a compreensão dos resultados e evitar um acúmulo exagerado de dados, optou-se por apresentar as variáveis analisadas como média de todas as leituras realizadas. Mesmo assim, os valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados nos apêndices desse trabalho.

3.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Para os parâmetros fisiológicos, diferenças significativas entre as médias dos tratamentos foram encontradas para todas as variáveis diretamente analisadas pelo IRGA. A única variável que não demonstrou diferença significativa entre as médias dos tratamentos foi a Eficiência do Uso da Água (WUE) (Tabela 18). Valores médios

de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice K.

Tabela 18. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do IRGA (Infrared Gas Analyzer). Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Ci	Tratamento	3	869418,6	289806	14,2501	<0,0001*
	Erro	220	4474181,1	20337		
	Total	223	5343599,7			
E	Tratamento	3	15,35474	5,11825	5,3179	0,0015*
	Erro	220	211,73903	0,96245		
	Total	223	227,09377			
Gs ¹	Tratamento	3	0,5764401	0,192147	5,6175	0,0010*
	Erro	219	7,4909563	0,034205		
	Total	222	8,0673964			
A	Tratamento	3	986,012	328,671	6,0939	0,0005*
	Erro	220	11865,643	53,935		
	Total	223	12851,655			
EiC	Tratamento	3	0,00318365	0,001061	10,5585	<0,0001*
	Erro	220	0,02211179	0,000101		
	Total	223	0,02529544			
WUE	Tratamento	3	11,44190	3,81397	1,6084	0,1883
	Erro	220	521,68022	2,37127		
	Total	223	533,12212			

*significativo para o teste F (< 5%). Ci (Concentração interna de CO₂ - μmol CO₂ mol⁻¹), E (Transpiração - mmol H₂O m⁻² s⁻¹), GS (Condutância estomática - mol m⁻² s⁻¹), A (Taxa fotossintética líquida - μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), EiC (Eficiência instantânea de carboxilação - A/Ci), WUE (Eficiência do uso da água - A/E).

¹essa variável apresentou 01 *outlier*, o qual foi desconsiderado na avaliação.

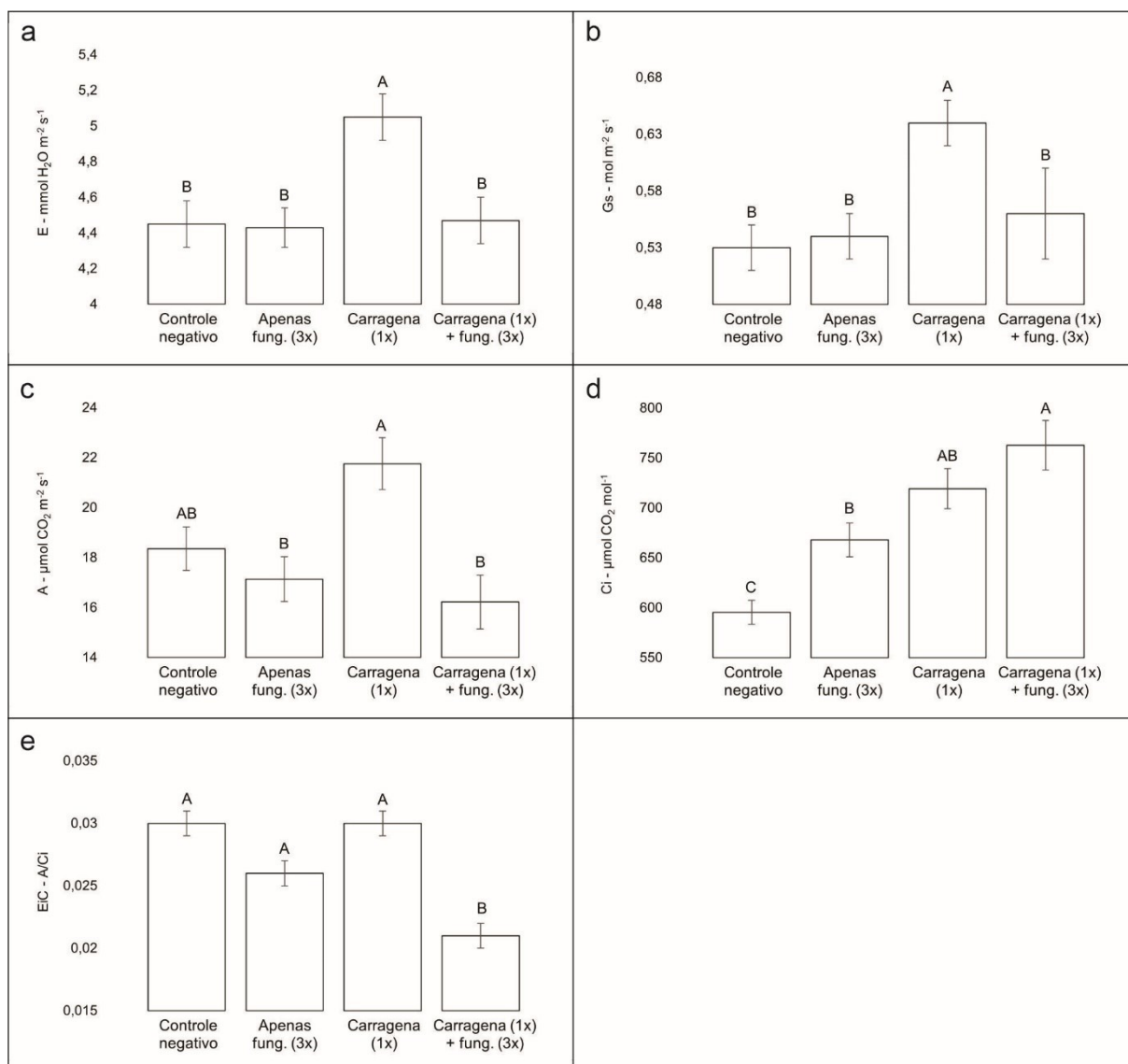
O WUE (A/E) não apresentou diferenças significativas entre as médias dos tratamentos porque esse parâmetro leva em consideração as variáveis diretamente analisadas pelo IRGA. Como a tendência de aumento e/ou queda dessas variáveis (A, E, Gs e Ci) foi constante para os diferentes tratamentos, a possibilidade de existência de diferença estatística para o WUE diminui drasticamente.

Por exemplo, o tratamento com maior “A” foi o tratamento “apenas carragena (1X)”, o qual também foi o tratamento com a maior “E”. Por vez, o tratamento “Fungicida (3x)” apresentou um dos menores índices de “A”, assim como também o menor “E”. Como o WUE é calculado pela divisão entre “A” e “E”, conforme

demonstrado na tabela 18, a ocorrência de valores muito próximos não possibilitou a detecção de diferenças significativas entre as médias gerais dos diferentes tratamentos. Diferenças pontuais para o WUE foram detectadas e podem ser observadas no Apêndice K.

Com o objetivo de identificarmos as diferenças de médias entre os tratamentos, uma análise *post-hoc* (Tukey HSD) foi realizada (Figura 20 a,b,c,d,e). Nessa análise pode-se melhor compreender por que o parâmetro WUE não apresentou diferenças significativas entre as médias dos tratamentos.

Figura 20 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Transpiração – E” (a), “Condutância estomática – Gs” (b), “Taxa fotossintética líquida – A” (c), “Carbono interno – Ci” (d) e Eficiência Instantânea de Carboxilação – Eic” (e). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



O tratamento que obteve a maior taxa de transpiração, condutância estomática e taxa fotossintética (Figura 20 c) foi o tratamento “Carragena (1x)”. Em contrapartida, o tratamento composto pela aplicação da Carragena + fungicida teve seu efeito suprimido para esses parâmetros, se assemelhando muito ao tratamento “Apenas fungicidas (3)”.

Possivelmente isso possa ter ocorrido devido ao fungicida causar grande estresse oxidativo às plantas, levando a uma maior produção de clorofila tripleto e consequentemente a uma maior degradação de clorofila, o que causaria a redução das taxas fotossintéticas, conforme demonstrado por Liu et al. (2021).

Em relação aos parâmetros fisiológicos analisados com a utilização do IRGA fica evidente o efeito positivo que a carragena traz às plantas quando utilizada de maneira isolada. Da mesma forma, em comparação as mesmas análises realizadas em campo aberto e descritas no Capítulo 01 desse trabalho, pode-se perceber que interferências podem ter influenciado os resultados obtidos no experimento em campo aberto, possivelmente ocasionados pela interferência decorrente da emissão de VOCs (DUCATTI, 2023).

Os resultados das mensurações realizadas com a utilização do fluorômetro para melhor compreender a absorção/aproveitamento de energia luminosa através das sequências de transporte de elétrons entre os fotossistemas II e I pode ser observada na Tabela 19. Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice L.

Tabela 19. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através da utilização do Fluorômetro. Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
ϕ_{Po}	Tratamento	3	0,00430171	0,001434	4,9009	0,0025*
	Erro	273	0,07987403	0,000293		
	Total	276	0,08417575			
ψ_o	Tratamento	3	0,0401550	0,013385	3,6627	0,0129*
	Erro	273	0,9976533	0,003654		
	Total	276	1,0378082			
ϕ_{Eo}	Tratamento	3	0,03303625	0,011012	3,8472	0,0101*
	Erro	273	0,78143085	0,002862		

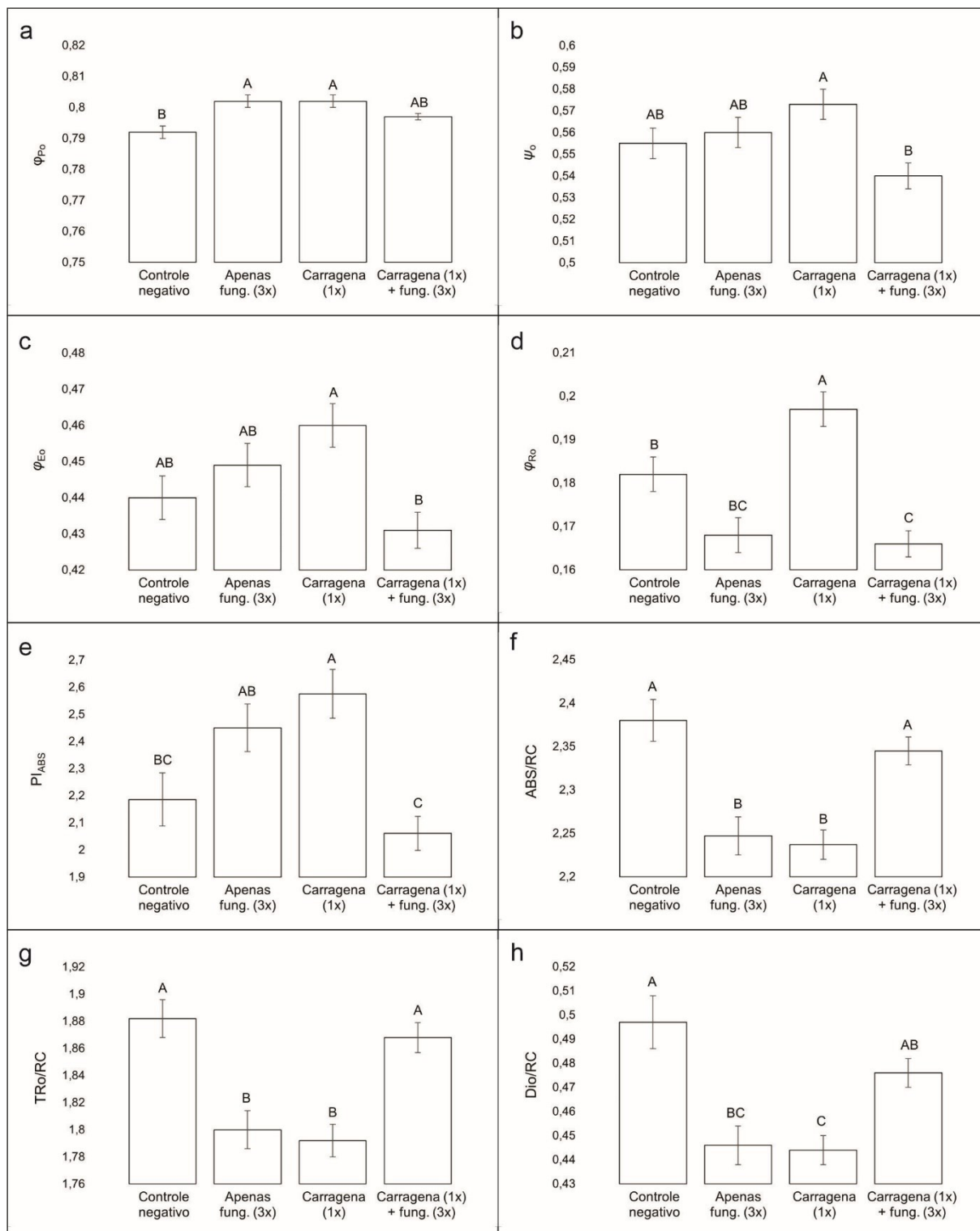
	Total	276	0,81446710			
φ_{Ro}	Tratamento	3	0,04284696	0,014282	13,0852	<0,0001*
	Erro	273	0,29797494	0,001091		
	Total	276	0,3408219			
PI_{ABS}	Tratamento	3	11,62750	3,87587	7,5492	<0,0001*
	Erro	273	140,16167	0,51341		
	Total	276	151,78918			
ABS/RC	Tratamento	3	1,0508655	0,350288	11,7454	<0,0001*
	Erro	273	8,1418065	0,029823		
	Total	276	9,1926720			
TR_o/RC	Tratamento	3	0,4411343	0,147045	11,4881	<0,0001*
	Erro	273	3,4943182	0,012800		
	Total	276	3,9354524			
ET_o/RC	Tratamento	3	0,0719224	0,023974	1,8733	0,1343
	Erro	273	3,4938033	0,012798		
	Total	276	3,5657257			
Di_o/RC	Tratamento	3	0,1353176	0,045106	8,6343	<0,0001*
	Erro	273	1,4261627	0,005224		
	Total	276	1,5614803			

*significativo para o teste F (< 5%). Rendimento quântico máximo do PSII (φ_{Po}), Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b (ψ_o), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b (φ_{Eo}), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI (φ_{Ro}), Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b (PI_{ABS}), Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo) (ABS/RC), Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC) (TR_o/RC), Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (RC) (ET_o/RC) e Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC) (Di_o/RC).

Apenas com exceção ao parâmetro ET_o/RC , todos os demais apresentaram significância estatística entre as médias dos tratamentos. Para melhor compreender essa diferença, a Figura 21 dedica-se a mostrar o comportamento de cada um desses parâmetros para os tratamentos utilizados no decorrer do trabalho.

Figura 21 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis Rendimento quântico máximo do PSII (φ_{Po}) (a), Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b (ψ_o) (b), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b (φ_{Eo}) (c), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI (φ_{Ro}) (d), Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b (PI_{ABS}) (e), Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo) (ABS/RC) (f), Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC) (TR_o/RC) (g) e Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC) (Di_o/RC) (h). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas

letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



Após uma adaptação ao escuro por pelo menos 10 minutos, ao ser iluminada e excitada por frações de tempo conhecidas (milissegundos), a *clorofila a* apresenta algumas características de fluorescência (efeito Kautsky) que conseguem ser

captadas por diversos instrumentos dedicados a essa função. Essas características dão origem a curvas denominadas OJIP, aonde: “O” apresenta os valores de origem, ou seja, o rendimento mínimo da fluorescência, “J” informa o acúmulo de Q_a^- (Quinona A reduzida), a variável “I” representa a redução parcial do pool de Q_b^- em adição ao acúmulo de Q_a^- , e “P” caracteriza-se pelo pico da fluorescência (STIRBET & GOVINDJEE, 2011; MARTINAZZO, 2011).

Dessa forma, conhecendo-se os parâmetros das curvas de OJIP pode-se calcular os fluxos de energia (elétrons) decorrentes da excitação da clorofila e da fotólise da água entre os fotossistemas, para a produção de energia (ATP) e NADPH (STIRBET & GOVINDJEE, 2011; TAIZ et al., 2017).

De acordo com os resultados do fluorômetro, os maiores rendimentos quânticos do PSII (ϕ_{Po}) foram observados para os tratamentos “Carragena (1x)”, “Apenas fungicidas (3x)” e para a combinação entre fungicidas e carragenas (Figura 21). Entretanto, o tratamento carragena apresentou o maior rendimento quântico de fluxo de elétrons do PSII até o PSI (ϕ_{Ro}), mostrando ter positivamente ajudado na fotossíntese, o que pôde ser observado pelos resultados obtidos para “A” através do IRGA (Figura 20). Ainda, indo de encontro com a Figura 20, os tratamentos que receberam fungicidas apresentaram as menores taxas fotossintéticas (A) e os menores fluxos de elétrons entre o PSII e o PSI (Figura 21).

Também é possível perceber que o tamanho aparente do sistema antena (ABS/RC) dos tratamentos “Apenas fungicida (3x)” e “Carragena (1x)” são relativamente menores do que dos demais tratamentos, indicando que os tratamentos “Apenas fungicida (3x)” e “Carragena (1x)” possuem sistemas antenas mais eficientes (PI_{ABS}). Por serem mais eficientes, os fluxos de energia por centro de reação da clorofila tendem a serem menores, conforme indicado nas figuras 21g e 21h.

O índice SPAD também foi analisado para melhor entender como os diferentes tratamentos afetaram o desenvolvimento das plantas. Na tabela 20 são apresentados os valores da análise de variância para essa variável. Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice M.

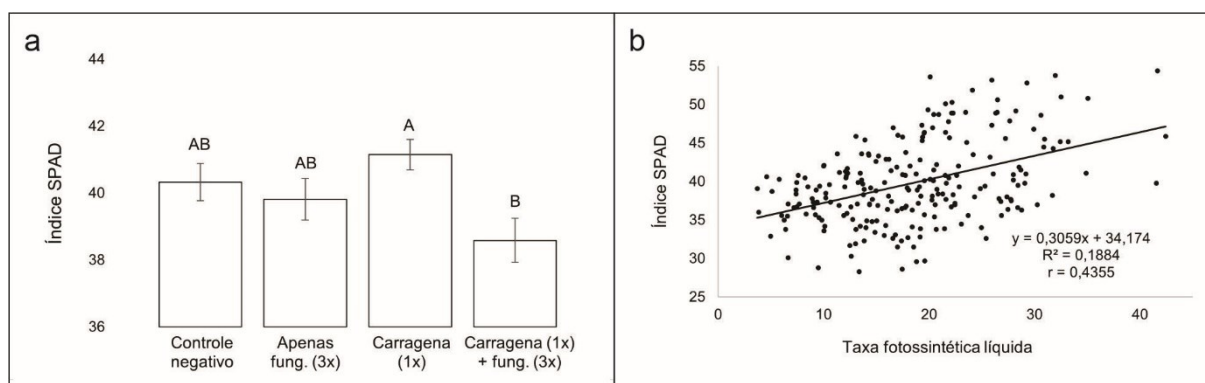
Tabela 20. Resultado da análise de variância para os parâmetros fisiológicos analisados através do Clorofilômetro (Índice SPAD). Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Índice SPAD	Tratamento	3	288,6456	96,2152	3,3465	0,0194*
	Erro	332	9545,2858	28,7509		
	Total	335	9833,9314			

*significativo para o teste F (< 5%).

Foram encontradas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos para o índice SPAD. Na figura 22, são apresentadas as diferenças entre os tratamentos.

Figura 22 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para a variável Índice SPAD (a) e Correlação de Pearson entre as variáveis “Índice SPAD vs. Taxa fotossintética líquida” (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão. R²: coeficiente de determinação. r: coeficiente de correlação. Figura b: 320 observações.



