

Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo

Thiago Anchieta de Melo¹, Marcela Uli Peixoto Araújo², Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra³, Sérgio Florentino Pascholati¹

¹Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP; ²Universidade Federal de Viçosa, UFV, MG; ³Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA.; Parte da monografia do segundo autor, apresentada à Universidade Estadual do Maranhão.

Autor para correspondência: Thiago Anchieta de Melo (thiagoanchieta@gmail.com)

Data de chegada: 08/01/2017. Aceito para publicação em: 16/05/2017.

10.1590/0100-5405/167358

RESUMO

Melo, T.A.; Araújo, M.U.P.; Serra, I.M.R.S.; Pascholati, S.F. Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.3, p.205-211, 2017.

O objetivo deste trabalho foi determinar o potencial de diferentes doses do extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (AN), do fosfito de potássio (FP), do óleo de nim (ON) e do extrato pirolenhoso (EP), todos produtos naturais disponíveis comercialmente, em induzir o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. Foram utilizadas 5 doses para cada produto, sendo: 0,0, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 mL/L para o FP e 0,0, 0,1, 0,3, 0,5 e 1,0 mL/L para os demais. Além destes, o tratamento com o acibenzolar-S-metilico (ASM) serviu de controle positivo. A análise de variância demonstrou que todos os produtos testados foram eficientes

em induzir fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo, com destaque especial para o AN que, nas duas maiores doses, diferiu significativamente tanto da dose zero quanto do controle positivo. Além disso, o AN foi, numericamente, superior aos demais produtos. O aumento progressivo das doses resultou em aumentos também progressivos de fitoalexinas em soja e em sorgo, demonstrando alta correlação do ‘fator dose’ com a quantidade de fitoalexina produzida. Esses resultados apontam para a possibilidade de utilização desses produtos como componentes bastante promissores no manejo integrado de doenças de plantas.

Palavras-chave: *Ascophyllum nodosum*, fosfito de potássio, óleo de nim, extrato pirolenhoso.

ABSTRACT

Melo, T.A.; Araújo, M.U.P.; Serra, I.M.R.S.; Pascholati, S.F. Commercially available natural products induce phytoalexin accumulation in soybean cotyledons and sorghum mesocotyls. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.3, p.205-211, 2017.

The aim of this study was to determine the potential of different concentrations of *Ascophyllum nodosum* marine algae extract (AN), potassium phosphite (PF), neem oil (NO) and pyroligneous extract (EP), all commercially available natural products, to induce phytoalexin accumulation in soybean cotyledons and sorghum mesocotyls. Five different concentrations were used for each product, as follows: 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 mL/L for PF and 0.0, 0.1, 0.3, 0.5 and 1.0 mL/L for the remaining products. In addition, treatment with acibenzolar-S-methyl (ASM) served as a positive control. Analysis of variance showed that all tested products were effective

in inducing phytoalexins in soybean cotyledons and sorghum mesocotyls, specially AN which, at the two highest concentrations, significantly differed from both the concentration zero and the positive control. Moreover, AN was numerically superior to the other products. The progressive increase in concentrations also resulted in progressive phytoalexin increases in soybean and sorghum, showing high correlation of the ‘concentration factor’ with the amount of produced phytoalexin. These results point out to the possibility of using these products as promising components in the integrated management of plant diseases.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*, potassium phosphite, neem oil, pyroligneous extract.

O controle químico de doenças de plantas é, sem dúvida, a técnica de manejo de fitopatossistemas que mais absorveu os avanços tecnológicos das últimas décadas. Aliado ao controle genético, as duas técnicas são quase que imbatíveis no que diz respeito às garantias da produtividade de cultivos importantes economicamente, sendo, por esse motivo, sempre que possível, utilizadas em conjunto. Contudo, a aplicação de produtos químicos, especialmente nos alimentos que são consumidos *in natura*, vem sofrendo crescente resistência, especialmente por parte do público consumidor que, preocupado com os resíduos químicos deixados nos vegetais, optam cada vez mais por produtos oriundos de lavouras manejadas com métodos alternativos de controle (9, 14, 25).