O único tratamento que apresentou índice SPAD estatisticamente abaixo do tratamento Carragena (1x) foi a combinação Carragena + Fungicidas. Os demais tratamentos apresentaram-se estatisticamente similares, com destaque ao tratamento “Carragena (1x)” o qual apresentou os maiores valores. Ao correlacionar-se as taxas fotossintéticas com o índice SPAD observou-se uma correlação de 43,5%, indicando uma tendência positiva entre essas variáveis.

3.2 PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

Os parâmetros morfológicos analisados durante a condução do experimento foram o número de perfilhos por planta e a área foliar (cm²) dessas plantas. Na tabela

21, são apresentados os valores da análise de variância para ambas as variáveis. Valores médios das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice N.

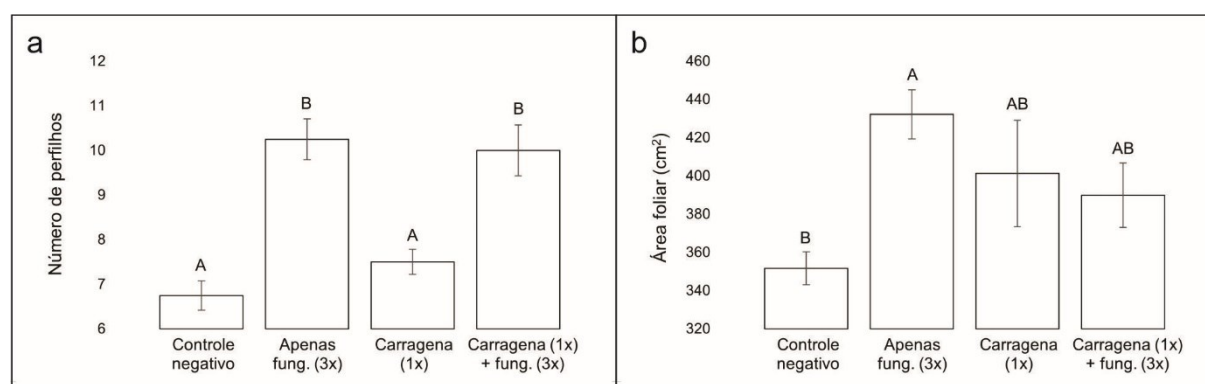
Tabela 21. Resultado da análise de variância para os parâmetros morfológicos número de perfilhos e área foliar. Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Número de perfilhos	Tratamento	3	93,12500	31,0417	16,7416	<0,0001*
	Erro	36	66,75000	1,8542		
	Total	39	159,87500			
Área foliar (cm ²)	Tratamento	3	33232,58	11077,5	3,4195	0,0274*
	Erro	36	116621,52	3239,5		
	Total	39	149854,10			

*significativo para o teste F (< 5%).

Ambos os parâmetros apresentaram significância para o teste F, ou seja, observou-se diferença estatística entre as médias dos tratamentos. Ao buscar entender quais foram os tratamentos que se diferenciaram, uma análise *post-hoc* foi efetuada e é apresentada na figura 23.

Figura 23 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis Número de perfilhos (a) e Área foliar (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



O fato dos tratamentos que receberam fungicida terem apresentado maior número de perfilhos pode ser explicado pelo fato de que o fungicida utilizado possui em sua composição a molécula ativa Proticonazol, a qual demonstra alta atividade como regulador vegetal (Takahashi et al., 2022), bloqueando a síntese de

estrigolactonas, hormônio vegetal responsável, dentre outras atividades, pela regulação da emissão de novos perfilhos e brotações laterais nas plantas (Shang et al., 2021).

Os mecanismos de ação das estrigolactonas nos vegetais ainda não é muito bem compreendido e existem duas hipóteses que circundam esse regulador, uma é de que as estrigolactonas possuem ação direta como bloqueadores da emissão de perfilhos e a outra é de que esses hormônios atuam junto às auxinas facilitando seu transporte até os meristemas primários dos vegetais (Shang et al., 2021).

Da mesma forma, e indo de encontro com os números de perfilhos, o tratamento que obteve a maior área foliar (cm^2) por planta foi o tratamento “Apenas fung. (3x)”. Entretanto, o tratamento apenas com carragena mostrou-se eficiente para o incremento da área foliar mesmo com menor quantidade de perfilhos, mostrando-se estatisticamente similar ao tratamento “Apenas fung. (3x)”. Parte desse resultado deve-se aos componentes que constituem o bioestimulante a base de carragena utilizado nesse trabalho (DEOLU-AJAYI et al., 2022).

3.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os resultados referentes aos parâmetros bioquímicos AS, SOD, CAT e APX foram transformados para $\log_{10}$ com o intuito de serem analisados através de análises paramétricas. O parâmetro bioquímico FAL foi transformado utilizando-se a transformação de Johnson's para a aquisição de uma distribuição normal de seus resíduos (GUO & LUH, 2010). O parâmetro Proteína não necessitou de transformações para serem analisado através de análises paramétricas. Os resultados da análise de variância para todos esses parâmetros podem ser encontrados na tabela 22.

Embora transformações dos valores originais tenham sido realizadas a fim de permitir a obtenção de uma distribuição normal de seus resíduos, todos os dados originais foram utilizados para a confecção das figuras referentes aos parâmetros bioquímicos. Utilizou-se as transformações apenas para as análises estatísticas. Valores médios de cada uma das leituras realizadas podem ser encontrados no Apêndice O.

Tabela 22. Resultado da análise de variância para os parâmetros bioquímicos analisados. Chapecó – SC, 2022.

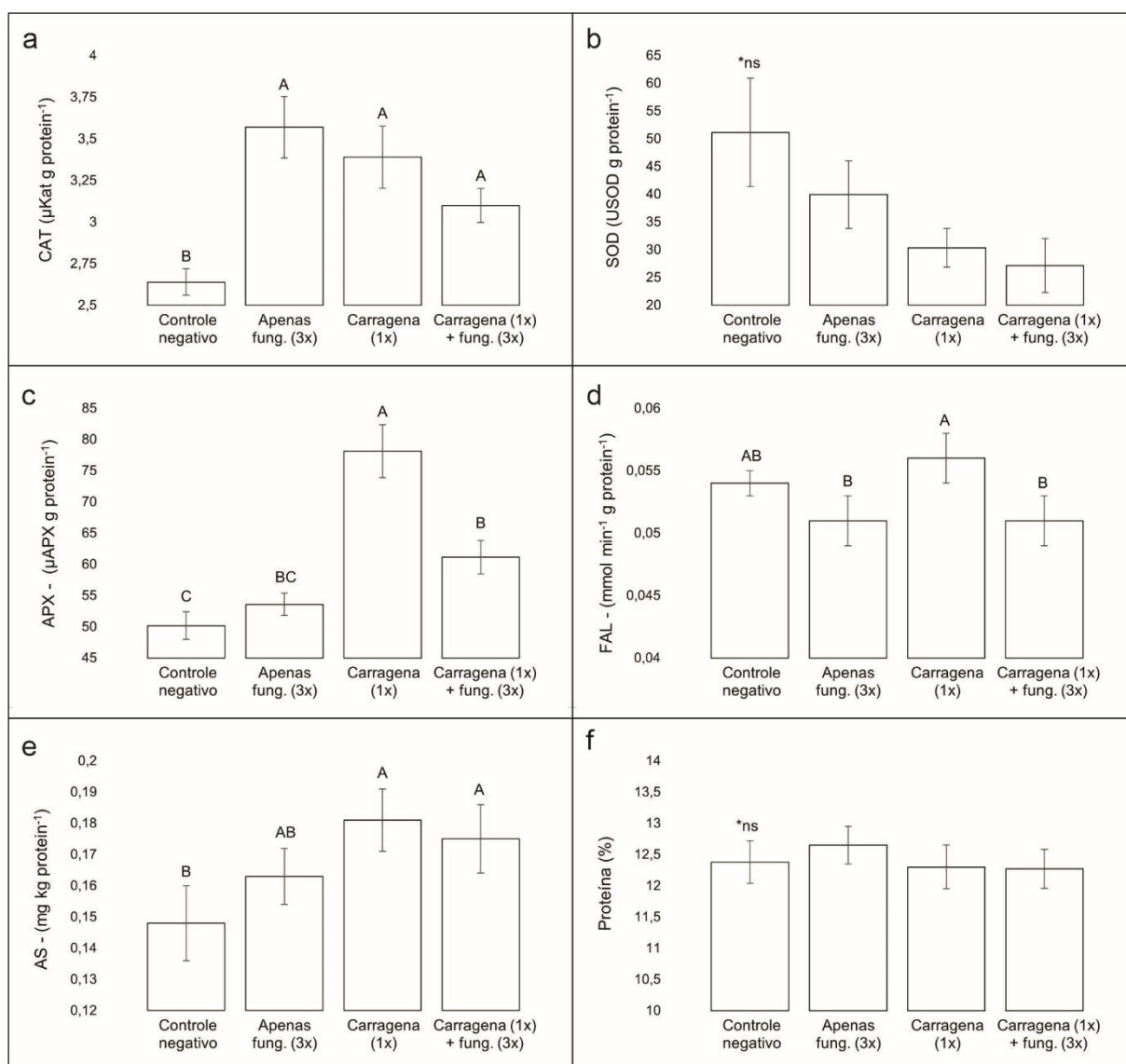
Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
CAT	Tratamento	3	0,3341906	0,111397	8,4249	<0,0001*
	Erro	155	2,0494525	0,013222		
	Total	158	2,3836431			
SOD	Tratamento	3	0,991817	0,330606	1,8913	0,1333
	Erro	155	27,094228	0,174801		
	Total	158	28,086045			
APX**	Tratamento	3	0,7504678	0,250156	17,0328	<0,0001*
	Erro	154	2,2617508	0,014687		
	Total	157	3,0122186			
FAL**	Tratamento	3	8,92569	2,97523	3,2313	0,0239*
	Erro	163	150,08349	0,92076		
	Total	166	159,00918			
AS**	Tratamento	3	0,4326912	0,144230	3,0043	0,0321*
	Erro	161	7,7293982	0,048009		
	Total	164	8,1620894			
Proteína	Tratamento	3	3,71009	1,23670	0,2716	0,8458
	Erro	164	746,70556	4,55308		
	Total	167	750,41566			

*significativo para o teste F (< 5%). CAT (catalase), SOD (superóxido dismutase), APX (ascorbato peroxidase), FAL (fenilalanina amônia liase), e AS (ácido salicílico).

** total de leituras consideradas como *outliers* e descartadas: CAT (09 leituras), SOD (09 leituras), APX (10 leituras), FAL (01 leituras), AS (03 leituras).

As variáveis proteína e SOD não apresentaram significância estatística na diferença entre suas médias, entretanto, decidiu-se por apresentar os dados médios de cada uma dessas variáveis juntamente com as variáveis que apresentaram tratamentos estatisticamente diferentes um dos outros. Essa análise pode ser encontrada na figura 24.

Figura 24 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as Catalase (CAT) (a), Superóxido dismutase (SOD) (b), Ascorbato peroxidase (APX) (c), Fenilalanina amônia liase (FAL) (d), Ácido salicílico (AS) (e), e Proteína (f). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



A hipersensibilidade, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), é a primeira ação de defesa usada pelas plantas para estimular, ativar mecanismos de defesa e aliviar ameaças (estresses bióticos e abióticos) (TAIZ et al., 2017). No entanto, se não for bem regulada, a produção excessiva de EROs pode causar intensa peroxidação lipídica e, em casos extremos, levar à morte vegetal (CHOUDHURY et al. 2015; RECZEK et al. 2017). Portanto, a atividade de enzimas antioxidantes é crucial para o bom desenvolvimento e defesa da planta.

A atividade média de CAT, APX, FAL e o conteúdo médio de AS foram

significativamente afetados pelos tratamentos. SOD foi a única enzima que não foi significativamente afetada (Figura 24). Curiosamente, o uso do fungicida sozinho ou em combinação com a carragena teve um impacto negativo na atividade da APX quando comparado à aplicação única da carragena (Tratamento “Carragena (1x)”). Para a FAL, o uso de fungicidas isoladamente (Tratamento “Apenas fung. (3x)”) afetou negativamente a atividade dessa enzima quando comparado à aplicação única da carragena (Tratamento “Carragena (1x)”). Para a CAT, todos os tratamentos, exceto o controle, tiveram um efeito semelhante. Muito similar a atividade da FAL, com exceção do controle, o conteúdo de AS seguiu tendência semelhante.

Conforme observado na figura 24, em comparação ao controle, o uso da carragena e do fungicida foram capazes de aumentar a atividade da CAT, enzima localizada nos peroxissomos e responsável por quebrar o H_2O_2 em $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (TAIZ et al., 2017). SOD e APX são encontrados nas mesmas organelas vegetais (cloroplasto, peroxissomo, mitocôndria, citosol e apoplasto), porém, essas enzimas quebram diferentes tipos de EROs. Nenhuma diferença entre os tratamentos foi observada para a atividade de SOD, uma enzima que produz H_2O_2 a partir de O_2^- (TAIZ et al., 2017).

Por outro lado, o uso da carragena foi capaz de aumentar a atividade da APX (quebra H_2O_2 em monodesidroascorbato + H_2O), enquanto o uso do fungicida suprimiu a atividade dessa enzima. Liu et al. (2021), avaliando os efeitos toxicológicos do difenoconazol, fungicida utilizado na cultura do trigo, relataram que o fungicida diminuiu a atividade de algumas enzimas nas folhas do trigo, levando a uma diminuição no crescimento e desenvolvimento da planta. Esses autores sugerem que o desenvolvimento da planta foi afetado em decorrência da explosão oxidativa e da redução da síntese de clorofila causada pelo fungicida.

Outro mecanismo de defesa utilizado pelas plantas contra estresses bióticos e abióticos é a produção de metabólitos especializados (HARTMANN, 2007). Neste caso, mas não apenas, a atividade da FAL desempenha um papel importante para a produção de compostos fenólicos, como o AS (LEFEVERE et al., 2020). Em comparação ao controle, o uso de fungicida sozinho ou em combinação com a carragena induziu uma redução leve, mas não significativa, na atividade da FAL.

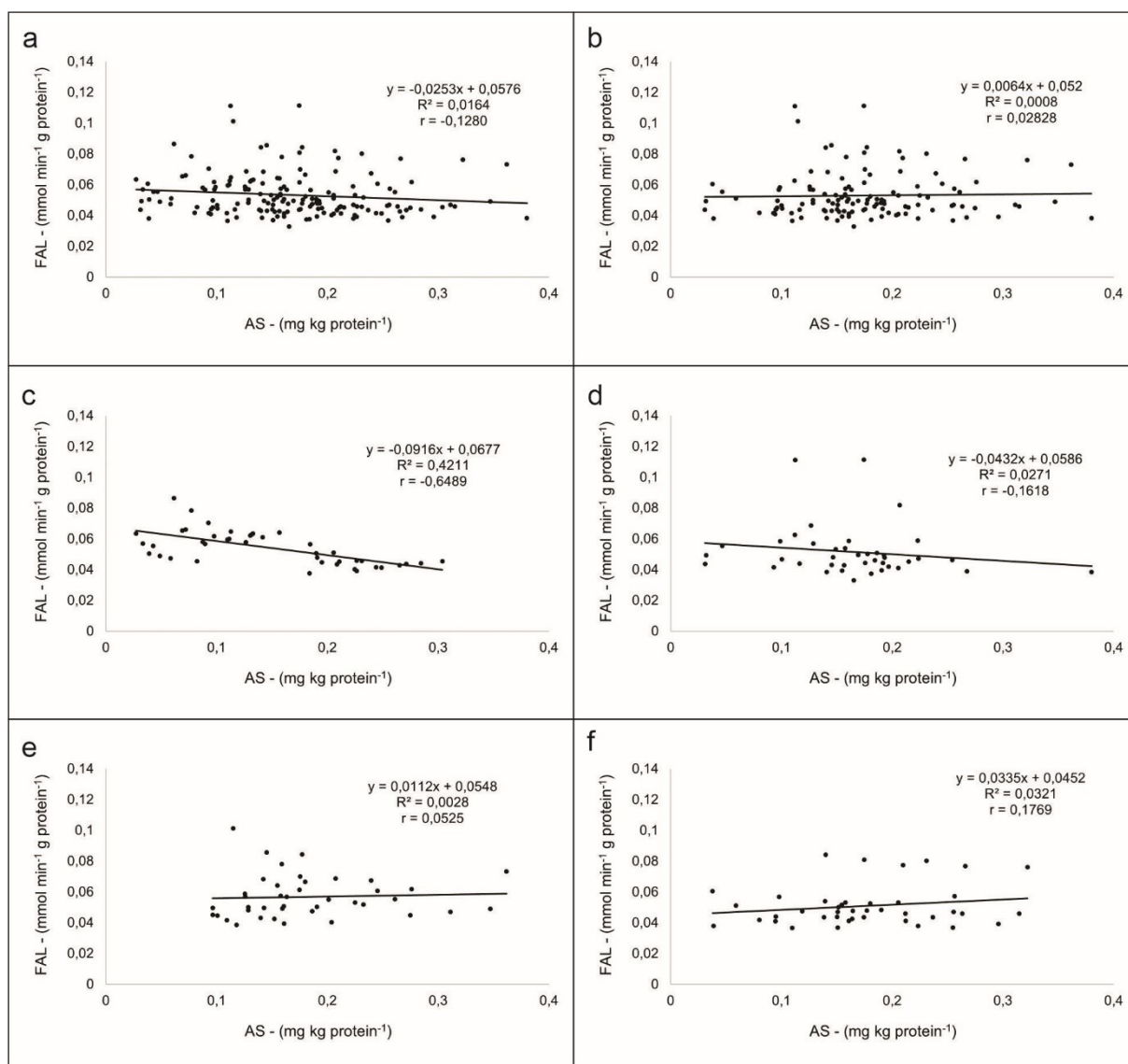
Ao testar os efeitos dos monoterpenos e do fungicida à base de tolclofos-metil + thiram no feijoeiro, Derbalah et al. (2022) não relataram diferenças significativas na expressão de FAL quando o fungicida foi aplicado (em comparação com o controle não tratado). Por outro lado, o uso de monoterpenos aumentou a expressão dessa

enzima, semelhante aos resultados observados com o uso da carragena em plantas de trigo. Esses autores não testaram a combinação dos diferentes tratamentos usados no experimento. Maior atividade da FAL em plantas pode indicar um maior acúmulo de proteína PR, maior teor de SA e, conseqüentemente, uma maior expressão das rotas do ácido salicílico (KIEFER & SLUSARENKO, 2003; WANG et al., 2018), o que favorece a produção de metabólitos especializados (defesas naturais).

O ácido salicílico desempenha um papel importante no desenvolvimento e resistência das plantas, pois está envolvido em diferentes vias de sinalização de defesa (WAR et al., 2011). Além disso, o AS também pode afetar o metabolismo primário das plantas, regulando até certo ponto, a absorção de nutrientes, relações hídricas, fotossíntese, abertura/fechamento estomático (HAYAT et al., 2010) e interações da planta com organismos vizinhos (LEFEVERE et al., 2020). O AS é produzido principalmente através da quebra de fenilalanina (Phe) em ácido transcinâmico pela FAL (LEFEVERE et al., 2020).

Assim como realizado para o experimento em campo aberto, buscou-se identificar a correlação entre a atividade da enzima FAL e da concentração de ácido salicílico pelas plantas de trigo. Essas correlações podem ser observadas na figura 25.

Figura 25 – Correlações de Person para as variáveis “Atividade da FAL” e “Concentração de AS” em plantas de trigo. Correlação entre todos os tratamentos (a), Correlação desconsiderando o controle negativo (b), Correlação apenas para o controle negativo (c), Correlação apenas para o tratamento “Fungicida (3x)” (d), Correlação apenas para o tratamento “Carragena (1x)” (e), Correlação apenas para o tratamento “Carragena (1x) + fung. (3x)” (f). Chapecó, SC, 2022. R^2 : coeficiente de determinação. r : coeficiente de correlação. Figura a: 165 observações, Figura b: 123 observações, Figura c: 42 observações, Figura d: 41 observações, Figura e: 41 observações, Figura f: 41 observações.



Apenas os tratamentos que receberam o bioestimulante a base de carragena apresentaram correlação positiva entre as variáveis AS e atividade da FAL. Maiores atividades da FAL não garantem maiores acúmulos de AS nas plantas (SU et al., 2018). A quebra da *Phe* (fenilalanina) em ácido trans-cinâmico pode favorecer a produção de diferentes compostos fenólicos além do AS (TAIZ et al., 2017). Esta pode ser a razão pela qual a atividade da FAL e o conteúdo de AS não apresentaram alta

correlação na Figura 25.

Essa diferença de correlações observadas em cada tratamento demonstra quão dinâmica é a atividade fisiológica e bioquímica das plantas. Dependendo do estímulo recebido, maiores ou menores quantidades de AS podem ser sintetizadas (SU et al., 2018). O que fica claro a partir da figura 25 é que, mesmo com uma correlação baixa (maior correlação observada de 17,69%) a utilização de carragena favorece a síntese de ácido salicílico, o que pode trazer vários benefícios às plantas (HAYAT et al., 2010; LEFEVERE et al., 2020).

3.4 PARÂMETROS FITOSSANITÁRIOS

A quantificação e análise da severidade de oídio ao 49º dia após a aplicação do eliciador (DAA) foi o único parâmetro fitossanitário considerado nesse estudo. Apesar de não terem sido realizadas inoculações do patógeno nos diferentes tratamentos, essa contaminação deu-se possivelmente devido ao solo utilizado para preenchimento dos vasos. O solo, conforme descrito anteriormente, foi obtido de áreas experimentais aonde o cultivo de trigo ocorre anualmente.

Após coletado, o mesmo foi homogeneizado com substrato orgânico e então utilizado para o preenchimento dos vasos, permitindo também uma homogeneização da quantidade de esporos de *Blumeria graminis* distribuída entre os vasos dos diferentes tratamentos.

Na tabela 23, são apresentados os dados referentes a análise não paramétrica (Kruskal-Wallis) para a severidade de oídio nos diferentes tratamentos ao 49º DAA do eliciador.

Tabela 23. Resultado da análise não paramétrica Kruskal-Wallis para a severidade de oídio (parâmetro fitossanitário). Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Graus de Liberdade	ChiSq	p valor
Severidade de oídio (%)	3	37,9562	<0,0001*

*significativo.

Nesse experimento, a única variável que precisou ser analisada com a utilização de métodos não-paramétricos foi a severidade de oídio em decorrência da existência de diferentes tratamentos sem a incidência da doença (Tabela 24). Para analisar a diferença existente entre as médias dos tratamentos uma análise *post-hoc* não paramétrica (Mann-Whitney) foi utilizada.

Tabela 24. Severidade de Oídio (%) ao 49° dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

Parâmetro analisado	Tratamento	49 DAA ± EP
Severidade de Oídio	Controle negativo	10,75 ± 1,54 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	0,00 ± 0,00 ^b
	Carragena (1x)	0,00 ± 0,00 ^b
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,00 ± 0,00 ^b
	CV (%)	193,69

EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Mann-Whitney (<5%).

Conforme já demonstrado por Görlach et al. (1996), Twamley et al. (2021) e Ducatti et al. (2022), e observado nos resultados obtidos em campo aberto (Capítulo 01), a utilização de eliciadores, e no caso desse trabalho da carragena, garantiu a ausência de incidência de oídio no tratamento em que o uso de fungicida (3 aplicações) não foi realizado. Esse resultado também vai de encontro com o estabelecido por Görlach et al. (1996), o qual afirma que uma única aplicação de eliciadores na cultura do trigo é o suficiente para garantir uma maior resistência contra oídio durante toda a fase de crescimento da cultura.

Os tratamentos “Apenas fungicida (3x)” e “Carragena (1x) + fung. (3x)” também não apresentaram incidência de oídio. Desses tratamentos, aquele que recebeu apenas fungicida proporcionou às plantas resistência ao oídio devido a utilização do agroquímico, enquanto o tratamento que combinou a aplicação de carragena + fungicida, propiciou uma proteção dupla às plantas. Essa proteção decorrente da utilização da carragena deve-se principalmente a síntese e maior concentração de AS nas plantas (Figura 24e).

3.5 ESTRESSE POR CALOR

Com o objetivo de verificar se a utilização do bioestimulante a base de carragena poderia propiciar às plantas uma maior tolerância ao estresse calórico, no 42° DAA do eliciador as plantas foram submetidas por 12 horas a uma temperatura de 48±4 °C. Sete dias após esse estresse calórico 10 plantas de cada tratamento foram coletadas e analisadas.

Essas análises consistiram na separação das partes com lesões decorrentes do estresse calórico (clorose e necrose) das partes não lesionadas/afetadas das

plantas. Após essa separação, as partes foram levadas a estufa com circulação de ar forçada até a obtenção de peso constante (matéria seca – MS). Na tabela 25 são apresentados os dados da análise de variância decorrentes do estresse calórico sofrido pelas plantas. A variável “Massa seca com dano” foi transformada utilizando-se a transformação de Johnson’s para a aquisição de uma distribuição normal de seus resíduos (GUO & LUH, 2010).

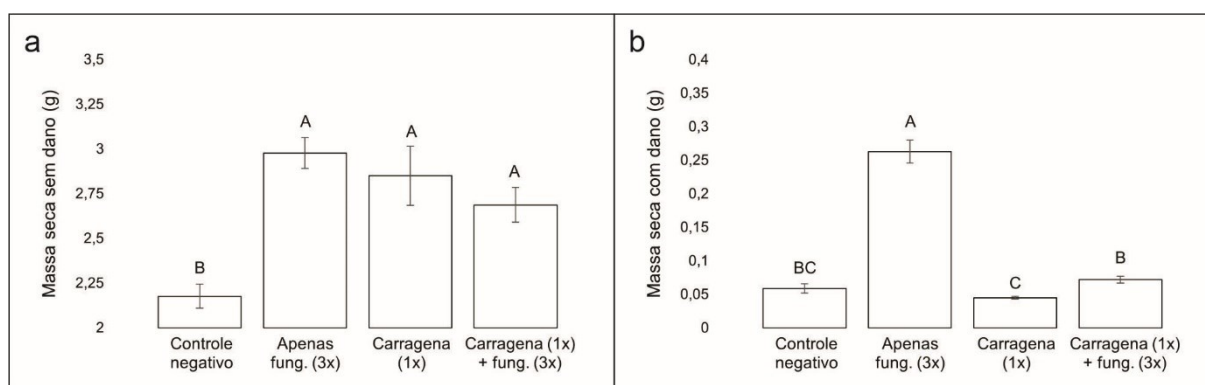
Tabela 25. Resultado da análise de variância para a “Massa seca com dano” e “Massa seca sem dano” (estresse calórico). Chapecó – SC, 2022.

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor
Massa seca sem dano	Tratamento	3	3,7032939	1,23443	10,0995	<0,0001*
	Erro	36	4,4001616	0,12223		
	Total	39	8,1034556			
Massa seca com dano	Tratamento	3	29,005150	9,66838	31,6568	<0,0001*
	Erro	36	10,994850	0,30541		
	Total	39	40,000000			

*significativo para o teste F (< 5%).

Para verificar quais os tratamentos que proporcionaram uma maior resistência das plantas ao estresse calórico, uma análise *post-hoc* foi realizada e é apresentada na figura 26.

Figura 26 – Diferenças estatísticas entre os tratamentos para as variáveis “Massa seca sem dano” (a) e “Massa seca com dano” (b). Chapecó, SC, 2022. Colunas com mesmas letras dentro de cada figura não se diferenciam entre si de acordo com o teste de Tukey HSD (< 5%). Barras representam o erro padrão.



Em relação a massa sem dano (Figura 26^a), o tratamento controle foi o que

apresentou o menor desenvolvimento em comparação aos demais. Possivelmente isso deve-se ao fato de ter sofrido com a incidência de oídio, o que não foi observado nos demais tratamentos. Os demais tratamentos apresentaram-se estatisticamente similares quanto ao seu desenvolvimento e acúmulo de matéria seca.

Ao contrário da massa seca sem dano, o dano causado pelo estresse calórico (Figura 26b) foi superior naqueles tratamentos que receberam aplicações de fungicidas. O tratamento “Carragena (1x) + fung. (3x)” apresentou menores danos em relação ao tratamento “Apenas fungicida (3x)” em decorrência da utilização do eliciador, o que fica claro quando comparamos o tratamento “Controle negativo” e “Carragena (1x)” aos demais tratamentos.

Conforme exposto por Deolu-Ajayi et al. (2022) para bioestimulantes no geral e por Shukla et al. (2016) para a carragena, a utilização de eliciadores ajuda as plantas a enfrentarem e superarem estresses bióticos e abióticos de forma mais eficiente e apresentando menores danos *post stress*.

O fungicida utilizado durante o experimento é composto por Trifloxystrobin + Prothioconazole. Esse fungicida tem demonstrado ser um grande causador de fitotoxicidade em diversas culturas. Leandro (2017) demonstrou que o fungicida Fox® quando aplicado em plantas de soja apresentou uma grande probabilidade de causar fitotoxicidade devido à redução na quantidade de carotenoides presentes nas folhas, redução na concentração de clorofila e aumento da concentração de EROs, o que resultou em uma porcentagem de fitotoxicidade de 7,0%. Muito similar àquela observada no presente trabalho, a qual foi de 8,83% para o tratamento “Apenas fungicida (3x)”.

Roseghini (2016) avaliando o efeito do fungicida a base de Trifloxystrobin + Prothioconazole em soja também relatou problemas de fitotoxicidade que alcançaram uma severidade de até 6,8%. De acordo com Dias (2012) o equilíbrio existente entre as EROs produzidas pelas plantas e a ação de enzimas antioxidantes pode ser afetada pela utilização de fungicidas, o que explicaria o aparecimento de maiores danos fitotóxicos nos tratamentos que receberam a aplicação dos fungicidas.

4. CONCLUSÕES

A utilização de um delineamento inteiramente casualizado com o controle de todas as variáveis e com a utilização de barreira física entre os tratamentos para impedir a intercomunicação entre os mesmos propiciou a obtenção de resultados mais

confiáveis, com menores coeficientes de variação (apêndices) e com maiores diferenças estatísticas.

A utilização da carragena sozinha se mostrou eficiente para a ativação do metabolismo secundário vegetal e para a obtenção de plantas com maior desenvolvimento. Quando combinada ao fungicida, a carragena teve parte de sua ação suprimida, mostrando que o uso de fungicidas prejudica o desenvolvimento vegetal. Isso pode ser comprovado ao se analisar a utilização de fungicidas sem a presença de carragena, o qual causou uma diminuição dos parâmetros referentes ao metabolismo especializado, assim como permitiu uma menor resistência das plantas ao teste de estresse calórico.

A carragena, com uma única aplicação, se mostrou uma ótima aliada para a ativação do metabolismo especializado vegetal, para uma melhor fluidez de elétrons entre os fotossistemas, e para a defesa/desenvolvimento vegetal.

5. REFERÊNCIAS

- BETTINI, M. O.; COSCOLIN, R. B. S.; BRESSAN, D. F.; GOMES, E. R.; BROETTO, F. **Enzimas antioxidantes em tecidos vegetais**. In: BROETTO, F. ed. Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas. IBB: Botucatu, pp 29-34, 2014.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRAMBILLA, A.; SOMMER, A.; GHIRARDO, A.; WENIG, M.; KNAPPE, C.; WEBER, B.; AMESMAIER, M.; LENK, M.; SCHNITZLER, J. P.; VLOT, A. C. Immunity-associated volatile emissions of b-ionone and nonanal propagate defence responses in neighbouring barley plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 615-630, 2022.
- CHOUDHURY, S.; PANDA, P.; SAHOO, L.; PANDA, S. K. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. **Plant Signaling and Behavior**, v. 8, e23681, 2015.
- DEOLU-AJAYI, A. O.; MEER, I. M.; WERF, A. The power of seaweeds as biostimulants to boost crop production under abiotic stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 45, p. 2537-2553, 2022.

- DERBALAH, A.; SHEBL, A. M.; ELGOBASHY, S. F.; AHMAD, A. A.; RAMADAN, N. E.; BEHIRY, S. I.; ABDELKHALEK, A.; SALEEM, M. H.; AL-ASKAR, A. A.; KAMRAN, M.; ELSHARKAWY, M. M. Resistance induction and direct antifungal activity of some monoterpenes against *Rhizoctonia solani*, the causal of root rot in common bean. **Life**, v. 12, artigo 1040, 2022.
- DIAS, M. C. Phytotoxicity: An overview of the physiological responses of plants exposed to fungicides. **Journal of Botany**, ID 135479, p. 1-4, 2012.
- DOMICIANO, G. P.; DUARTE, H. S. S.; MOREIRA, E.; RODRIGUES, F. A. Development and validation of a set of standard area diagrams to aid in estimation of spot blotch severity on wheat leaves. **Plant Pathology**, v. 63, artigo 12150, 2013.
- DUCATTI, R. D. B. Plant Elicitation: The Generation of Misleading and Biased Information. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 3785-3788, 2023.
- DUCATTI, R.D.B.; TIRONI, S. P.; WORDELL-FILHO, J. A.; MAZARO, S. M. Carrageenan as an elicitor of wheat's mechanisms of defense. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 8, p.1-11, 2022.
- GAGLIANO, M.; GRIMONPREZ, M.; DEPCZYNSKI, M.; RENTON, M. Tuned in: plant roots use sound to locate water. **Oecologia**, v. 184, p. 151-160, 2017.
- GIRON-CALVA, P. S.; LI, T.; BLANDE, J. D. Volatile-Mediated interactions between cabbage plants in the field and the impact of ozone pollution. **Journal of Chemistry Ecology**, v. 43, p. 339-350, 2017.
- GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BELTER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOHEL, K-H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, R.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, v. 8, p. 629-643, 1996.
- GUO, J-H.; LUH, W-M. Normalized Johnson's transformation one-sample trimmed t for no-normality. **Journal of Applied Statistics**, v. 27, p. 197-203, 2010.
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2831-2846, 2007.
- HAYAT, Q.; HAYAT, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under

changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 14-25, 2010.

JIN, J.; ZHAO, M.; GAO, T.; JING, T.; ZHANG, N.; WANG, J.; ZHANG, X.; HUANG, J.; SCHWAB, W.; SONG, C. Amplification of early drought responses caused by volatile cues emitted from neighboring tea plants. **Horticulture Research**, v. 8, artigo 243, 2021.

KAUR, G.; PRAKASH, P.; SRIVASTAVA, R.; VERMA, P. C. **Enhanced Secondary Metabolite Production in Hairy Root Cultures Through Biotic and Abiotic Elicitors**. In: Ramawat KG, Ekiert HM, Goyal S eds. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites*. Reference Series in Phytochemistry. Springer: Cham, pp 625-660, 2021.

KHAIT, I.; LEWIN-EPSTEIN, O.; SHARON, R.; SABAN, K.; GOLDSTEIN, R.; ANIKSTER, Y.; ZERON, Y.; AGASSY, C.; NIZAN, S.; SHARABI, G.; PERELMAN, R.; BOONMAN, A.; SADE, N.; YOVEL, Y.; HADANY, L. Sounds emitted by plants under stress are airborne and informative. **Cell**, v. 186, p. 1328-1336, 2023.

KIEFER, I. W.; SLUSARENKO, A. J. The Pattern of Systemic Acquired Resistance Induction within the Arabidopsis Rosette in Relation to the Pattern of Translocation. **Plant Physiology**, v. 132, p. 840-847, 2003.

LEANDRO, N. M. **Mancozebe associado ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi* x *Glycine max*: Resposta fisiológicas das plantas**. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2017.

LEFEVERE, H.; BAUTERS, L.; GHEYSEN, G. Salicylic acid biosynthesis in plants. **Frontiers in Plant Science**, 11, artigo 338, 2020.

LI-COR. **Faster Field Measurements of Asat**. **LI-COR Technical Solutions**. 2015. Disponível em: <<https://www.licor.com/documents/qjedc5txk0g3gcitrfevslhnotgx327.pdf>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2023.

LIU, R.; LI, J.; ZHANG, L.; FENG, T.; ZHANG, Z.; ZHANG, B. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat. **Plants**, v. 10, artigo 2304, 2021.

MARKOVIC, D.; COLZI, I.; TAITI, C.; RAY, S.; SCALONE, R.; ALI, JG.; MANCUSO, S.; NINKOVIC, V. Airborne signals synchronize the defenses of neighboring plants in response to touch. **Journal of Experimental Botany**, v. 2, p. 691-700, 2019.

MARTINAZZO, E. G. **Atividade fotossintética em plantas do gênero *Prunus***. 59f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal do Pelotas. Pelotas, RS, 2011.

MONTEIRO, G.C.; LIMA, G.P.P. **Fenilalanina Amônia Liase (FAL)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017c. Disponível em <<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-fenilalanina-amonia-liase-pal.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

MONTEIRO, G.C.; LIMA, G.P.P. **Superóxido Dismutase (SOD)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017b. Disponível em <<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-superoxido-dismutase-sod.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

MONTEIRO, G.C.; LIMA, G.P.P. **Catalase (CAT)**. Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal – LQBV. Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. 2017a. Disponível em <<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-catalase-cat.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

RECZEK, C. R.; BIRSOV, K.; MARTÍNEZ-REYES, I.; WANG, T.; GAO, P.; SABATINI, D. M.; CHANDEL, N. S. A CRISP screen identifies a pathway required for paraquat-induced cell death. **Nature Chemical Biology**, v. 13, p. 1274-1279, 2017.

ROESE, A. D.; MELO, C. L. P.; GOULART, A. C. P. Espaçamento entre linhas e severidade da ferrugem-asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 300-305, 2012.

ROSEGHINI, L. A. P. **Fitotoxicidez por fungicida em soja e relação com a produtividade**. 28f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em agronomia),

Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, MS, 2016.

SAKATA, N.; AOYAGI, T.; ISHIGA, T.; ISHIGA, Y. Acibenzolar-S-methyl efficacy against bacterial brown stripe caused by *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* in creeping bentgrass. **Disease Control**, v. 87, p. 387-393, 2021.

SARKAR, M. M.; MATHUR, P.; MITSUI, T.; ROY, S. A review on functionalized silica nanoparticles amendment on plant growth and development under stress. **Plant Growth Regulation**, v. 98, p. 421-437, 2022.

SHANG, Q.; WANG, Y.; TANG, H.; SUI, N.; ZHANG, X.; WANG, F. Genetic, hormonal, and environmental control of tillering in wheat. **The Crop Journal**, v. 9, p. 986-991, 2021.

SHUKLA, P. S.; BORZA, T.; CRITCHLEY, A. T.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed-Based Compounds and Products for Sustainable Protection against Plant Pathogens. **Marine Drugs**, v. 19, artigo 59, 2021.

SHUKLA, P.S.; BORZA, T.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Carrageenans from red seaweeds as promoters of growth and elicitors of defense responses in plants. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, artigo 81, 2016.

STIRBET, A; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 104, p. 236-257, 2011.

SU, H.; SONG, S.; YAN, X.; FANG, L.; ZENG, B.; ZHU, Y. Endogenous salicylic acid shows different correlation with baicalin and baicalein in the medicinal plant *Scutellaria baicalensis* Georgi subjected to stress and exogenous salicylic acid. **PlosOne**, v. 13, e0192114, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. 6th edition. Artmed: Porto Alegre, 2017.

TAKAHASHI, I.; KOISHIHARA, H.; ASAMI, T. Evaluation of proticonazole, a triazole-containing fungicide as an inhibitor of strigolactone production. **Journal of Pesticide Science**, v. 47, p. 197-202, 2022.