Nesse contexto, existe ampla quantidade de produtos desenvolvidos a partir de fontes naturais, que são vendidos hoje no mercado e apresentam alto potencial para controlar doenças em plantas. Muitos desses produtos agem ativando os mecanismos de resistência

dos vegetais, gerando com isso, uma cascata de sinalizações que culminam com a ativação dos genes de defesa da planta hospedeira. Tal fenômeno é conhecido por indução de resistência. Trata-se de um fenômeno natural de resposta vegetal frente ao ataque do patógeno, que é ativado, tão logo haja interação hospedeiro e agente patogênico (21). O sucesso na infecção de uma planta se dá pela capacidade do patógeno em vencer as barreiras de proteção impostas pelo vegetal, sejam elas estruturais ou bioquímicas, pré ou pós-formadas. Além disso, muito desse sucesso está atrelado à velocidade de resposta da planta no momento da interação com o microrganismo virulento, ou seja, quanto mais rápida for a resposta da planta, menor é a probabilidade de ocorrência da doença (22).

As fitoalexinas são fatores bioquímicos, pós-formados, de resistência dos vegetais, ausentes ou presentes no hospedeiro em níveis baixos antes da infecção e estão altamente relacionadas às respostas de defesa citadas (21). São compostos antimicrobianos de

baixa massa molecular, sintetizadas pelas plantas e que se acumulam nas células vegetais em resposta à infecção microbiana (21, 23). A síntese de fitoalexinas pode ser induzida tanto por eliciadores bióticos quanto abióticos e o grau de expressão dessas moléculas nas plantas está fortemente relacionado com o agente indutor utilizado. Esses compostos agem sobre os microrganismos induzindo a granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas extracelulares microbianas (19). Mais de 300 fitoalexinas já foram descritas e caracterizadas, tendo sido identificadas em mais de 20 famílias de vegetais superiores (29). Segundo Nicholson et al. (20), pelo menos quatro fitoalexinas são produzidas em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sob parasitismo: a luteolinidina, a 5-metoxiluteolinidina, a apigeninidina e o éster do ácido caféico de arabinosol 5-*o*-apigeninidina. Por sua vez, em soja (*Glycine max* L.), a gliceolina (um pterocarpano derivado de um isoflavonoide produzido por espécies da família Fabaceae), é uma molécula importante nas interações da planta com fitopatógenos (2, 19, 29).

Dentre os produtos comerciais que apresentam potencial para a indução de resistência de plantas, está o extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis. As algas marinhas são fontes ricas em nutrientes e compostos bioativos, sendo que, um número expressivo de algas marrons é amplamente usado no manejo de doenças de plantas (5). *A. nodosum* é uma das mais utilizadas e pode ser encontrada facilmente na região costeira do Atlântico Norte. Trabalhos como o de Lizzi et al. (16) já atestaram o potencial do extrato da alga em induzir a fitoalexina capsidiol e aumentar a atividade da enzima peroxidase em pimenteiras e videiras, respectivamente. Subramanian et al. (30) em seus trabalhos com o extrato da alga em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., afirmaram que o mecanismo de ação do extrato está na ativação da rota do ácido jasmônico, em processos de resistência sistêmica induzida.

O fosfito de potássio é um produto comercial vendido no Brasil como *fertilizante foliar que pode induzir o acúmulo de fitoalexinas em plantas*, aumentando a resistência destas às doenças, além de contribuir para a tolerância vegetal (25). É de baixo custo, não fitotóxico e de baixa toxicidade em mamíferos (7). Alguns trabalhos atestam o potencial dos sais de fosfito em aumentar as defesas das plantas, como o de Ribeiro Júnior et al. (24). Os autores observaram que o tratamento de mudas cacaueiras com o fosfito de potássio induziu incrementos na concentração de lignina dessas plantas. Entretanto, a atividade de enzimas antioxidantes, como as peroxidases e as polifenoloxidas, não foi alterada.