THAKUR, M.; SOHAL, B. S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against

pathogen infection: A review. **ISRN Biochemisry**, artigo 762412, 2013.

TWAMLEY, T.; GAFFNEY, M.; FEECHAN, A. A microbial fermentation mixture primes for resistance against powdery mildew in wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 01241, 2019.

VICHEROVÁ, E.; GLINWOOD, R.; HÁJEK, T.; SMILAUER, P.; NINKOVIC, V. Bryophytes can recognize their neighbors through volatile organic compounds. **Scientific Reports**, v. 10, artigo 7405, 2020.

WANG, X.; XUE, B.; DAI, J.; QIN, X.; LIU, L.; CHI, Y.; JONES, T.; LI, H. A novel *Meloidogyne incognita* chorismate mutase effector suppresses plant immunity by manipulating the salicylic acid pathway and functions mainly during the early stages of nematode parasitism. **Plant Pathology**, v. 67, p. 1436–1448, 2018.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M.G.; WAR, M. Y.; IGNACIMUTHU, I. Role of salicylic acid in induction of plant defense system in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, p. 1787-1792, 2011.

WARRIER, R. R.; PAUL, M.; VINEETHA, M. V. Estimation of salicylic acid in *Eucalyptus* leaves using spectrophotometric methods. **Genetics and Plant Physiology**, 3, 90-97, 2013.

WU, B.; ZENG, Z.; WU, X.; LI, Y.; WANG, F.; YANG, J.; LI, X. Jasmonic acid negatively regulation of root growth in *Japonica rice* (*Oryza sativa* L.) under cadmium treatment. **Plant Growth Regulation**, v. 98, p. 651-667, 2022.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZIMMERMANN, F. J. P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. 2ª Edição Ampliada e Revisada. Brasília – DF: Embrapa, 2014. 582 p.

CAPÍTULO 03 – COMPARAÇÃO ENTRE OS EFEITOS DA ELICIAÇÃO VEGETAL NOS MODELOS DE EXPERIMENTAÇÃO NO FORMATO DE DELINEAMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS E DELINEAMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO COM MODIFICAÇÕES

Doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10838-4>

RESUMO

O uso das defesas naturais das plantas contra estresses bióticos e abióticos tem ganhado muita atenção nas últimas décadas. Esta técnica é realizada principalmente com a eliciação de plantas por uma variedade de diferentes compostos e estímulos, incluindo aqui os Compostos Orgânicos Voláteis (VOCs). No entanto, como as plantas podem se comunicar umas com as outras, principalmente usando VOCs, a maioria dos estudos de eliciação vegetal são mal conduzidos e propensos a gerar informações errôneas e tendenciosas sobre o real potencial de eliciação de diferentes compostos em diferentes plantas e condições. Para evitar tais problemas, os desenhos experimentais e o planejamento dos ensaios devem ser conduzidos com cautela. O potencial eliciador de uma molécula ou de diferentes estímulos deve ser avaliado em condições totalmente controladas onde a possibilidade de intercomunicação entre diferentes tratamentos seja reduzida a zero. Objetivou-se com esse estudo verificar a interferência existente entre dois experimentos, um realizado em campo aberto na forma de delineamento de blocos ao acaso e outro em condições totalmente controladas na forma de delineamento inteiramente casualizado com adaptações. Em média, observou-se uma interferência superior a 22% para os parâmetros avaliados. Com esses resultados, foi proposta uma recomendação sobre como realizar adequadamente ensaios de eliciação vegetal.

Palavras-chave: Comunicação planta-planta, desenho experimental, eliciação vegetal, indução de resistência, interferência causada por VOCs.

ABSTRACT

The use of plants' natural defenses against biotic and abiotic stresses has gained a lot of attention in the last few decades. This technique is mainly performed with plant elicitation by an array of different compounds and stimuli, including here the Volatile Organic Compounds (VOCs). However, because plants can communicate with one

another, chiefly using VOCs, most of these plant elicitation studies are misconducted and prone to generate misleading and biased information regarding the potential of eliciting compounds over different plants and conditions. To avoid such problems, experimental designs and trial planning must be conducted with caution. A molecule eliciting potential or different stimuli must be assessed in total controlled conditions where the possibility of the intercommunication between different treatments is brought to zero. This study aimed to verify the interference that existed between two experiments, one performed in open field as a randomized complete block design, and another performed in total controlled conditions as a completely randomized design with adaptations. On average, an interference of over 22% was observed for the parameters assessed. With these results, a recommendation on how to properly perform plant elicitation trials was proposed.

Keywords: Experimental design, induction of resistance, plant-plant communication, plant elicitation, VOCs interference.

1. INTRODUÇÃO

A eliciação vegetal foi descrita pela primeira vez no início do século 20 com o uso de esporos atenuados de *Botrytis cinerea* para aumentar a resistência de plantas de begônia contra esta mesma espécie de fungo (CONRATH, 2006). No entanto, foi somente após a década de 1970, com a descoberta das vias envolvidas na síntese de metabólitos especializados (então considerados resíduos metabólicos), que os estudos de eliciação de plantas realmente decolaram mundo a fora (HARTMANN, 2007).

Hoje em dia, esses estudos são realizados por pesquisadores com o uso de compostos naturais/sintéticos e orgânicos/inorgânicos e diferentes estímulos (incluindo aqui o som e o toque – GAGLIANO et al., 2017; MARKIVIC et al., 2019) para aumentar a resposta da hipersensibilidade (*Oxidative Burst* - produção de espécies reativas de oxigênio) e do metabolismo especializado dos vegetais. A maioria desses estudos tem como objetivo identificar melhores abordagens para potencializar o poder dos pesticidas disponíveis comercialmente e criar uma agricultura mais sustentável, explorando as defesas naturais das plantas contra estresses bióticos e abióticos.

Desde a década de 1970, mais de duzentos mil metabólitos especializados sintetizados por plantas foram descobertos e identificados (HARTMANN, 2007), entre

eles os compostos orgânicos voláteis (VOCs). Esses compostos funcionam como grandes comunicadores para organismos vizinhos próximos e distantes, incluindo aqui não apenas plantas (PIESIK et al., 2012; NINKOVIC et al., 2019).

Embora os mecanismos de reconhecimento de VOCs pelas plantas ainda não sejam completamente compreendidos (LORETO & D'AURIA 2022), claramente, os VOCs podem induzir as plantas a se prepararem e se defenderem contra ameaças presentes em seus arredores (MARKOVIC et al., 2019). E é aqui que residem todas as dificuldades na realização de ensaios para avaliar o potencial eliciador de diferentes moléculas/estímulos.

Evitar essas intercomunicações é essencial para realizar adequadamente os estudos de eliciação de plantas. Portanto, a pergunta que sempre deve ser feita antes de iniciar ensaios de eliciação vegetal é: A eliciação vegetal será realizada em condições experimentais que permitirão a geração de informações imparciais e confiáveis sobre o real potencial eliciador de diferentes moléculas/estímulos?

Para responder a esta questão, deve-se considerar que as plantas, “em condições normais de crescimento”, liberam de volta para a atmosfera, na forma de VOCs, cerca de um quinto de todo o CO₂ capturado durante a fotossíntese (BALDWIN, 2010). Quando as plantas são estimuladas a aumentar seus mecanismos de defesa, ou seja, seu metabolismo especializado, seria de se esperar uma maior troca de carbono entre as plantas e a atmosfera, e é exatamente isso que acontece.

A maioria dos compostos eliciadores utilizados na agricultura tem o poder de, além de condicionar as plantas ao aumentar suas defesas, também estimular o seu metabolismo primário, melhorando assim a assimilação de CO₂ e o crescimento/rendimento das plantas (CAPÍTULOS I e II; ERB & KLIEBENSTEIN, 2020).

Portanto, e devido ao fato de que os VOCs liberados pelas plantas podem interferir nas plantas vizinhas, testar compostos/estímulos eliciadores em condições de campo aberto e/ou sem a utilização de barreiras físicas, aumentará a possibilidade de gerar dados errôneos e tendenciosos. Além disso, foi demonstrado que os VOCs têm tempos de vida diferentes na atmosfera (HOLOPAINEM & BLANDE, 2012), o que novamente pode levantar a possibilidade de interferência entre tratamentos e testemunhas.

Essas interferências causadas pelos VOCs em plantas vizinhas, se não forem bem controladas e avaliadas, contribuem para a geração de informações “não

confiáveis” (resultados mascarados) sobre o potencial eliciador de um composto/estímulo e já foram demonstradas por diferentes pesquisadores (PIESIK et al., 2013; BRAMBILLA et al., 2022)).

Dessa forma, a pergunta que fica é: como deve ser a forma mais adequada de testar o potencial de determinados compostos/estímulos eliciadores de plantas para dar origem a dados bem fundamentados quando trabalhando com experimentos de eliciação vegetal? A resposta a essa pergunta está principalmente no desenho experimental utilizado para a condução desses ensaios.

Diante disso, esse trabalho dedicou-se a analisar os dados obtidos da eliciação de plantas de trigo em diferentes situações (campo aberto e fitotron) com o objetivo de definir as melhores condições para testar moléculas eliciadoras nessa cultura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados referentes as variáveis Atividade enzimática da Catalase (CAT), Fenilalanina amônia liase (FAL), Superóxido dismutase (SOD), assim como os dados obtidos para Ácido salicílico (AS), Carbono interno (Ci), Transpiração (E), Condutância estomática (Gs), Fotossíntese (A), Uso eficiente da água (WUE), Eficiência interna de carboxilação (EiC), Severidade de oídio, e Índice SPAD obtidos nos experimentos realizados nos Capítulos 1 e 2 desse trabalho foram utilizados.

Essa análise baseou-se apenas nesses parâmetros devido a terem sido os parâmetros que estiveram presentes em ambos os anos de avaliação. Por exemplo, no ano de 2021 foi contabilizada a altura de plantas, a qual não esteve presente como uma variável analisada no ano de 2022.

Algumas variáveis foram analisadas de formas diferentes em ambos os anos, por exemplo, a atividade enzimática da CAT, FAL e SOD em 2021 foi analisada por miligrama de matéria fresca das amostras. Já em 2022, essas atividades foram analisadas em gramas de proteína das amostras. Dessa forma, e para evitar comparações errôneas, optou-se por padronizar as comparações levando em consideração a porcentagem de incremento ou decréscimo dessas variáveis para os diferentes tratamentos e/ou a subtração das leituras em relação ao controle negativo, ou seja, em relação ao tratamento que não recebeu nem os eliciadores e nem os fungicidas.

2.1 COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Considerou-se a média global do controle negativo como sendo 100%, e a partir desse valor obteve-se as porcentagens de acréscimo e/ou decréscimo que ocorreram em comparação a média geral dos diferentes tratamentos. É importante que fique claro que o objetivo dessa análise foi mostrar a diferença observada entre o experimento realizado em campo aberto na forma de Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) em relação ao experimento realizado em fitotron na forma de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com adaptações.

2.2 COMPARAÇÃO ENTRE DESENHOS EXPERIMENTAIS

Outra análise foi realizada para comparar, com métodos estatísticos de comparação de médias, a diferença existente para cada uma dessas variáveis entre os anos de 2021 (DBC) e 2022 (DIC). Para essa análise, os dados foram padronizados da seguinte forma: cada leitura, para cada variável, foi subtraída da média global obtida de todas as leituras realizadas para o controle negativo, através da seguinte fórmula:

$$Y = L_i - \bar{x}_{tn}$$

Onde: Y é o valor encontrado da subtração realizada para cada leitura dentro de cada variável, L_i é a leitura realizada para cada variável em cada momento durante o experimento, e $\bar{x}_{tn}$ é a média de todas as leituras realizadas do controle negativo para cada variável durante o experimento.

A análise estatística desses dados levou em consideração a checagem de outliers (dados que evidentemente se diferenciam dos demais – Teste de Amplitude Interquartilica) com seus respectivos descartes e posteriormente a realização da análise de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk Test). Na observância de uma distribuição não normal dos resíduos, os dados foram tratados (tratamentos descritos nas tabelas e figuras caso existam) para aquisição de uma distribuição normal. Dados que, mesmo após tratamento apresentaram distribuição fora de normalidade, foram analisados via análises não-paramétricas.

Dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (One-way-ANOVA) e suas médias, quando significativas (< 5%), foram comparadas pelo teste estatístico F-Teste. Os dados que apresentaram distribuição fora de normalidade, mesmo após tratamento, foram submetidos ao teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Todas as análises estatísticas do trabalho em questão foram realizadas via JMP® Pro 14.0.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A condução de testes de eliciação vegetal em diferentes desenhos experimentais sem a realização de adaptações para prevenir que a intercomunicação entre parcelas/tratamentos ocorra, tende a produzir muitos ruídos nos dados obtidos. Esses ruídos podem levar a conclusões errôneas e ao descarte de potentes moléculas/produtos como possíveis opções para o controle de insetos-pragas/patógenos e a criação de uma agricultura mais sustentável.

Na tabela 26, são demonstradas as comparações, em porcentagem, entre as médias de cada tratamento em relação ao controle negativo. Também é apresentada nessa mesma tabela a diferença observada entre os anos de 2021 e 2022 para cada tratamento e a diferença média total entre 2021 e 2022 para todos os tratamentos.

Tabela 26. Diferenças médias observadas (%) em relação ao controle negativo para as variáveis Catalase (CAT), Fenilalanina amônia liase (FAL), Superóxido dismutase (SOD), Ácido salicílico (AS), Carbono interno (Ci), Transpiração (E), Condutância estomática (Gs), Fotossíntese (A), Uso eficiente da água (WUE), Eficiência interna de carboxilação (EiC), Severidade de oídio, e Índice SPAD para os experimentos realizados em 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com adaptações). Chapecó – SC, 2022.

Diferenças (%) entre as médias dos diferentes tratamentos em relação ao controle negativo													
Ano	Tratamento	CAT	FAL	SOD	AS	Ci	E	Gs	A	WUE	EiC	Oídio	SPAD
2021	Apenas fungicidas (3x)	-10,5	6,40	-9,90	9,90	-1,91	6,48	4,02	6,39	-1,50	8,39	-22,8	2,92
	Carragena (1x)	-2,90	5,40	0,21	-	-1,12	3,95	-2,30	2,12	-4,17	2,79	4,35	0,77
	Carragena (1x) + fung. (3x)	-9,10	-5,58	-5,14	-5,63	-1,23	-1,67	-0,23	2,00	0,06	3,02	-30,4	2,73
2022	Apenas fungicidas (3x)	34,9	-0,34	-21,9	7,69	12,1	-0,44	0,62	-6,63	-6,98	-47,5	-100	-1,26
	Carragena (1x)	28,3	4,45	-40,6	20,5	20,8	13,5	20,0	18,5	2,33	-13,9	-100	-2,01
	Carragena (1x) + fung. (3x)	17,3	-5,78	-46,9	16,1	28,1	0,54	3,90	-11,6	-11,1	-37,4	-100	-4,31
Diferenças (%) entre as médias dos diferentes tratamentos em 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com mod.)													
	Apenas fungicidas (3x)	45,4	6,74	31,8	2,21	14,1	6,93	3,39	13,0	5,48	55,8	77,1	4,18
	Carragena (1x)	31,3	0,94	40,8	-	21,9	9,63	22,3	16,3	6,51	16,7	104,3	1,24
	Carragena (1x) + fung. (3x)	26,4	0,19	52,1	21,7	29,3	1,13	4,13	13,6	11,2	40,4	69,5	7,05
Diferença média total (%) observada entre todos os tratamentos (2021 vs. 2022)													
		34,4	2,63	41,6	11,9	21,7	5,89	9,97	14,3	7,74	37,7	83,6	4,16

A influência dos diferentes desenhos experimentais afetou de forma significativa algumas das variáveis analisadas no decorrer dos experimentos. A severidade de oídio foi afetada, em média, em 83,6%, assim como as atividades da CAT e da SOD, que tiveram suas atividades afetadas em 34,4% e 41,6%, respectivamente.

Diferentes autores já haviam relatado a capacidade que VOCs possuem em afetar plantas/parcelas vizinhas e como isso pode afetar e causar ruídos nos resultados e conclusões obtidas em diferentes estudos de eliciação vegetal. Na tabela 27 são apresentados alguns desses trabalhos.

Tabela 27. Alguns trabalhos demonstrando a interferência que diferentes estímulos podem trazer às plantas vizinhas, afetando os resultados obtidos.

Publicação	Molécula/organismo utilizado para a eliciação	Plantas emissoras de VOCs	Plantas receptoras de VOCs	Resultados
PIESIK et al., 2013	Inoculação de <i>Fusarium</i> spp.	Trigo e cevada	Trigo e cevada	Plantas não infectadas colocadas a distâncias de 1 e 3 metros de plantas infectadas tiveram sua produção de VOCs afetada em 25-50% e 10-25%, respectivamente.
GIRON-CALVA et al., 2017	Hervivoria promovida por <i>Pieris brassicae</i> + enjúria mecânica em ambientes com diferentes concentrações de ozônio	Repolho	Repolho	Concentrações mais altas de ozônio afetaram o potencial dos VOCs em estimular plantas vizinhas. Os repolhos receptores de VOCs foram eliciados por plantas vizinhas danificadas e/ou não danificadas. As taxas de emissão de VOCs por plantas expostas aos repolhos danificados, após três dias de introdução de <i>P. brassicae</i> , foram aproximadamente 6% e 15% maiores em ambientes com níveis de ozônio normais e enriquecidos, respectivamente, quando comparados ao controle.
MARKOVIC et al., 2019	Toque por uma escova	Milho	Milho	Plantas de milho receptoras de VOCs tiveram seu metabolismo especializado e a expressão de genes relacionados à defesa afetados por plantas vizinhas que foram estimuladas pelo toque.
VICHEROVÁ et al., 2020	VOCs de <i>Sphagnum flexuosum</i>	<i>S. flexuosum</i>	<i>Hamatocaulis vernicosus</i>	<i>H. vernicosus</i> teve sua produção e composição de VOCs afetadas quando exposto a VOCs de <i>S. flexuosum</i> . O crescimento de <i>H. vernicosus</i> também foi afetado.
JIN et al., 2021	Déficit hídrico	<i>Camellia sinensis</i>	<i>Camellia sinensis</i>	<i>C. sinensis</i> recebendo VOCs de <i>C. sinensis</i> sob estresse hídrico teve seu conteúdo de espécies reativas de oxigênio (ROS) aumentado, alterou sua estrutura/características anatômicas e mostrou-se menos suscetível às condições de seca.
BRAMBILLA et al., 2022	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. hordei	Cevada	Cevada	Plantas de cevada receptoras de VOCs foram eliciadas e tiveram uma maior expressão de genes relacionados à defesa, o que por sua vez tornou as plantas menos

As investigações descritas na Tabela 27 mostram a interferência que os VOCs, produzidos por plantas eliciadas têm sobre plantas vizinhas que não receberam os compostos/estímulos eliciadores. Essas plantas não eliciadas tiveram sua resistência a estresses bióticos e abióticos aumentada devido à intercomunicação entre plantas (realizada por VOCs).

Ao induzir plantas em “condições não controladas” ou quando não isolando totalmente os “controles” dos “tratamentos”, pesquisadores permitem que as plantas eliciadas interajam com organismos vizinhos por meio do uso de VOCs, conforme mostrado nas Tabelas 26 e 27. Esses VOCs eliciarão plantas vizinhas e criarão diversos ruídos nos dados gerados.

Deve-se considerar também que plantas que recebem uma mistura de diferentes VOCs (plantas eliciadas indiretamente) podem ser mais fortemente eliciadas a condições estressantes, ou seja, plantas que recebem VOCs podem apresentar melhores resultados quanto à resistência a estresses bióticos e abióticos e/ou rendimentos mais altos quando comparados a plantas diretamente eliciadas (BROSSET & BLANDE, 2022).

Embora a diferença observada entre alguns parâmetros nos experimentos conduzidos em 2021 e 2022 tenha sido grande, buscou-se verificar se essas diferenças foram significativas. Para isso, comparou-se as médias gerais obtidas das subtrações realizadas conforme descrito na seção “Materiais e Métodos”. Essa comparação pode ser observada na tabela 28.

Tabela 28. Comparação entre as diferenças de médias para as variáveis Catalase (CAT), Fenilalanina amônia liase (FAL), Superóxido dismutase (SOD), Ácido salicílico (AS), Carbono interno (Ci), Transpiração (E), Condutância estomática (Gs), Fotossíntese (A), Uso eficiente da água (WUE), Eficiência interna de carboxilação (EiC), Severidade de oídio, e Índice SPAD analisadas em 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com adaptações).

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	F	p valor ou ChiSq
Ci ²	-	1	-	-	-	0,0006**
E ¹	Ano	1	0,10288	0,10288	0,1019	0,7500
	Erro	188	189,89712	1,01009		
	Total	189	190,00000			
Gs ¹	Ano	1	0,54176	0,54176	0,5376	0,4643

	Erro	188	189,45824	1,00776		
	Total	189	190,00000			
A ¹	Ano	1	0,71184	0,71184	0,7070	0,4015
	Erro	188	189,28816	1,00685		
	Total	189	190,00000			
EiC ¹	Ano	1	11,18740	11,1874	11,7622	0,0007*
	Erro	188	178,81260	0,9511		
	Total	189	190,00000			
WUE	Ano	1	0,50663	0,50663	0,2251	0,6357
	Erro	188	423,07213	2,25038		
	Total	189	423,57877			
Índice SPAD ¹	Ano	1	10,25139	10,2514	10,4852	0,0013*
	Erro	370	361,74861	0,9777		
	Total	371	372,00000			
CAT ¹	Ano	1	26,73883	26,7388	29,9304	<0,0001*
	Erro	232	207,26117	0,8934		
	Total	233	234,00000			
SOD ²	-	1	-	-	-	0,0033**
FAL ²	-	1	-	-	-	<0,0001**
AS ²	-	1	-	-	-	0,5234
Oídio ²	-	1	-	-	-	<0,0001**

*significativo para o teste F (< 5%).

**significativo para o teste de Kruskal-Wallis (< 5%).

¹essas variáveis foram transformadas utilizando a equação de *Johnson's Transformation* para adquirirem distribuição normal.

²essas variáveis foram analisadas via análises não paramétricas.

Pode-se verificar que houve diferença estatística para muitas das variáveis analisadas no decorrer dos experimentos conduzidos nos anos de 2021 (DBC) e 2022 (DIC, com adaptações). Portanto, como deve ser a forma mais adequada de testar o potencial de certos compostos/estímulos eliciadores de plantas para dar origem a dados bem fundamentados?

Como os VOCs têm esse grande potencial de interferir em plantas/organismos vizinhos, é fundamental que os estudos de eliciação vegetal sejam conduzidos em ambientes totalmente controlados e que os tratamentos sejam totalmente isolados uns dos outros, evitando a possibilidade de intercomunicação entre eles. Na Figura 27, é apresentado o que fazer e o que não fazer para avaliar o potencial eliciador de diferentes compostos em diferentes plantas e condições.

Figura 27 – O que fazer e o que evitar ao conduzir testes de eliciação vegetal.



Fonte: Adaptado de DUCATTI, 2023.

4. CONCLUSÕES

Testar o potencial eliciador de diferentes moléculas e estímulos não pode ser considerado algo trivial. A presença de diferentes condições assim como a utilização de desenhos experimentais incorretos e/ou não adaptados a esses estudos pode afetar significativamente os resultados obtidos e levar a conclusões errôneas e tendenciosas quanto ao real poder eliciador de diferentes moléculas e estímulos.

Dessa forma, recomenda-se a utilização de delineamentos inteiramente casualizados com adaptações, nesse caso, a utilização de barreiras físicas para impedir a intercomunicação entre parcelas/tratamentos. Outros desenhos experimentais, como por exemplo o delineamento em blocos casualizados, quadrado latino, etc. podem ser utilizados, entretanto, a utilização de barreiras físicas e o controle das diferentes variáveis nesses tipos de desenhos experimentais é muito mais difícil, o que aumenta a propensão de interferências nos resultados obtidos.

5. REFERÊNCIAS

- BALDWIN IT. Plant volatiles. **Current Biology**, v. 20, p. 392-397, 2010.
- BRAMBILLA, A.; SOMMER, A.; GHIRARDO, A.; WENIG, M.; KNAPPE, C.; WEBER, B.; AMESMAIER, M.; LENK, M.; SCHNITZLER, J. P.; VLOT, A. C. Immunity-associated volatile emissions of b-ionone and nonanal propagate defence responses in neighbouring barley plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 615-630, 2022.
- BROSSET, A.; BLANDE, J. D. Volatile-mediated plant-plant interactions: volatile organic compounds as modulators of receiver plant defence, growth, and reproduction. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 511-528, 2022.
- CONRATH U. Systemic Acquired Resistance. **Plant Signaling and Behavior**, v. 1, p. 179-184, 2006.
- DUCATTI, R. D. B. Plant Elicitation: The Generation of Misleading and Biased Information. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 3785-3788, 2023.
- ERB, M.; KLIEBENSTEIN, D. J. Plant secondary metabolites as defense, regulators and primary metabolites: The blurred functional trichotomy. **Plant Physiology**, v. 184, p. 39-52, 2020.

GAGLIANO, M.; GRIMONPREZ, M.; DEPCZYNSKI, M.; RENTON, M. Tuned in: plant roots use sound to locate water. **Oecologia**, v. 184, p. 151-160, 2017.

GIRON-CALVA, P. S.; LI, T.; BLANDE, J. D. Volatile-Mediated interactions between cabbage plants in the field and the impact of ozone pollution. **Journal of Chemistry Ecology**, v. 43, p. 339-350, 2017.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2831-2846, 2007.

HOLOPAINEN, J. K.; BLANDE, J. D. **Molecular plant volatile communication**, Capítulo 2. Em: Sensing in Nature. LÓPES-LARREA C. New York: Springer, 2012.

JIN, J.; ZHAO, M.; GAO, T.; JING, T.; ZHANG, N.; WANG, J.; ZHANG, X.; HUANG, J.; SCHWAB, W.; SONG, C. Amplification of early drought responses caused by volatile cues emitted from neighboring tea plants. **Horticulture Research**, v. 8, Artigo 243, 2021.

LORETO, F.; D'AURIA, S. How do plants sense volatiles sent by other plants? **Trends in Plant Science**, v. 27, p. 29-38, 2022.

MARKOVIC, D.; COLZI, I.; TAITI, C.; RAY, S.; SCALONE, R.; ALI, J. G.; MANCUSO, S.; NINKOVIC, V. Airborne signals synchronize the defenses of neighboring plants in response to touch. **Journal of Experimental Botany**, v. 2, p. 691-700, 2019.

NINKOVIC, V.; RENSING, M.; DAHLIN, I.; MARKOVIC, D. Who is my neighbor? Volatile cues in plant interactions. **Plant Signaling and Behavior**, e1634993-2, 2019.

PIESIK, D.; PANKA, D.; JESKE, M.; WENDA-PIESIK, A.; DELANEY, K. J.; WEAVER, D. K. Volatile induction of infected and neighbouring uninfected plants potentially influence attraction/repellence of a cereal herbivore. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 296-309, 2013.

VICHEROVÁ, E.; GLINWOOD, R.; HÁJEK, T.; SMILAUER, P.; NINKOVIC, V. Bryophytes can recognize their neighbours through volatile organic compounds. **Scientific Reports**, v. 10, Artigo 7405, 2020.

APÊNDICES

ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A – Valores de condutância estomática (G_s – $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Concentração interna de CO_2 (C_i – $\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa fotossintética líquida (A – $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência instantânea da carboxilação (E_iC – $A C_i^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE – $A E^{-1}$) aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.	119
APÊNDICE B – Valores de Índice SPAD aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.	120
APÊNDICE C – Valores de Altura de plantas aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.	120
APÊNDICE D – Severidade de Oídio e Giberela (%) no decorrer das cinco leituras realizadas para cada doença. Chapecó, SC, 2021.	120
APÊNDICE E – Atividade das enzimas Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD) e Fenilalanina Amônia Liase (FAL) as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A). Chapecó, SC, 2021.	121
APÊNDICE F – Ácido salicílico (partes por milhão – ppm) as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A). Chapecó, SC, 2021.	122
APÊNDICE G – Valores de Desoxinivalenol e <i>Fusarium</i> na semente após colheita do trigo. Chapecó, SC, 2021.	122
APÊNDICE H – Valores de Produtividade (kg ha^{-1}), Peso de Mil Sementes (gramas) e Peso Hectolitro após colheita do trigo. Chapecó, SC, 2021.	122
APÊNDICE I – Valores de Germinação (%), Sementes não germinadas (SNG) (%), Plântulas normais (%) e Plântulas anormais (%) de trigo. Chapecó, SC, 2021.	123
APÊNDICE J – Valores de Comprimento radicular (cm), Comprimento aéreo (cm) e Comprimento total (cm) de plântulas de trigo. Chapecó, SC, 2021.	123
APÊNDICE K – Valores de condutância estomática (G_s – $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Concentração interna de CO_2 (C_i – $\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa fotossintética líquida (A – $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência instantânea da carboxilação (E_iC – $A C_i^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE – $A E^{-1}$) aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	123
APÊNDICE L – Valores de Rendimento quântico máximo do PSII (ϕ_{P_0}), Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b (ψ_0), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b (ϕ_{E_0}), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI (ϕ_{R_0}), Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b (PI_{ABS}), Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo) (ABS/RC), Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC) (TR_0/RC), Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (RC) (ET_0/RC) e Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC) (Di_0/RC) aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	124
APÊNDICE M – Valores de Índice SPAD aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	125
APÊNDICE N – Valores de Número de perfilhos e Área foliar (cm^2) para os diferentes tratamentos ao 49º dia após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	125
APÊNDICE O – Atividade das enzimas Ascorbato Peroxidase (APX), Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Fenilalanina Amônia Liase (FAL), e quantificação de Proteína e Ácido Salicílico as 0, 24, 48, 96, 192, 384 e 768 horas após a aplicação (HAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.	126

APÊNDICE A – Valores de condutância estomática (G_s – $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Concentração interna de CO_2 (C_i – $\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa fotossintética líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência instantânea da carboxilação (E_iC – $A C_i^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE – $A E^{-1}$) aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.

PA ¹	Tratamento	1DA1A ± EP	8DA1A ± EP	15DA1A ± EP	22DA1A ± EP	1DA2A ± EP	8DA2A ± EP	15DA2A ± EP
Ci	Controle negativo	288,87 ± 5,72 ^{ns}	276,37 ± 7,98 ^{ns}	287,33 ± 5,26 ^{ns}	258,37 ± 2,05 ^{ns}	293,83 ± 2,36 ^{ns}	315,00 ± 3,91 ^{ns}	339,12 ± 9,14 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	276,33 ± 2,14	257,87 ± 5,35	274,75 ± 4,78	259,62 ± 7,32	289,12 ± 3,02	311,50 ± 2,74	328,12 ± 5,18
	Carragena (1x)	294,25 ± 6,72	256,12 ± 8,87	278,00 ± 3,94	263,75 ± 1,31	294,62 ± 2,37	311,87 ± 1,62	328,00 ± 2,59
	Carragena (1x) + fung. (3x)	292,75 ± 9,94	261,87 ± 12,77	280,25 ± 4,93	256,75 ± 3,38	297,00 ± 2,52	309,62 ± 5,42	338,33 ± 3,65
	Carragena (2x) + fung. (3x)	283,62 ± 4,31	261,00 ± 11,59	282,37 ± 3,15	261,75 ± 3,67	292,12 ± 1,66	350,06 ± 38,9	325,62 ± 3,89
	ASM (1x)	283,62 ± 3,01	258,87 ± 7,90	284,00 ± 3,73	262,25 ± 5,30	292,27 ± 3,45	309,37 ± 4,66	338,87 ± 3,51
	ASM (1x) + fung. (3x)	279,00 ± 3,14	251,87 ± 1,77	279,50 ± 5,94	261,50 ± 6,52	293,5 ± 0,01	313,00 ± 1,94	330,62 ± 5,35
	ASM (2x) + fung. (3x)	289,37 ± 6,10	263,12 ± 6,64	283,00 ± 7,56	268,00 ± 2,16	288,66 ± 1,58	304,75 ± 1,42	331,50 ± 3,49
	CV (%)	3,76	6,30	3,44	3,26	1,67	8,96	3,06
	ANOVA (p-valor)	0,1927	0,6588	0,7627	0,7508	0,2534	0,4458	0,3711
E	Controle negativo	6,92 ± 0,31 ^{ns}	9,06 ± 1,00 ^{ns}	4,32 ± 0,41 ^{ns}	7,38 ± 0,36 ^{ns}	5,97 ± 0,26 ^{ns}	6,92 ± 0,92 ^{ns}	7,86 ± 0,93 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	6,48 ± 0,50	8,44 ± 0,29	4,58 ± 0,45	8,82 ± 0,28	6,21 ± 0,08	7,36 ± 0,69	8,71 ± 0,74
	Carragena (1x)	6,89 ± 0,44	8,51 ± 0,81	4,67 ± 0,28	8,18 ± 0,41	6,57 ± 0,06	6,97 ± 0,77	8,55 ± 0,50
	Carragena (1x) + fung. (3x)	6,83 ± 0,77	8,82 ± 1,27	4,61 ± 0,20	7,77 ± 0,33	6,31 ± 0,30	7,35 ± 1,06	7,92 ± 1,00
	Carragena (2x) + fung. (3x)	6,67 ± 0,44	8,25 ± 0,62	4,86 ± 0,27	8,01 ± 0,53	5,97 ± 0,19	7,09 ± 0,88	7,97 ± 0,86
	ASM (1x)	7,17 ± 0,27	7,79 ± 0,31	4,82 ± 0,30	7,27 ± 0,45	6,38 ± 0,12	7,07 ± 1,13	8,80 ± 1,37
	ASM (1x) + fung. (3x)	6,20 ± 0,68	7,89 ± 0,64	4,35 ± 0,32	8,03 ± 0,56	6,47 ± 0,12	7,73 ± 0,93	8,53 ± 0,74
	ASM (2x) + fung. (3x)	6,41 ± 0,37	8,07 ± 0,62	4,39 ± 0,36	7,81 ± 0,35	5,94 ± 0,06	7,36 ± 0,73	8,59 ± 0,56
	CV (%)	14,00	16,90	13,67	11,07	6,22	22,28	19,05
	ANOVA (p-valor)	0,8941	0,9303	0,9070	0,2877	0,1088	0,9985	0,9853
Gs	Controle negativo	0,64 ± 0,02 ^{ns}	0,38 ± 0,03 ^{ns}	0,34 ± 0,03 ^{ns}	0,40 ± 0,02 ^{ns}	0,48 ± 0,004 ^{ab}	0,58 ± 0,03 ^{ns}	0,65 ± 0,06 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,54 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,39 ± 0,005	0,52 ± 0,03	0,48 ± 0,003 ^{ab}	0,67 ± 0,01	0,65 ± 0,04
	Carragena (1x)	0,61 ± 0,02	0,37 ± 0,05	0,35 ± 0,02	0,46 ± 0,03	0,54 ± 0,01 ^{ab}	0,60 ± 0,04	0,57 ± 0,02
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,53 ± 0,03	0,35 ± 0,05	0,37 ± 0,009	0,44 ± 0,03	0,49 ± 0,04 ^{ab}	0,58 ± 0,02	0,58 ± 0,05
	Carragena (2x) + fung. (3x)	0,56 ± 0,02	0,36 ± 0,05	0,38 ± 0,02	0,46 ± 0,06	0,46 ± 0,007 ^{ab}	0,62 ± 0,02	0,60 ± 0,05
	ASM (1x)	0,60 ± 0,04	0,34 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,38 ± 0,03	0,48 ± 0,03 ^{ab}	0,55 ± 0,04	0,64 ± 0,02
	ASM (1x) + fung. (3x)	0,50 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,46 ± 0,05	0,55 ± 0,01 ^a	0,61 ± 0,02	0,67 ± 0,04
	ASM (2x) + fung. (3x)	0,53 ± 0,03	0,35 ± 0,04	0,38 ± 0,006	0,43 ± 0,02	0,44 ± 0,02 ^b	0,59 ± 0,02	0,67 ± 0,04
	CV (%)	13,12	21,34	12,42	18,09	10,84	10,63	13,61
	ANOVA (p-valor)	0,1041	0,9876	0,4414	0,4162	0,0253	0,3264	0,6811
A	Controle negativo	37,50 ± 2,26 ^{ns}	24,25 ± 1,81 ^{ns}	21,66 ± 0,92 ^{ns}	26,45 ± 1,06 ^{ns}	23,11 ± 0,49 ^{abc}	22,25 ± 0,74 ^b	21,60 ± 0,33 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	35,26 ± 1,55	25,42 ± 0,98	22,23 ± 2,05	31,78 ± 0,03	23,62 ± 0,66 ^{abc}	25,30 ± 0,89 ^a	23,39 ± 0,87
	Carragena (1x)	34,48 ± 2,17	25,25 ± 1,71	22,30 ± 1,41	27,83 ± 1,97	24,51 ± 0,41 ^a	23,38 ± 0,81 ^{ab}	21,74 ± 0,64
	Carragena (1x) + fung. (3x)	34,40 ± 2,72	23,89 ± 1,09	22,88 ± 1,47	28,82 ± 1,45	23,35 ± 0,35 ^{abc}	24,63 ± 0,18 ^a	22,50 ± 1,13
	Carragena (2x) + fung. (3x)	33,33 ± 1,65	24,38 ± 1,03	23,33 ± 1,58	28,38 ± 2,47	22,34 ± 0,17 ^c	25,25 ± 0,79 ^a	23,29 ± 1,13
	ASM (1x)	36,47 ± 1,52	23,82 ± 0,31	23,29 ± 1,33	24,67 ± 1,13	24,18 ± 0,56 ^a	22,09 ± 0,95 ^b	21,50 ± 0,62
	ASM (1x) + fung. (3x)	32,61 ± 2,03	24,39 ± 2,16	21,12 ± 1,43	28,15 ± 1,86	23,75 ± 0,46 ^{ab}	24,05 ± 0,91 ^{ab}	22,67 ± 1,20
	ASM (2x) + fung. (3x)	31,81 ± 1,07	23,65 ± 1,21	20,54 ± 1,35	26,25 ± 0,95	22,48 ± 0,54 ^{bc}	24,39 ± 0,81 ^{ab}	22,99 ± 0,11
	CV (%)	11,20	10,43	12,51	12,12	4,75	7,67	7,36
	ANOVA (p-valor)	0,4710	0,9791	0,8497	0,1156	0,0431	0,0497	0,5855
EiC	Controle negativo	0,130 ± 0,008 ^{ns}	0,088 ± 0,004 ^{ns}	0,078 ± 0,003 ^{ns}	0,102 ± 0,002 ^{ab}	0,078 ± 0,001 ^{ns}	0,070 ± 0,001 ^{ns}	0,060 ± 0,003 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,123 ± 0,006	0,099 ± 0,005	0,080 ± 0,005	0,123 ± 0,006 ^a	0,081 ± 0,002	0,081 ± 0,003	0,071 ± 0,003
	Carragena (1x)	0,118 ± 0,009	0,098 ± 0,004	0,080 ± 0,004	0,105 ± 0,005 ^{ab}	0,083 ± 0,002	0,074 ± 0,001	0,066 ± 0,001
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,117 ± 0,009	0,091 ± 0,004	0,082 ± 0,005	0,112 ± 0,005 ^{ab}	0,074 ± 0,002	0,079 ± 0,002	0,069 ± 0,004
	Carragena (2x) + fung. (3x)	0,118 ± 0,006	0,094 ± 0,005	0,082 ± 0,005	0,108 ± 0,006 ^{ab}	0,076 ± 0,002	0,082 ± 0,003	0,071 ± 0,003
	ASM (1x)	0,128 ± 0,006	0,092 ± 0,003	0,082 ± 0,003	0,094 ± 0,003 ^b	0,076 ± 0,005	0,071 ± 0,002	0,069 ± 0,005
	ASM (1x) + fung. (3x)	0,117 ± 0,006	0,097 ± 0,008	0,075 ± 0,003	0,108 ± 0,005 ^{ab}	0,073 ± 0,005	0,078 ± 0,003	0,068 ± 0,003
	ASM (2x) + fung. (3x)	0,11 ± 0,004	0,089 ± 0,004	0,072 ± 0,003	0,098 ± 0,007 ^{ab}	0,077 ± 0,001	0,080 ± 0,002	0,069 ± 0,002
	CV (%)	16,98	15,53	16,04	16,01	12,92	10,96	14,37
	ANOVA (p-valor)	0,6210	0,6825	0,8911	0,0417	0,2830	0,0920	0,6550
WUE	Controle negativo	5,40 ± 0,08 ^{ns}	2,97 ± 0,23 ^{ns}	4,55 ± 0,12 ^{ns}	3,38 ± 0,04 ^{ns}	3,88 ± 0,13 ^{ns}	3,42 ± 0,52 ^{ns}	2,69 ± 0,24 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	5,58 ± 0,28	3,01 ± 0,07	4,86 ± 0,09	3,61 ± 0,12	3,80 ± 0,14	3,51 ± 0,32	2,73 ± 0,19
	Carragena (1x)	5,00 ± 0,06	2,99 ± 0,10	4,77 ± 0,12	3,39 ± 0,10	3,73 ± 0,07	3,42 ± 0,23	2,57 ± 0,17
	Carragena (1x) + fung. (3x)	5,11 ± 0,35	2,83 ± 0,30	4,96 ± 0,31	3,53 ± 0,09	3,76 ± 0,15	3,60 ± 0,60	2,62 ± 0,13
	Carragena (2x) + fung. (3x)	5,01 ± 0,08	2,97 ± 0,12	4,79 ± 0,08	3,54 ± 0,20	3,75 ± 0,15	3,72 ± 0,44	2,76 ± 0,05
	ASM (1x)	5,09 ± 0,21	3,06 ± 0,11	4,85 ± 0,18	3,41 ± 0,15	3,73 ± 0,05	3,32 ± 0,41	2,49 ± 0,13
	ASM (1x) + fung. (3x)	5,33 ± 0,25	3,08 ± 0,04	4,86 ± 0,13	3,51 ± 0,12	3,60 ± 0,05	3,27 ± 0,45	2,69 ± 0,17
	ASM (2x) + fung. (3x)	4,98 ± 0,17	2,95 ± 0,10	4,70 ± 0,11	3,36 ± 0,07	3,78 ± 0,07	3,43 ± 0,41	2,71 ± 0,21
	CV (%)	8,33	9,64	6,41	6,80	5,78	22,71	11,93
	ANOVA (p-valor)	0,4073	0,9721	0,7602	0,7886	0,8500	0,9970	0,9598