Óleos e extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) têm sido testados no contexto do controle alternativo das doenças de plantas e apresentam respostas bastante promissoras (6, 8, 10, 13). O potencial desta planta tem sido atribuído à presença de um composto biodegradável e de persistência curta no ambiente, a azaractina (18). Trabalhos atestam o elevado potencial da molécula no controle de fitopatógenos (10), sendo também já relatado o seu potencial como indutora de resistência, em que se observou o aumento da atividade da enzima polifenoloxidase na interação tomateiro tratado com o óleo de nim *versus Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (11).

O extrato pirolenhoso é um produto natural, orgânico, resultante da condensação da fumaça expelida no processo de carbonização da madeira. Já se tem na literatura, registro do seu potencial para o controle de pragas e doenças (6, 3, 27) e já foram descritos mais de 200 tipos de compostos que interagem sinergicamente promovendo benefícios às plantas, dentre os quais, pode-se destacar os componentes fenólicos, ácidos, especialmente o ácido acético, álcoois e outros (3).

Todos esses produtos são distribuídos comercialmente, em

diferentes marcas e por diferentes empresas, como fertilizantes de plantas. Contudo, sabe-se que, na maioria dos casos, a distribuição de insumos agrícolas dessa forma se dá pelo demorado, burocrático, rígido e oneroso processo de registro de produtos agrícolas no Brasil. Por ser um registro mais rápido, muitas análises que atestariam o potencial indutor dos produtos não são realizadas e, por isso, estes são subutilizados. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar o potencial de diferentes doses do extrato de *A. nodosum*, do fosfito de potássio, do óleo de nim e do extrato pirolenhoso, em induzir fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo.

MATERIAL E MÉTODOS

Determinação das doses dos produtos e delineamento experimental

Os produtos utilizados nos bioensaios foram escolhidos em função da ampla utilização na agricultura. A doses foram determinadas em função da menor e maior dose recomendadas pelo fabricante, para a maioria das culturas, sendo mais duas doses testadas, escolhidas em função de resultados já constantes na literatura. Assim, as doses utilizadas nos testes foram: extrato de *A. nodosum*, o Acadian® (0,0, 0,1, 0,3, 0,5 e 1,0 mL do produto comercial/L); fosfito de potássio, o Phytogard®, contendo 28% de P₂O₅ e 26% de K₂O (0,0, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 mL do produto comercial/L); óleo de nim, o Neemseto® (0,0, 0,1, 0,3, 0,5 e 1,0 mL do produto comercial/L); extrato pirolenhoso, o Biopirol® (0,0, 0,1, 0,3, 0,5 e 1,0 mL do produto comercial/L). A dose 0,0 mL/L consistiu no controle negativo do teste. Além desta, uma dose de 0,5 mg de acibenzolar-S-metilico (ASM)/L foi inserida em cada tratamento e consistiu no controle positivo do teste, sendo esta molécula, até o momento, a única ativadora de plantas registrada no Brasil. Todos os testes foram realizados de maneira independente para cada produto e foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por dose. As médias foram comparadas por análise de variância, com aplicação do teste de Tukey (p = 0,05) e análise de regressão linear para a verificação do efeito do fator dose sobre a quantidade de fitoalexina produzida.

Quantificação das fitoalexinas produzidas em cotilédones de soja

Sementes de soja, cultivar BRS 258, foram desinfestadas por 10 min em uma solução de hipoclorito de sódio a 1,0% sendo, em seguida, lavadas em água corrente abundante e semeadas em bandejas contendo em areia autoclavada. As bandejas foram postas em condição de casa-de-vegetação por 10 dias com temperatura de incubação controlada a 25± °C. Após esse período, os cotilédones das plântulas foram destacados para a execução do bioensaio.