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE B – Valores de Índice SPAD aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.

PA ¹	Tratamento	1DA1A ± EP	8DA1A ± EP	15DA1A ± EP	22DA1A ± EP	1DA2A ± EP	8DA2A ± EP	15DA2A ± EP
Índice SPAD	Controle negativo	40,94 ± 1,84 ^{ab}	41,61 ± 1,01 ^{ns}	41,94 ± 0,92 ^{ns}	45,95 ± 0,52 ^{ns}	44,60 ± 0,83 ^{bc}	44,58 ± 0,44 ^{ab}	45,27 ± 0,75 ^{abc}
	Apenas fungicidas (3x)	44,78 ± 1,32 ^a	41,33 ± 1,20	43,83 ± 0,69	46,75 ± 0,76	46,53 ± 0,32 ^{ab}	45,68 ± 0,57 ^a	45,35 ± 1,01 ^{abc}
	Carragena (1x)	41,95 ± 1,69 ^{ab}	43,28 ± 0,92	43,61 ± 0,75	46,89 ± 0,46	44,16 ± 0,89 ^c	43,05 ± 0,78 ^b	44,31 ± 0,80 ^{bc}
	Carragena (1x) + fung. (3x)	38,25 ± 1,80 ^{ab}	41,98 ± 0,82	43,96 ± 0,71	46,72 ± 0,55	46,94 ± 0,31 ^a	46,56 ± 0,44 ^a	48,71 ± 0,56 ^a
	Carragena (2x) + fung. (3x)	37,54 ± 1,98 ^b	42,01 ± 0,96	42,81 ± 0,79	45,36 ± 0,55	45,89 ± 0,25 ^{abc}	45,62 ± 0,32 ^a	46,50 ± 0,57 ^{abc}
	ASM (1x)	42,15 ± 1,62 ^{ab}	42,56 ± 0,77	42,52 ± 1,15	45,83 ± 0,45	45,61 ± 0,34 ^{abc}	44,29 ± 0,37 ^{ab}	43,16 ± 0,70 ^c
	ASM (1x) + fung. (3x)	43,34 ± 1,38 ^{ab}	40,85 ± 1,08	43,79 ± 0,99	46,00 ± 0,47	46,42 ± 0,29 ^{ab}	46,12 ± 0,39 ^a	47,27 ± 0,63 ^{ab}
	ASM (2x) + fung. (3x)	42,35 ± 1,27 ^{ab}	42,58 ± 0,73	44,45 ± 0,55	45,52 ± 0,85	46,35 ± 0,28 ^{ab}	44,71 ± 0,64 ^{ab}	43,87 ± 1,22 ^{bc}
	CV (%)	25,22	14,30	12,29	8,17	7,20	7,58	11,81
	ANOVA (p-valor)	0,0305	0,7052	0,4597	0,4535	0,0007	<0,0001	<0,0001

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE C – Valores de Altura de plantas aos 1, 8, 15 e 22 dias após primeira aplicação (DA1A) e aos 1, 8 e 15 dias após segunda aplicação (DA2A) dos eliciadores. Chapecó, SC, 2021.

PA ¹	Tratamento	1DA1A ± EP	8DA1A ± EP	15DA1A ± EP	22DA1A ± EP	1DA2A ± EP	8DA2A ± EP	15DA2A ± EP
Altura de Plantas	Controle negativo	17,41 ± 0,27 ^{ns}	21,78 ± 0,28 ^{ns}	25,76 ± 0,29 ^a	29,96 ± 0,30 ^{ns}	64,85 ± 0,54 ^{bcd}	64,97 ± 0,58 ^d	64,74 ± 0,59 ^{cd}
	Apenas fungicidas (3x)	17,80 ± 0,28	21,01 ± 0,24	23,96 ± 0,33 ^b	28,25 ± 0,33	66,56 ± 0,47 ^{ab}	67,58 ± 0,42 ^{bc}	66,26 ± 0,51 ^{bc}
	Carragena (1x)	18,20 ± 0,34	22,13 ± 0,29	26,38 ± 0,41 ^a	29,31 ± 0,39	63,37 ± 0,74 ^d	64,65 ± 0,66 ^d	63,26 ± 0,60 ^d
	Carragena (1x) + fung. (3x)	18,19 ± 0,33	21,19 ± 0,31	26,17 ± 0,33 ^a	28,74 ± 0,26	68,65 ± 0,55 ^a	69,92 ± 0,43 ^a	68,00 ± 0,53 ^{ab}
	Carragena (2x) + fung. (3x)	17,68 ± 0,23	22,07 ± 0,27	25,66 ± 0,36 ^a	29,11 ± 0,34	67,14 ± 0,44 ^{ab}	68,62 ± 0,45 ^{ab}	68,86 ± 0,55 ^a
	ASM (1x)	17,97 ± 0,27	22,05 ± 0,30	25,79 ± 0,33 ^a	29,24 ± 0,39	63,83 ± 0,60 ^{cd}	66,02 ± 0,58 ^{cd}	64,63 ± 0,50 ^{cd}
	ASM (1x) + fung. (3x)	18,61 ± 0,34	21,75 ± 0,34	26,87 ± 0,32 ^a	29,37 ± 0,35	68,91 ± 0,60 ^a	69,22 ± 0,55 ^{ab}	68,40 ± 0,66 ^{ab}
	ASM (2x) + fung. (3x)	17,69 ± 0,25	22,02 ± 0,28	25,67 ± 0,29 ^a	28,90 ± 0,42	66,04 ± 0,61 ^{bc}	67,68 ± 0,44 ^{abc}	66,68 ± 0,56 ^{abc}
	CV (%)	10,57	8,66	8,79	7,80	6,19	5,58	6,06
	ANOVA (p-valor)	0,1266	0,0437	<0,0001	0,0545	<0,0001	<0,0001	<0,0001

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE D – Severidade de Oídio e Giberela (%) no decorrer das cinco leituras realizadas para cada doença. Chapecó, SC, 2021.

PA ¹	Tratamento	Leitura 01	Leitura 02	Leitura 03	Leitura 04	Leitura 05
Severidade de Oídio	Controle negativo	0,00 ± 0,00	1,47 ± 0,34 ^a	37,25 ± 1,10 ^b	61,92 ± 0,79 ^a	74,10 ± 1,56 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,11 ^c	12,22 ± 0,74 ^c	55,37 ± 1,09 ^{bc}	66,92 ± 1,83 ^{bc}
	Carragena (1x)	0,00 ± 0,00	1,78 ± 0,37 ^a	44,37 ± 1,06 ^a	62,55 ± 0,82 ^c	73,65 ± 1,88 ^{ab}
	Carragena (1x) + fung.	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,02 ^c	8,75 ± 0,56 ^d	46,70 ± 1,26 ^d	66,00 ± 1,70 ^c
	Carragena (2x) + fung.	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,01 ^c	9,85 ± 0,65 ^{cd}	49,80 ± 1,26 ^d	63,60 ± 1,40 ^{cd}
	ASM (1x)	0,00 ± 0,00	1,07 ± 0,27 ^{ab}	40,50 ± 1,14 ^b	59,05 ± 1,39 ^{ab}	74,17 ± 1,60 ^a
	ASM (1x) + fung. (3x)	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,06 ^c	8,80 ± 0,69 ^{cd}	49,47 ± 1,33 ^d	65,97 ± 1,52 ^c
	ASM (2x) + fung. (3x)	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,05 ^c	8,50 ± 0,58 ^d	51,50 ± 1,19 ^{cd}	56,65 ± 1,74 ^d
	CV (%)	-	243,72	75,73	16,97	17,58
	ANOVA (p-valor)	-	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Severidade de Giberela	Controle negativo	0,00 ± 0,00	3,05 ± 2,00 ^{ns}	1,66 ± 0,96 ^{ns}	2,34 ± 0,95 ^{ns}	2,64 ± 0,78 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,00 ± 0,00	1,70 ± 0,98	0,08 ± 0,05	1,31 ± 0,73	2,68 ± 1,11
	Carragena (1x)	0,00 ± 0,00	0,95 ± 0,95	1,53 ± 1,37	3,38 ± 1,49	3,26 ± 0,06
	Carragena (1x) + fung.	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,04	0,39 ± 0,28	0,70 ± 0,25	0,64 ± 0,27
	Carragena (2x) + fung.	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,95 ± 0,80	0,85 ± 0,26	1,42 ± 0,88
	ASM (1x)	0,00 ± 0,00	1,70 ± 1,65	1,77 ± 1,70	2,08 ± 0,88	2,34 ± 0,64
	ASM (1x) + fung. (3x)	0,00 ± 0,00	1,44 ± 1,40	1,66 ± 1,66	3,40 ± 1,41	1,75 ± 0,90
	ASM (2x) + fung. (3x)	0,00 ± 0,00	1,60 ± 0,92	0,89 ± 0,89	2,96 ± 2,50	1,73 ± 1,03
	CV (%)	-	175,14	184,35	115,39	67,66
	Kruskal-Wallis (ChiSq)	-	1,0000	1,0000	1,0000	0,8615

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE E – Atividade das enzimas Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD) e Fenilalanina Amônia Liase (FAL) as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A). Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Catalase (CAT) - (mmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg MF ⁻¹)									
	0HP1A	24HP1A	48HP1A	96HP1A	192HP1A	0HP2A	24HP2A	48HP2A	96HP2A	192HP2A
Controle negativo	4,14 ± 0,35 ^{ns}	4,37 ± 0,61 ^{ns}	3,28 ± 0,67 ^{ns}	5,59 ± 0,65 ^{ns}	3,60 ± 0,26 ^{ns}	5,90 ± 0,35 ^{ns}	5,42 ± 0,50 ^{ns}	4,33 ± 0,60 ^{ns}	3,66 ± 1,04 ^{ns}	6,07 ± 1,30 ^{ns}
Apenas fungicida (3x)	4,14 ± 0,35	3,90 ± 0,31	4,79 ± 0,54	4,05 ± 0,65	3,04 ± 1,89	4,67 ± 1,62	5,27 ± 0,66	4,42 ± 0,60	2,13 ± 0,89	5,17 ± 1,58
Carragena (1x)	4,14 ± 0,35	3,06 ± 0,88	4,97 ± 0,48	3,81 ± 0,66	3,87 ± 0,53	4,08 ± 1,38	4,95 ± 1,46	5,25 ± 0,73	4,30 ± 0,73	6,62 ± 1,57
Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	4,14 ± 0,35	4,26 ± 0,81	2,08 ± 0,83	4,39 ± 0,91	4,05 ± 0,78	2,09 ± 0,63	4,77 ± 0,49	5,69 ± 1,22	5,30 ± 0,56	5,48 ± 0,89
Carragena (2x) + Fungicidas (3x)	4,14 ± 0,35	5,32 ± 0,75	3,78 ± 0,65	4,33 ± 0,87	3,80 ± 0,74	5,89 ± 1,20	4,99 ± 1,47	4,61 ± 0,12	4,54 ± 0,68	5,26 ± 0,76
ASM (1x)	4,14 ± 0,35	4,14 ± 0,29	2,74 ± 1,06	4,13 ± 1,10	3,57 ± 1,26	4,83 ± 0,98	4,16 ± 1,18	4,73 ± 0,56	5,34 ± 1,01	3,76 ± 1,34
ASM (1x) + Fungicidas (3x)	4,14 ± 0,35	4,62 ± 1,01	4,47 ± 1,07	3,44 ± 0,90	5,80 ± 2,06	5,90 ± 0,43	6,42 ± 1,01	6,83 ± 0,25	1,11 ± 0,59	3,62 ± 0,98
ASM (2x) + Fungicidas (3x)	4,14 ± 0,35	2,84 ± 1,31	3,30 ± 0,32	4,08 ± 0,98	3,30 ± 1,06	7,02 ± 0,32	4,61 ± 1,51	4,24 ± 1,50	3,39 ± 1,83	4,26 ± 0,44
Coefficiente de variação geral	-	40,12	44,46	38,43	59,43	44,56	40,69	34,42	60,58	45,76
p-valor (ANOVA)	-	0,4734	0,1268	0,8031	0,8484	0,0568	0,9176	0,3628	0,0675	0,5696

Tratamento	Superóxido Dismutase (SOD) - (U SOD mg MF ⁻¹)									
	0HP1A	24HP1A	48HP1A	96HP1A	192HP1A	0HP2A	24HP2A	48HP2A	96HP2A	192HP2A
Controle negativo	43,85 ± 0,01 ^{ns}	45,65 ± 0,04 ^b	44,63 ± 0,45 ^{ns}	44,38 ± 1,12 ^{ns}	47,97 ± 0,82 ^{ns}	47,64 ± 1,20 ^{ns}	45,18 ± 0,63 ^{ns}	44,59 ± 1,41 ^a	45,59 ± 0,64 ^{ns}	47,62 ± 2,55 ^{ns}
Apenas fungicida (3x)	45,09 ± 1,92	44,84 ± 0,15 ^b	43,43 ± 0,78	45,83 ± 1,49	25,56 ± 12,24	46,06 ± 1,77	42,68 ± 0,70	44,25 ± 0,33 ^{ab}	30,60 ± 9,27	44,91 ± 0,80
Carragena (1x)	44,17 ± 1,07	50,14 ± 0,31 ^a	46,40 ± 1,18	45,26 ± 1,30	45,32 ± 2,27	46,18 ± 1,59	44,42 ± 1,53	45,94 ± 1,33 ^a	46,93 ± 1,23	43,39 ± 0,85
Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	47,81 ± 2,15	46,13 ± 1,02 ^{ab}	37,39 ± 11,01	43,93 ± 0,68	44,25 ± 1,54	34,70 ± 10,18	44,84 ± 0,62	46,16 ± 0,76 ^a	44,68 ± 1,08	45,24 ± 0,63
Carragena (2x) + Fungicidas (3x)	46,50 ± 0,74	46,72 ± 0,59 ^{ab}	46,76 ± 1,11	44,67 ± 1,12	46,91 ± 0,88	45,94 ± 1,55	45,83 ± 1,95	44,87 ± 0,47 ^a	45,24 ± 1,81	47,66 ± 1,79
ASM (1x)	45,87 ± 0,01	48,41 ± 1,34 ^{ab}	34,76 ± 10,10	47,74 ± 0,75	46,52 ± 1,31	47,02 ± 1,83	44,82 ± 1,15	45,74 ± 0,37 ^a	44,52 ± 1,50	42,27 ± 0,60
ASM (1x) + Fungicidas (3x)	45,58 ± 0,01	45,21 ± 1,67 ^b	46,47 ± 1,65	45,38 ± 1,05	46,24 ± 2,20	45,34 ± 0,45	47,28 ± 0,61	47,99 ± 1,11 ^b	14,49 ± 10,00	47,26 ± 1,59
ASM (2x) + Fungicidas (3x)	45,29 ± 0,04	46,92 ± 0,81 ^{ab}	45,47 ± 0,80	46,25 ± 1,45	35,39 ± 10,39	46,98 ± 1,85	36,49 ± 10,65	48,18 ± 1,30 ^{ab}	31,02 ± 9,27	43,83 ± 0,76
Coefficiente de variação geral	4,43	4,99	24,06	5,14	30,01	17,58	17,20	4,84	39,94	6,87
p-valor (ANOVA)	0,3238	0,0078	0,6532	0,4051	0,1368	0,3485	0,6714	0,0689	0,0065	0,0627

Tratamento	Fenilalanina Amônia Liase (FAL) - (mmoles min ⁻¹ mg MF ⁻¹)									
	0HP1A	24HP1A	48HP1A	96HP1A	192HP1A	0HP2A	24HP2A	48HP2A	96HP2A	192HP2A
Controle negativo	0,24 ± 0,01 ^{ns}	0,13 ± 0,03 ^{ns}	0,17 ± 0,01 ^{ns}	0,19 ± 0,05 ^{ns}	0,18 ± 0,01 ^{ns}	0,09 ± 0,03 ^{ns}	0,16 ± 0,04 ^{ns}	0,15 ± 0,01 ^{ns}	0,07 ± 0,02 ^{ns}	0,14 ± 0,05 ^{ns}
Apenas fungicida (3x)	0,13 ± 0,06	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,03	0,19 ± 0,05	0,15 ± 0,04	0,15 ± 0,06	0,21 ± 0,06	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,13 ± 0,01
Carragena (1x)	0,24 ± 0,07	0,16 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,15 ± 0,04	0,16 ± 0,05	0,19 ± 0,05	0,12 ± 0,05	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,02
Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	0,17 ± 0,05	0,14 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,06	0,13 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,17 ± 0,007
Carragena (2x) + Fungicidas (3x)	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,19 ± 0,008	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,11 ± 0,03
ASM (1x)	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,14 ± 0,04	0,21 ± 0,06	0,08 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,21 ± 0,04
ASM (1x) + Fungicidas (3x)	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,05	0,17 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,19 ± 0,04	0,11 ± 0,03
ASM (2x) + Fungicidas (3x)	0,35 ± 0,05	0,17 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,19 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,13 ± 0,03	0,18 ± 0,02
Coefficiente de variação geral	48,67	37,69	35,72	50,10	30,73	56,84	48,04	51,27	50,67	43,63
p-valor (ANOVA)	0,0733	0,9058	0,4543	0,5464	0,8234	0,9453	0,9038	0,1635	0,2158	0,2812