Os cotilédones coletados foram lavados em água destilada e, na parte abaxial destes, foi feito um corte em forma de cunha. Placas de Petri, forradas com quatro folhas de papel filtro e umedecidas com água destilada e autoclavada (ADA), receberam seis cotilédones cada e sobre o corte realizado nas estruturas, foi depositada uma gota de 75 µL das diferentes concentrações definidas para os testes. Assim, as parcelas experimentais foram formadas por uma placa contendo seis cotilédones. Em seguida, as placas foram fechadas, mas não vedadas e incubadas a 26 °C, no escuro, por 20 h. Transcorrido esse período, os cotilédones de cada parcela foram transferidos para um Erlenmeyer com capacidade de 125 mL, contendo 10 mL de ADA, sendo postos,

sem seguida, para agitar em agitador orbital (150 rpm) para a extração dos pigmentos. Finalmente, os cotilédones foram retirados, pesados e o sobrenadante levado ao espectrofotômetro para a determinação da absorbância a 285 nm (14).

Quantificação das fitoalexinas produzidas em mesocótilos de sorgo

Sementes de sorgo, cultivar S10J351E, foram inicialmente desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 1,0%, por 15 min, sendo, em seguida, lavadas em água destilada abundante. Após, as sementes foram enroladas em papel de germinação umedecido e incubadas no escuro, a 28 °C, por 4 dias.

Transcorrido esse período, as plântulas formadas foram expostas à luz por 4 h para a paralização da elongação dos mesocótilos. Depois de paralisados, estes foram cortados a 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em tubos de ensaio, 3 por tubo, contendo 1 mL das diferentes doses determinadas para cada produto. Os tubos foram mantidos em condição de câmara úmida e incubados a 25 °C, luz fluorescente constante, em uma câmara tipo BOD, por 60 h. Após, os mesocótilos foram retirados dos tubos, sendo descartados 0,5 mm basais de cada mesocótilo e a estrutura superior pesada (2,5 cm, aproximadamente). Os mesocótilos foram então transferidos para novos tubos contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado (1,0% de HCl, v/v), incubados por 96 h, no escuro, para a extração dos pigmentos e, finalmente, após esse período, a absorbância do sobrenadante foi determinada a 480 nm (20, 29).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral, pode-se afirmar que todos os produtos testados foram eficientes na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo.

Em soja, as diferentes doses do extrato de *A. nodosum*, do fosfito de potássio e do óleo de nim induziram, significativamente, mais fitoalexina nos cotilédones do que o controle negativo (dose 0,0 mL/L) (Figura 1). No extrato pirolenhoso, somente as doses 0,5 mL/L, maior dose recomendada pelo fabricante, e 1,0 mL/L diferiram significativamente do controle negativo, com valores médios de absorbância maiores (Figura 1). As duas maiores doses do fosfito de potássio (0,3 e 0,4 mL/L), do óleo de nim (0,5 e 1,0 mL/L) e do extrato pirolenhoso (0,5 e 1,0 mL/L), mostraram-se estatisticamente mais eficientes, até mesmo do que o padrão de ativação de resistência em plantas, o acibenzolar-S-metilico (ASM). Para o extrato de *A. nodosum*, as três maiores doses testadas (0,3, 0,5 e 1,0 mL/L), foram estatisticamente superiores ao ASM (Figura 1).

A análise de regressão linear mostrou alta correlação do fator ‘dose’ com a absorbância observada, na qual foi verificado valores de $R^2 > 0,70$ para todos os produtos aplicados nos cotilédones de soja. Assim, aumentos sucessivos na absorbância a 285 nm/ grama de massa fresca (g.m.f.) foram observados à medida que as doses eram aumentadas (Figura 2).

Após a realização do bioensaio em mesocótilos de sorgo, a análise de variância dos dados obtidos demonstrou que as três maiores doses do extrato da alga marinha e do extrato pirolenhoso (0,3, 0,5 e 1,0 mL/L), foram as mais eficientes na indução de fitoalexinas na estrutura, quando