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE F – Ácido salicílico (partes por milhão – ppm) as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a primeira aplicação (HA1A) e as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a segunda aplicação dos eliciadores (HA2A). Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Ácido salicílico (ppm g MF ⁻¹)				
	0HP1A	24HP1A	48HP1A	96HP1A	192HP1A
Controle negativo	2,26 ± 0,01 ^b	2,83 ± 0,25 ^{ns}	2,87 ± 0,58 ^{ns}	2,07 ± 0,25 ^b	3,38 ± 0,07 ^a
Apenas fungicida (3x)	1,74 ± 0,1 ^b	2,86 ± 0,02	3,01 ± 0,12	3,15 ± 0,02 ^a	2,24 ± 0,15 ^b
Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	2,93 ± 0,18 ^a	2,25 ± 0,21	2,02 ± 0,03	2,47 ± 0,21 ^b	2,49 ± 0,19 ^b
Carragena (2x) + Fungicidas (3x)	1,83 ± 0,13 ^b	2,60 ± 0,01	2,36 ± 0,09	2,27 ± 0,13 ^b	3,64 ± 0,25 ^a
Coefficiente de variação geral	23,96	13,45	23,80	20,15	22,72
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0006	0,1043	0,1556	0,0148	0,0016

Tratamento	Ácido salicílico (ppm g MF ⁻¹)				
	0HP2A	24HP2A	48HP2A	96HP2A	192HP2A
Controle negativo	1,49 ± 0,24 ^b	1,94 ± 0,15 ^a	1,04 ± 0,36 ^{ns}	1,30 ± 0,22 ^{ns}	1,14 ± 0,01 ^{ns}
Apenas fungicida (3x)	2,18 ± 0,02 ^a	2,08 ± 0,03 ^a	1,84 ± 0,06	1,40 ± 0,05	1,82 ± 0,10
Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	1,01 ± 0,07 ^c	1,41 ± 0,22 ^b	1,74 ± 0,09	1,40 ± 0,35	1,44 ± 0,20
Carragena (2x) + Fungicidas (3x)	1,37 ± 0,08 ^{bc}	2,15 ± 0,06 ^a	1,58 ± 0,39	0,81 ± 0,02	1,55 ± 0,19
Coefficiente de variação geral	32,01	19,34	33,20	32,88	22,57
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0020	0,0230	0,2409	0,2319	0,0667

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE G – Valores de Desoxinivalenol e *Fusarium* na semente após colheita do trigo. Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Desoxinivalenol ± EP	<i>Fusarium</i> na semente ± EP
Controle negativo	215,00 ± 37,08 ^{ns}	15,25 ± 1,19 ^{ns}
Apenas fungicidas (3x)	212,50 ± 40,07	14,37 ± 2,00
Carragena (1x)	255,00 ± 68,00	14,37 ± 0,96
Carragena (1x) + fung. (3x)	285,00 ± 63,04	12,25 ± 1,05
Carragena (2x) + fung. (3x)	237,50 ± 26,88	13,00 ± 1,56
ASM (1x)	240,00 ± 24,83	15,62 ± 1,71
ASM (1x) + fung. (3x)	242,50 ± 35,67	14,25 ± 0,85
ASM (2x) + fung. (3x)	315,00 ± 33,29	16,62 ± 1,16
CV (%)	33,44	19,00
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,7275	0,4241

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE H – Valores de Produtividade (kg ha⁻¹), Peso de Mil Sementes (gramas) e Peso Hectolitro após colheita do trigo. Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Produtividade ± EP	PMS ± EP	PH ± EP
Controle negativo	3248,85 ± 158,20 ^{ab}	30,15 ± 0,34 ^{ab}	78,04 ± 0,22 ^{ns}
Apenas fungicidas (3x)	3708,10 ± 330,60 ^{ab}	30,79 ± 0,41 ^{ab}	78,00 ± 0,16
Carragena (1x)	3066,93 ± 127,52 ^{ab}	30,55 ± 0,18 ^{ab}	78,46 ± 0,26
Carragena (1x) + fung. (3x)	4095,39 ± 133,84 ^a	31,24 ± 0,31 ^a	77,61 ± 0,15
Carragena (2x) + fung. (3x)	3680,47 ± 439,56 ^{ab}	31,51 ± 0,24 ^a	77,98 ± 0,10
ASM (1x)	2895,88 ± 251,90 ^b	29,65 ± 0,32 ^b	78,53 ± 0,17
ASM (1x) + fung. (3x)	3860,52 ± 165,69 ^{ab}	31,43 ± 0,28 ^{ab}	77,86 ± 0,27
ASM (2x) + fung. (3x)	4012,93 ± 98,81 ^{ab}	31,43 ± 0,28 ^a	77,86 ± 0,27
CV (%)	16,78	2,61	0,60
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0106	0,0018	0,0868

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE I – Valores de Germinação (%), Sementes não germinadas (SNG) (%), Plântulas normais (%) e Plântulas anormais (%) de trigo. Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Germinação	SNG	Plântulas normais (%)	Plântulas anormais (%)
Controle negativo	91,25 ± 1,80 ^{ns}	8,75 ± 1,80 ^{ns}	86,50 ± 1,55 ^{ns}	4,75 ± 1,63 ^{ns}
Apenas fungicidas (3x)	90,37 ± 3,34	9,62 ± 3,34	83,50 ± 3,49	6,87 ± 0,31
Carragena (1x)	88,87 ± 3,30	11,12 ± 3,30	81,50 ± 1,55	7,37 ± 1,95
Carragena (1x) + fung. (3x)	87,37 ± 2,72	12,65 ± 2,72	81,62 ± 2,29	5,75 ± 1,83
Carragena (2x) + fung. (3x)	91,37 ± 0,55	8,62 ± 0,55	87,75 ± 1,16	3,62 ± 0,94
ASM (1x)	90,12 ± 1,84	9,87 ± 1,84	82,62 ± 2,62	7,50 ± 1,76
ASM (1x) + fung. (3x)	93,00 ± 3,34	7,00 ± 0,79	86,25 ± 1,33	6,75 ± 1,88
ASM (2x) + fung. (3x)	88,87 ± 2,15	11,12 ± 2,15	82,75 ± 2,75	6,12 ± 1,08
CV (%)	4,83	44,27	5,41	48,89
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,7519	0,7519	0,3550	0,6143

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE J – Valores de Comprimento radicular (cm), Comprimento aéreo (cm) e Comprimento total (cm) de plântulas de trigo. Chapecó, SC, 2021.

Tratamento	Comprimento radicular (cm)	Comprimento aéreo (cm)	Comprimento total (cm)
Controle negativo	9,94 ± 0,32 ^c	10,30 ± 0,56 ^{bc}	20,24 ± 0,68 ^{bc}
Apenas fungicidas (3x)	10,32 ± 0,34 ^{abc}	12,46 ± 0,41 ^a	22,78 ± 0,59 ^{ab}
Carragena (1x)	11,13 ± 0,29 ^a	12,54 ± 0,47 ^a	23,68 ± 0,64 ^a
Carragena (1x) + fung. (3x)	10,97 ± 0,31 ^{ab}	12,71 ± 0,51 ^a	23,69 ± 0,61 ^a
Carragena (2x) + fung. (3x)	11,14 ± 0,24 ^a	11,78 ± 0,35 ^{ab}	22,92 ± 0,43 ^a
ASM (1x)	11,15 ± 0,33 ^a	10,94 ± 0,44 ^{abc}	22,10 ± 0,68 ^{abc}
ASM (1x) + fung. (3x)	10,38 ± 0,28 ^{abc}	9,74 ± 0,46 ^c	20,13 ± 0,61 ^c
ASM (2x) + fung. (3x)	10,22 ± 0,33 ^{bc}	11,59 ± 0,43 ^{abc}	21,82 ± 0,57 ^{abc}
CV (%)	18,77	26,73	18,24
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0170	<0,0001	<0,0001

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE K – Valores de condutância estomática (G_s – mol m⁻² s⁻¹), Concentração interna de CO₂ (C_i – μmol mol⁻¹), transpiração (E – mmol H₂O m⁻² s⁻¹), taxa fotossintética líquida (A – μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), eficiência instantânea da carboxilação (E_iC – A C_i^{-1}) e eficiência do uso da água (WUE – A E^{-1}) aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

PA ¹	Tratamento	1DAA ± EP	8DAA ± EP	15DAA ± EP	22DAA ± EP	36DAA ± EP	50DAA ± EP	64DAA ± EP
Ci	Controle negativo	606,62 ± 15,11 ^d	631,50 ± 7,01 ^d	545,75 ± 10,75 ^b	508,37 ± 5,96 ^c	629,87 ± 8,73 ^d	760,00 ± 10,99 ^a	486,00 ± 10,16 ^b
	Apenas fungicidas (3x)	786,00 ± 7,78 ^c	781,00 ± 9,94 ^c	642,25 ± 5,03 ^a	633,50 ± 4,68 ^a	821,75 ± 3,69 ^b	483,25 ± 6,06 ^d	527,75 ± 11,98 ^b
	Carragena (1x)	871,87 ± 7,10 ^b	873,37 ± 9,29 ^b	641,12 ± 4,66 ^a	559,50 ± 4,09 ^b	918,25 ± 4,64 ^c	593,87 ± 5,62 ^c	577,37 ± 8,04 ^a
	Carragena (1x) + fung. (3x)	925,50 ± 17,74 ^a	950,87 ± 6,62 ^d	650,00 ± 8,10 ^a	508,87 ± 2,42 ^c	1010,87 ± 6,03 ^d	695,75 ± 9,23 ^b	597,25 ± 12,68 ^a
	CV (%)	15,99	15,18	7,75	9,65	17,07	17,19	9,67
E	ANOVA (<i>p</i> -valor)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	Controle negativo	3,66 ± 0,19 ^b	5,42 ± 0,27 ^{ns}	3,94 ± 0,14 ^{ns}	4,72 ± 0,39 ^{ns}	4,09 ± 0,21 ^{ns}	5,49 ± 0,17 ^{ns}	3,81 ± 0,36 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	4,59 ± 0,23 ^a	5,47 ± 0,30	4,15 ± 0,19	5,08 ± 0,23	4,07 ± 0,16	3,85 ± 0,16	3,79 ± 0,15 ^b
	Carragena (1x)	4,57 ± 0,16 ^a	6,48 ± 0,18	4,12 ± 0,19	5,16 ± 0,30	4,63 ± 0,20	5,92 ± 0,26	4,48 ± 0,31 ^a
	Carragena (1x) + fung. (3x)	3,79 ± 0,07 ^b	5,64 ± 0,42	3,97 ± 0,36	4,83 ± 0,16	4,23 ± 0,17	5,25 ± 0,19	3,59 ± 0,37 ^a
Gs	CV (%)	15,54	16,21	16,01	15,98	13,19	18,74	23,30
	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0006	0,0727	0,8985	0,6683	0,1557	<0,0001	0,2300
	Controle negativo	0,34 ± 0,02 ^b	0,55 ± 0,03 ^{ab}	0,57 ± 0,05 ^b	0,72 ± 0,07 ^{ns}	0,62 ± 0,04 ^{ab}	0,57 ± 0,07 ^{ab}	0,36 ± 0,05 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,49 ± 0,03 ^a	0,51 ± 0,04 ^b	0,75 ± 0,05 ^a	0,71 ± 0,06	0,57 ± 0,02 ^b	0,39 ± 0,03 ^b	0,35 ± 0,04
	Carragena (1x)	0,52 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,03 ^a	0,67 ± 0,03 ^{ab}	0,83 ± 0,05	0,73 ± 0,02 ^a	0,67 ± 0,10 ^a	0,38 ± 0,05
WUE	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,50 ± 0,02 ^a	0,53 ± 0,06 ^{ab}	0,58 ± 0,03 ^b	0,65 ± 0,02	0,58 ± 0,02 ^b	0,45 ± 0,05 ^{ab}	0,29 ± 0,05
	CV (%)	21,45	25,54	22,50	23,35	17,25	41,16	40,98

	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0002	0,0284	0,0448	0,2098	0,0050	0,0442	0,6420
A	Controle negativo	24,09 ± 1,85 ^{ns}	20,15 ± 1,13 ^b	10,39 ± 0,95 ^{ab}	14,97 ± 1,29 ^b	18,47 ± 2,28 ^{ab}	26,04 ± 1,10 ^a	14,43 ± 1,19 ^{ab}
	Apenas fungicidas (3x)	23,51 ± 1,42	23,43 ± 3,26 ^{ab}	8,74 ± 1,43 ^{ab}	12,63 ± 1,16 ^b	14,72 ± 1,41 ^b	17,93 ± 0,93 ^b	19,04 ± 0,51 ^a
	Carragena (1x)	27,88 ± 1,09	30,67 ± 2,43 ^a	12,92 ± 1,19 ^a	20,52 ± 1,38 ^a	21,16 ± 0,99 ^a	26,94 ± 1,04 ^a	12,24 ± 1,62 ^b
	Carragena (1x) + fung. (3x)	26,35 ± 3,48	22,35 ± 1,61 ^{ab}	6,29 ± 0,80 ^b	11,03 ± 0,91 ^b	13,88 ± 1,52 ^b	19,09 ± 1,97 ^b	14,56 ± 1,47 ^{ab}
	CV (%)	23,94	30,17	40,55	32,94	30,96	24,13	28,20
EIC	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,4660	0,0165	0,0023	<0,0001	0,0124	<0,0001	0,0065
	Controle negativo	0,039 ± 0,003 ^{ns}	0,031 ± 0,001 ^{ns}	0,019 ± 0,002 ^a	0,029 ± 0,002 ^{ab}	0,029 ± 0,003 ^a	0,034 ± 0,001 ^{bc}	0,029 ± 0,002 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	0,029 ± 0,001	0,030 ± 0,004	0,013 ± 0,002 ^{ab}	0,019 ± 0,001 ^c	0,017 ± 0,001 ^{bc}	0,037 ± 0,001 ^{ab}	0,036 ± 0,001 ^{ab}
	Carragena (1x)	0,032 ± 0,001	0,035 ± 0,003	0,020 ± 0,001 ^a	0,036 ± 0,002 ^a	0,023 ± 0,001 ^{ab}	0,045 ± 0,001 ^a	0,021 ± 0,003 ^b
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,029 ± 0,004	0,023 ± 0,001	0,009 ± 0,001 ^b	0,021 ± 0,001 ^{bc}	0,013 ± 0,001 ^c	0,027 ± 0,003 ^c	0,024 ± 0,002 ^b
WUE	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0517	0,0601	0,0026	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0006
	Controle negativo	6,58 ± 0,36 ^{ns}	3,72 ± 0,15 ^{ns}	2,71 ± 0,35 ^{ab}	3,21 ± 0,22 ^{ab}	4,43 ± 0,40 ^a	4,76 ± 0,23 ^a	3,84 ± 0,18 ^b
	Apenas fungicidas (3x)	5,15 ± 0,26	4,21 ± 0,43	2,07 ± 0,31 ^{ab}	2,47 ± 0,17 ^b	3,56 ± 0,25 ^{ab}	4,67 ± 0,20 ^a	5,08 ± 0,26 ^a
	Carragena (1x)	6,15 ± 0,32	4,73 ± 0,34	3,11 ± 0,21 ^a	4,06 ± 0,33 ^a	4,59 ± 0,21 ^a	4,60 ± 0,24 ^a	2,70 ± 0,24 ^c
	Carragena (1x) + fung. (3x)	6,93 ± 0,92	4,03 ± 0,32	1,68 ± 0,25 ^b	2,33 ± 0,25 ^b	3,22 ± 0,27 ^b	3,69 ± 0,42 ^b	4,10 ± 0,24 ^b
	CV (%)	25,77	23,10	40,36	32,40	24,94	20,06	27,07
	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,1287	0,2093	0,0081	0,0001	0,0066	0,0476	<0,0001

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE L – Valores de Rendimento quântico máximo do PSII (ϕ_{Po}), Probabilidade que um elétron preso no PSII seja transferido de Q_a para Q_b (ψ_o), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons da Q_a para Q_b (ϕ_{Eo}), Rendimento quântico do fluxo de transporte de elétrons até o PSI (ϕ_{Ro}), Índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo sistema antena do PSII, para a redução da Q_b (PI_{ABS}), Fluxo de absorção por centro de reação (RC) (tamanho aparente do sistema antena de um PSII ativo) (ABS/RC), Fluxo de energia capturado por centro de reação (RC) (TR_o/RC), Fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (RC) (ET_o/RC) e Fluxo de energia dissipada por centro de reação (RC) (Di_o/RC) aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