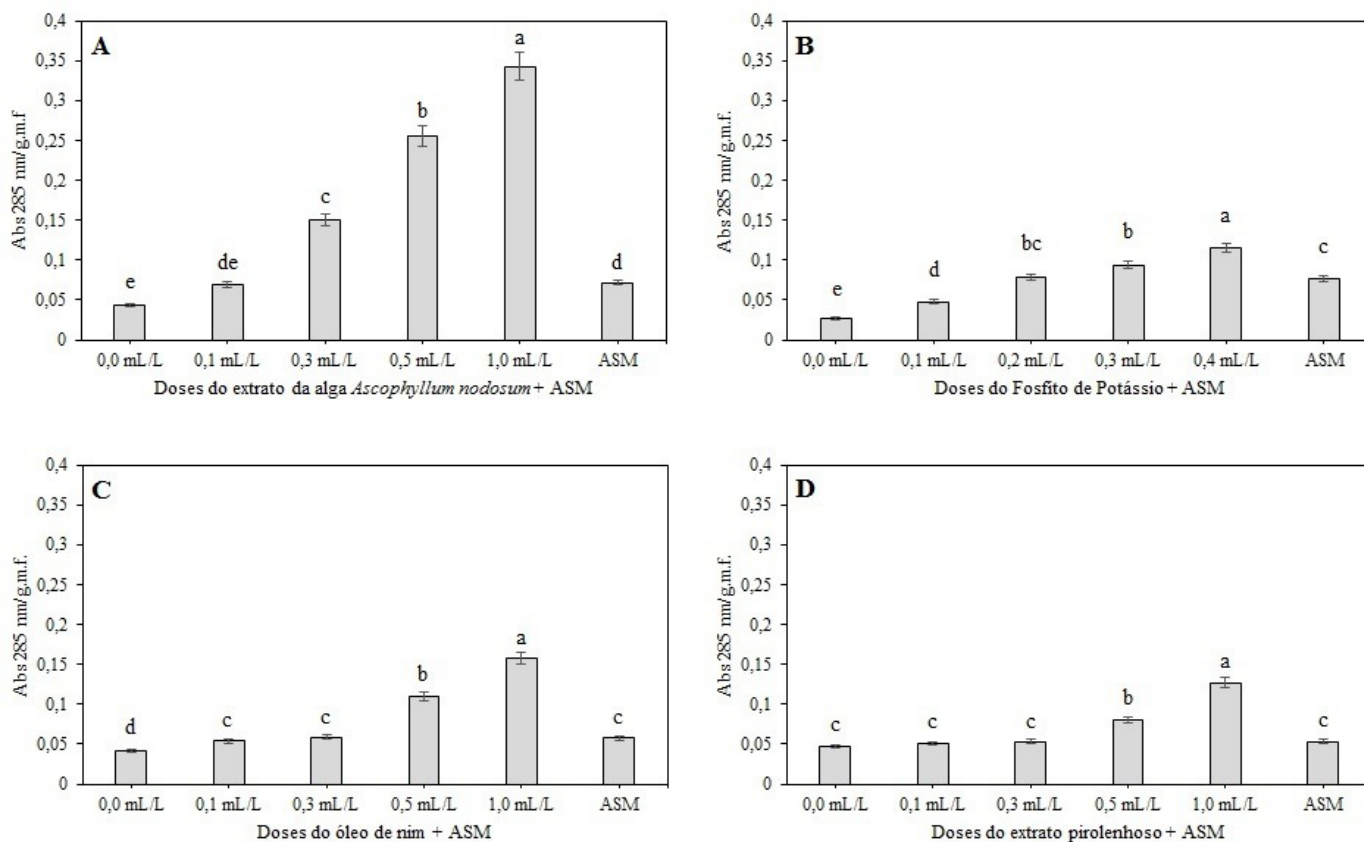


Figura 1. Acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja expostos à diferentes doses do extrato de *Ascophyllum nodosum* (A), fosfito de potássio (B), óleo de nim (C) e extrato pirolenhoso (D). Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média. ASM – acibenzolar-S-metilico.