PA ¹	Tratamento	1DAA ± EP	8DAA ± EP	15DAA ± EP	22DAA ± EP	36DAA ± EP	50DAA ± EP	64DAA ± EP
ϕ_{Po}	Controle negativo	0,809 ± 0,003 ^{ab}	0,800 ± 0,003 ^{ns}	0,777 ± 0,008 ^b	0,787 ± 0,008 ^{ns}	0,788 ± 0,004 ^{ns}	0,803 ± 0,002 ^{ns}	0,780 ± 0,010 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,813 ± 0,002 ^a	0,807 ± 0,002	0,804 ± 0,003 ^a	0,800 ± 0,004	0,792 ± 0,009	0,794 ± 0,006	0,802 ± 0,003
	Carragena (1x)	0,803 ± 0,001 ^b	0,810 ± 0,002	0,802 ± 0,001 ^a	0,798 ± 0,006	0,807 ± 0,003	0,794 ± 0,007	0,795 ± 0,004
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,802 ± 0,001 ^b	0,806 ± 0,002	0,787 ± 0,003 ^{ab}	0,794 ± 0,003	0,793 ± 0,005	0,795 ± 0,004	0,800 ± 0,002
	CV (%)	1,07	1,08	2,36	2,37	2,47	2,23	2,52
ψ_o	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0047	0,0633	0,0014	0,4445	0,1415	0,6521	0,0586
	Controle negativo	0,606 ± 0,009 ^{ns}	0,558 ± 0,010 ^b	0,486 ± 0,017 ^b	0,560 ± 0,024 ^a	0,543 ± 0,023 ^{ab}	0,567 ± 0,010 ^{ns}	0,568 ± 0,020 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,565 ± 0,011	0,597 ± 0,010 ^a	0,553 ± 0,013 ^a	0,601 ± 0,015 ^a	0,508 ± 0,029 ^b	0,508 ± 0,010	0,597 ± 0,008
	Carragena (1x)	0,587 ± 0,015	0,576 ± 0,008 ^{ab}	0,545 ± 0,016 ^{ab}	0,597 ± 0,012 ^a	0,604 ± 0,019 ^a	0,520 ± 0,028	0,584 ± 0,016
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,567 ± 0,012	0,561 ± 0,007 ^{ab}	0,505 ± 0,018 ^{ab}	0,538 ± 0,012 ^a	0,491 ± 0,025 ^b	0,532 ± 0,016	0,584 ± 0,008
ϕ_{Eo}	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0856	0,0315	0,0190	0,0353	0,0137	0,1470	0,6985
	Controle negativo	0,490 ± 0,007 ^{ns}	0,446 ± 0,009 ^b	0,379 ± 0,016 ^b	0,442 ± 0,022 ^{ns}	0,427 ± 0,020 ^{ab}	0,455 ± 0,009 ^{ns}	0,444 ± 0,019 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,460 ± 0,009	0,482 ± 0,008 ^a	0,445 ± 0,011 ^a	0,482 ± 0,013	0,404 ± 0,026 ^b	0,404 ± 0,011	0,475 ± 0,007
	Carragena (1x)	0,472 ± 0,012	0,467 ± 0,006 ^{ab}	0,438 ± 0,013 ^a	0,477 ± 0,012	0,488 ± 0,016 ^a	0,415 ± 0,025	0,465 ± 0,014
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,454 ± 0,010	0,453 ± 0,006 ^{ab}	0,398 ± 0,015 ^{ab}	0,428 ± 0,010	0,390 ± 0,022 ^b	0,423 ± 0,014	0,467 ± 0,007
ϕ_{Ro}	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0850	0,0168	0,0071	0,0586	0,0167	0,1691	0,3834
	Controle negativo	0,217 ± 0,009 ^{ab}	0,209 ± 0,006 ^{ab}	0,173 ± 0,007 ^b	0,192 ± 0,010 ^{ab}	0,173 ± 0,009 ^{ab}	0,158 ± 0,004 ^a	0,150 ± 0,006 ^{ab}
	Apenas fungicidas (3x)	0,206 ± 0,007 ^{ab}	0,197 ± 0,007 ^{bc}	0,176 ± 0,005 ^{ab}	0,179 ± 0,013 ^{ab}	0,155 ± 0,010 ^b	0,135 ± 0,006 ^b	0,130 ± 0,006 ^b
	Carragena (1x)	0,234 ± 0,008 ^a	0,221 ± 0,004 ^a	0,198 ± 0,006 ^a	0,211 ± 0,007 ^a	0,196 ± 0,008 ^a	0,157 ± 0,006 ^{ab}	0,165 ± 0,008 ^a
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,190 ± 0,006 ^b	0,183 ± 0,005 ^c	0,158 ± 0,005 ^b	0,168 ± 0,008 ^b	0,152 ± 0,007 ^b	0,176 ± 0,007 ^a	0,138 ± 0,004 ^b
PI_{ABS}	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0044	0,0010	0,0009	0,0237	0,0046	0,0005	0,0052
	Controle negativo	2,89 ± 0,17 ^{ns}	2,23 ± 0,16 ^b	1,53 ± 0,21 ^c	2,19 ± 0,34 ^a	2,02 ± 0,27 ^b	2,35 ± 0,16 ^{ns}	2,06 ± 0,28 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	2,68 ± 0,18	2,81 ± 0,12 ^a	2,41 ± 0,20 ^a	2,88 ± 0,27 ^a	2,02 ± 0,28 ^b	1,72 ± 0,14	2,68 ± 0,15
	Carragena (1x)	2,63 ± 0,18	2,64 ± 0,08 ^{ab}	2,28 ± 0,19 ^{ab}	2,82 ± 0,26 ^a	3,06 ± 0,29 ^a	2,03 ± 0,23	2,54 ± 0,24
	Carragena (1x) + fung. (3x)	2,36 ± 0,10	2,38 ± 0,09 ^{ab}	1,64 ± 0,14 ^{bc}	1,91 ± 0,17 ^a	1,71 ± 0,19 ^b	1,99 ± 0,16	2,41 ± 0,10
ABS/RC	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,1666	0,0080	0,0034	0,0377	0,0058	0,1250	0,2030
	Controle negativo	2,30 ± 0,05 ^{ns}	2,32 ± 0,05 ^{ns}	2,35 ± 0,06 ^{ab}	2,45 ± 0,06 ^a	2,37 ± 0,03 ^{ns}	2,32 ± 0,04 ^{ns}	2,52 ± 0,10 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	2,17 ± 0,03	2,23 ± 0,02	2,19 ± 0,04 ^b	2,20 ± 0,06 ^{bc}	2,28 ± 0,09	2,40 ± 0,05	2,24 ± 0,04 ^b
	Carragena (1x)	2,27 ± 0,03	2,21 ± 0,02	2,21 ± 0,04 ^b	2,19 ± 0,05 ^c	2,20 ± 0,05	2,29 ± 0,05	2,26 ± 0,05 ^b
	Carragena (1x) + fung. (3x)	2,27 ± 0,03	2,26 ± 0,02	2,41 ± 0,04 ^a	2,43 ± 0,05 ^{ab}	2,35 ± 0,04	2,32 ± 0,04	2,35 ± 0,02 ^{ab}
	CV (%)	6,16	5,03	7,38	9,51	8,92	7,05	9,59
	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,1367	0,1521	0,0042	0,0028	0,2807	0,4824	0,0145

TR ₀ /RC	Controle negativo	1,86 ± 0,03 ^{ns}	1,85 ± 0,03 ^{ns}	1,82 ± 0,03 ^{ab}	1,93 ± 0,03 ^a	1,86 ± 0,02 ^{ns}	1,86 ± 0,03 ^{ns}	1,96 ± 0,05 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	1,76 ± 0,02	1,80 ± 0,02	1,76 ± 0,02 ^b	1,76 ± 0,04 ^b	1,79 ± 0,05	1,90 ± 0,04	1,79 ± 0,03 ^b
	Carragena (1x)	1,83 ± 0,03	1,79 ± 0,02	1,77 ± 0,03 ^b	1,74 ± 0,03 ^b	1,78 ± 0,03	1,81 ± 0,04	1,80 ± 0,03 ^b
	Carragena (1x) + fung. (3x)	1,82 ± 0,02	1,82 ± 0,02	1,89 ± 0,02 ^a	1,93 ± 0,03 ^a	1,86 ± 0,03	1,84 ± 0,03	1,88 ± 0,02 ^{ab}
	CV (%)	5,67	4,55	5,62	7,99	6,76	6,77	7,32
ET ₀ /RC	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,1927	0,3322	0,0085	0,0008	0,2962	0,4696	0,0132
	Controle negativo	1,12 ± 0,02 ^a	1,03 ± 0,02 ^{ns}	0,88 ± 0,02 ^{ns}	1,07 ± 0,03 ^{ns}	1,01 ± 0,04 ^{ab}	1,05 ± 0,02 ^{ns}	1,11 ± 0,05 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	0,99 ± 0,02 ^b	1,07 ± 0,01	0,97 ± 0,01	1,05 ± 0,02	0,90 ± 0,03 ^b	0,96 ± 0,02	1,06 ± 0,01
	Carragena (1x)	1,07 ± 0,03 ^{ab}	1,03 ± 0,02	0,96 ± 0,02	1,04 ± 0,02	1,07 ± 0,03 ^a	0,94 ± 0,06	1,05 ± 0,02
	Carragena (1x) + fung. (3x)	1,03 ± 0,03 ^{ab}	1,02 ± 0,01	0,95 ± 0,03	1,04 ± 0,02	0,91 ± 0,04 ^b	0,97 ± 0,03	1,10 ± 0,01
Di ₀ /RC	CV (%)	9,45	6,37	9,41	7,84	14,63	12,56	9,59
	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0184	0,3739	0,0929	0,7846	0,0112	0,2208	0,4715
	Controle negativo	0,440 ± 0,018 ^{ab}	0,465 ± 0,016 ^a	0,528 ± 0,032 ^a	0,525 ± 0,033 ^{ns}	0,503 ± 0,017 ^{ns}	0,458 ± 0,012 ^{ns}	0,562 ± 0,053 ^a
	Apenas fungicidas (3x)	0,404 ± 0,008 ^b	0,429 ± 0,007 ^{ab}	0,430 ± 0,015 ^c	0,441 ± 0,022	0,481 ± 0,043	0,495 ± 0,019	0,443 ± 0,012 ^b
	Carragena (1x)	0,447 ± 0,009 ^{ab}	0,419 ± 0,008 ^b	0,437 ± 0,010 ^{bc}	0,443 ± 0,024	0,426 ± 0,017	0,471 ± 0,024	0,464 ± 0,019 ^{ab}
	Carragena (1x) + fung. (3x)	0,449 ± 0,008 ^a	0,438 ± 0,008 ^{ab}	0,513 ± 0,017 ^{ab}	0,501 ± 0,018	0,487 ± 0,021	0,475 ± 0,019	0,472 ± 0,010 ^{ab}
	CV (%)	9,34	8,44	16,04	17,72	18,65	12,76	20,75
	ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0355	0,0314	0,0020	0,0558	0,2341	0,6028	0,0343

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE M – Valores de Índice SPAD aos 1, 8, 15, 22, 36, 50 e 64 dias após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

PA ¹	Tratamento	1DAA ± EP	8DAA ± EP	15DAA ± EP	22DAA ± EP	36DAA ± EP	50DAA ± EP	64DAA ± EP
Índice SPAD	Controle negativo	47,45 ± 1,36 ^{ns}	41,85 ± 1,63 ^{ns}	39,05 ± 0,96 ^{ab}	39,89 ± 1,18 ^{ab}	37,10 ± 1,25 ^{ab}	37,69 ± 0,96 ^{ns}	39,29 ± 1,05 ^{ns}
	Apenas fungicidas (3x)	48,46 ± 0,96	43,17 ± 1,42	38,69 ± 1,10 ^{ab}	39,24 ± 1,17 ^{ab}	34,40 ± 0,81 ^{bc}	36,57 ± 0,88	38,25 ± 1,41
	Carragena (1x)	45,77 ± 1,37	43,69 ± 1,46	40,85 ± 0,53 ^a	42,50 ± 0,98 ^a	38,60 ± 0,69 ^a	37,64 ± 0,63	38,98 ± 0,58
	Carragena (1x) + fung. (3x)	47,41 ± 2,17	43,59 ± 0,98	36,46 ± 1,14 ^b	36,03 ± 0,88 ^b	33,07 ± 0,77 ^c	35,76 ± 0,56	37,82 ± 0,62
	CV (%)	11,05	11,00	9,30	10,80	10,50	7,41	8,65
ANOVA (<i>p</i> -valor)		0,6649	0,7786	0,0244	0,0012	0,0003	0,2540	0,7071

¹parâmetro analisado. EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE N – Valores de Número de perfilhos e Área foliar (cm²) para os diferentes tratamentos ao 49º dia após a aplicação (DAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

Tratamento	Número de perfilhos ± EP	Área foliar ± EP
Controle negativo	6,75 ± 0,33 ^b	351,64 ± 8,60 ^b
Apenas fungicidas (3x)	10,25 ± 0,46 ^a	432,20 ± 12,81 ^a
Carragena (1x)	7,5 ± 0,28 ^b	401,28 ± 27,81 ^{ab}
Carragena (1x) + fung. (3x)	10,00 ± 0,57 ^a	389,90 ± 16,85 ^{ab}
CV (%)	23,47	15,74
ANOVA (<i>p</i> -valor)	<0,0001	0,0274

EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%).

APÊNDICE O – Atividade das enzimas Ascorbato Peroxidase (APX), Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Fenilalanina Amônia Liase (FAL), e quantificação de Proteína e Ácido Salicílico as 0, 24, 48, 96, 192, 384 e 768 horas após a aplicação (HAA) do eliciador. Chapecó, SC, 2022.

Parâmetro analisado	Tratamento	0 HHA ± EP	24 HAA ± EP	48 HAA ± EP	96 HAA ± EP	192 HAA ± EP	384 HAA ± EP	768 HAA ± EP
Ascorbato Peroxidase ($\mu\text{APX g protein}^{-1}$) – APX	Controle negativo	61,04 ± 5,41 ^{ab}	45,07 ± 3,02 ^{ab}	38,46 ± 1,59 ^b	41,57 ± 1,76 ^c	46,54 ± 2,24 ^b	74,93 ± 2,93 ^{ab}	43,62 ± 3,89 ^b
	Apenas fungicida (3x)	44,47 ± 5,16 ^b	62,98 ± 10,66 ^a	52,02 ± 1,24 ^{ab}	54,14 ± 3,21 ^{bc}	63,32 ± 6,65 ^{ab}	50,30 ± 2,40 ^c	56,63 ± 2,75 ^{ab}
	Carragena (1x)	82,37 ± 14,94 ^a	76,18 ± 5,26 ^a	69,44 ± 13,03 ^a	120,99 ± 15,43 ^a	66,51 ± 4,93 ^a	84,22 ± 4,06 ^a	67,68 ± 3,17 ^a
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	66,71 ± 4,25 ^{ab}	31,89 ± 4,39 ^b	42,15 ± 1,74 ^b	69,63 ± 5,38 ^b	73,60 ± 2,97 ^a	63,43 ± 1,92 ^b	65,95 ± 9,27 ^a
	Coefficiente de variação	37,83	39,82	38,63	44,15	23,22	21,40	27,04
	p-valor (ANOVA)	0,0324	0,0074	0,0061	<0,0001	0,0021	<0,0001	0,0087
Catalase ($\mu\text{Kat g protein}^{-1}$) – CAT	Controle negativo	2,13 ± 0,05 ^b	1,83 ± 0,13 ^b	2,50 ± 0,06 ^{ns}	2,89 ± 0,16 ^{ns}	3,17 ± 0,07 ^b	2,92 ± 0,03 ^{ns}	3,06 ± 0,06 ^b
	Apenas fungicida (3x)	2,81 ± 0,20 ^a	3,25 ± 0,30 ^a	2,92 ± 0,24	3,33 ± 0,27	6,01 ± 0,46 ^a	3,27 ± 0,12	3,37 ± 0,11 ^{ab}
	Carragena (1x)	2,61 ± 0,19 ^{ab}	4,10 ± 0,16 ^a	3,57 ± 0,92	2,83 ± 0,03	3,86 ± 0,44 ^b	2,99 ± 0,15	3,87 ± 0,14 ^a
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	2,30 ± 0,15 ^{ab}	2,77 ± 0,32 ^a	2,46 ± 0,11	3,40 ± 0,07	3,91 ± 0,05 ^b	3,16 ± 0,12	3,54 ± 0,15 ^a
	Coefficiente de variação	18,71	34,17	41,73	15,07	31,03	9,89	12,03
	p-valor (ANOVA)	0,0444	0,0001	0,6623	0,1363	<0,0001	0,1979	0,0014
Superoxido Dismutase (USOD g protein ⁻¹) – SOD	Controle negativo	42,21 ± 13,15 ^{ab}	55,05 ± 16,98 ^a	26,34 ± 1,38 ^a	41,75 ± 17,66 ^{ns}	46,17 ± 13,05 ^{ab}	13,95 ± 3,07 ^b	132,56 ± 52,65 ^a
	Apenas fungicida (3x)	13,44 ± 3,25 ^b	7,10 ± 0,55 ^b	57,07 ± 10,69 ^a	43,26 ± 13,89	54,91 ± 16,00 ^a	80,70 ± 26,02 ^a	23,04 ± 4,89 ^b
	Carragena (1x)	48,81 ± 7,84 ^a	4,47 ± 0,39 ^b	36,90 ± 7,68 ^a	12,02 ± 5,43	33,90 ± 10,16 ^{ab}	39,59 ± 5,41 ^a	14,65 ± 3,23 ^b
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	37,75 ± 7,34 ^a	22,34 ± 2,07 ^{ab}	10,25 ± 1,55 ^b	77,10 ± 19,99	14,15 ± 2,35 ^b	12,97 ± 2,75 ^b	12,93 ± 2,69 ^b
	Coefficiente de variação	67,53	126,67	70,74	89,11	82,33	113,11	173,36
	p-valor (ANOVA)	0,0122	0,0012	0,0002	0,0809	0,0363	0,0007	0,0010
Fenilalanina Amonia Liase ($\text{mmol min}^{-1} \text{g protein}^{-1}$) – FAL	Controle negativo	0,060 ± 0,001 ^a	0,053 ± 0,002 ^a	0,067 ± 0,005 ^{ab}	0,043 ± 0,001 ^{bc}	0,049 ± 0,001 ^{ab}	0,041 ± 0,001 ^b	0,062 ± 0,001 ^a
	Apenas fungicida (3x)	0,060 ± 0,005 ^{ab}	0,040 ± 0,001 ^b	0,093 ± 0,017 ^a	0,039 ± 0,001 ^c	0,046 ± 0,001 ^b	0,045 ± 0,001 ^b	0,052 ± 0,001 ^a
	Carragena (1x)	0,079 ± 0,005 ^a	0,047 ± 0,001 ^a	0,063 ± 0,003 ^{ab}	0,051 ± 0,002 ^b	0,054 ± 0,002 ^a	0,057 ± 0,004 ^a	0,041 ± 0,001 ^b
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	0,048 ± 0,003 ^b	0,051 ± 0,002 ^a	0,049 ± 0,001 ^b	0,079 ± 0,001 ^a	0,041 ± 0,001 ^c	0,042 ± 0,001 ^b	0,044 ± 0,001 ^b
	Coefficiente de variação	24,12	14,28	39,40	30,49	13,36	17,61	17,90
	p-valor (ANOVA)	0,0015	<0,0001	0,0069	<0,0001	<0,0001	0,0009	<0,0001
Ácido salicílico ($\text{mg kg protein}^{-1}$) – AS	Controle negativo	0,117 ± 0,007 ^{ab}	0,041 ± 0,004 ^b	0,078 ± 0,004 ^b	0,229 ± 0,011 ^a	0,202 ± 0,006 ^a	0,250 ± 0,017 ^{ns}	0,117 ± 0,012 ^{ns}
	Apenas fungicida (3x)	0,104 ± 0,031 ^b	0,188 ± 0,051 ^a	0,149 ± 0,018 ^a	0,159 ± 0,011 ^b	0,207 ± 0,011 ^a	0,161 ± 0,015	0,161 ± 0,008
	Carragena (1x)	0,176 ± 0,017 ^{ab}	0,159 ± 0,023 ^a	0,161 ± 0,010 ^a	0,265 ± 0,024 ^a	0,137 ± 0,010 ^b	0,226 ± 0,034	0,140 ± 0,015
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	0,208 ± 0,028 ^a	0,091 ± 0,017 ^{ab}	0,178 ± 0,007 ^a	0,223 ± 0,026 ^{ab}	0,207 ± 0,022 ^a	0,212 ± 0,029	0,113 ± 0,018
	Coefficiente de variação	42,03	75,42	33,15	27,35	23,37	31,75	28,96
	p-valor (ANOVA)	0,0183	0,0025	<0,0001	0,0066	0,0013	0,1121	0,1440
Proteína (%)	Controle negativo	12,90 ± 0,84 ^{ns}	14,44 ± 0,55 ^a	11,49 ± 0,48	8,77 ± 0,48 ^b	11,49 ± 0,43 ^{ns}	12,99 ± 0,10 ^{ns}	14,55 ± 0,39 ^{ns}
	Apenas fungicida (3x)	14,85 ± 0,39	11,53 ± 0,44 ^b	12,55 ± 0,95	10,65 ± 0,73 ^{ab}	11,16 ± 0,43	13,97 ± 0,09	13,83 ± 0,61
	Carragena (1x)	12,56 ± 0,79	11,28 ± 0,70 ^b	9,66 ± 1,17	12,95 ± 1,06 ^a	11,66 ± 0,13	13,67 ± 0,25	14,35 ± 0,63
	Carragena (1x) + Fungicidas (3x)	12,98 ± 0,47	11,22 ± 0,69 ^b	12,93 ± 0,75	10,29 ± 0,25 ^{ab}	10,30 ± 0,49	13,12 ± 0,46	15,07 ± 0,32
	Coefficiente de variação	13,19	16,14	20,51	20,76	9,50	5,57	8,62
	p-valor (ANOVA)	0,0927	0,0030	0,0685	0,0042	0,1116	0,0653	0,4061

EP – Erro Padrão. ^{ns} não significativo. Colunas com letras diferentes dentro de cada parâmetro analisada identificam médias que são estatisticamente diferentes de acordo com Tukey HSD (<5%). SOD, CAT e APX foram transformadas para Log_{10} e FAL foi transformada utilizando a equação de *Johnson's Transformation* para adquirirem distribuição normal. Dados são apresentados na escala original