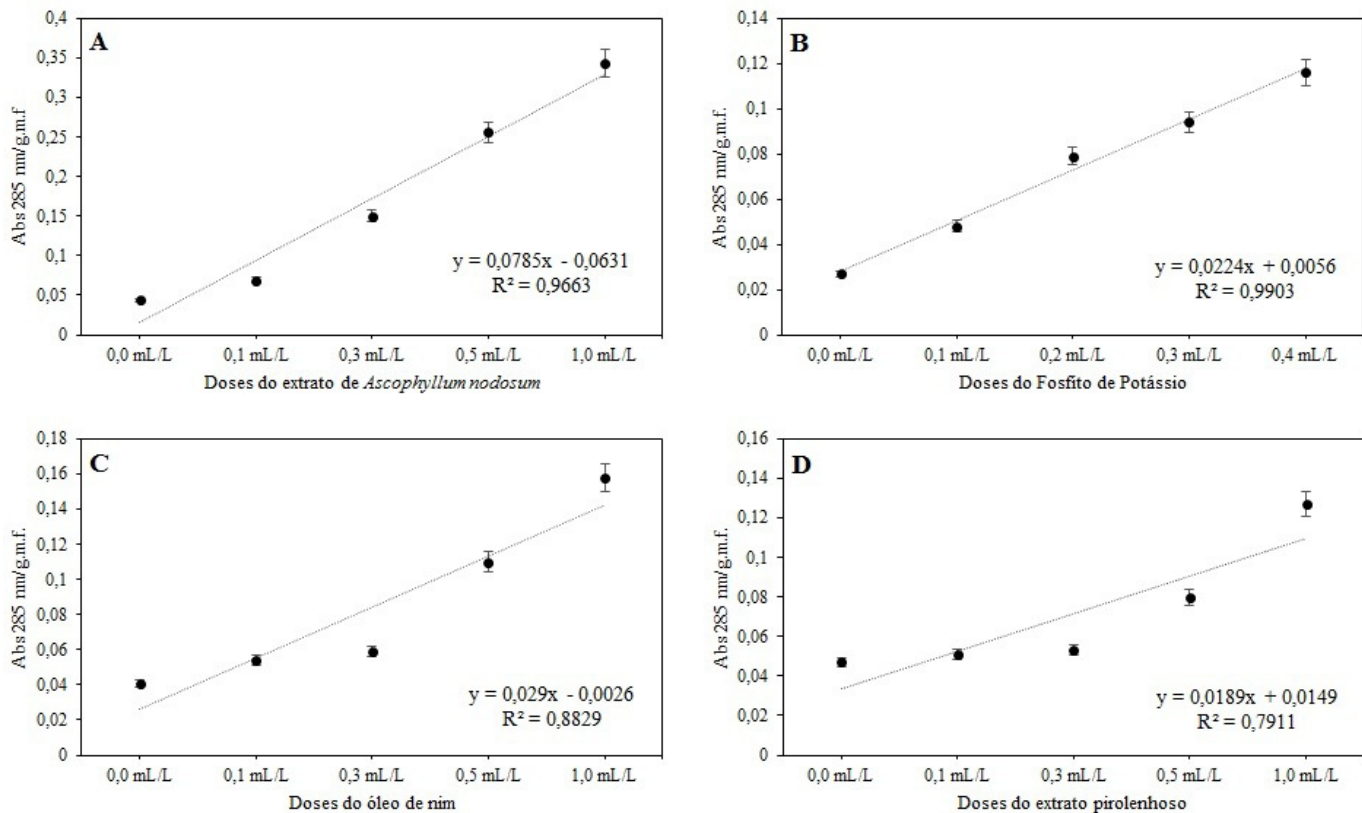


Figura 2. Acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja submetidos à diferentes doses do extrato de *Ascophyllum nodosum* (A), do fosfito de potássio (B), do óleo de nim (C) e do extrato pirolenhoso (D). As barras representam o erro padrão da média.

comparadas ao controle negativo (dose 0,0 mL/L). As duas maiores doses utilizadas para o fosfito de potássio (0,3 e 0,4 mL/L) e para o óleo de nim (0,5 e 1,0 mL/L) também diferiram significativamente da dose zero, com valores maiores (Figura 3). O extrato de *A. nodosum*, nas duas maiores doses utilizadas, apresentou maiores valores médios de absorvância do que o ASM (controle positivo). Entretanto, o fosfito de potássio foi menos eficiente na indução de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo, nas doses praticadas nestes ensaios, em comparação ao ASM. O óleo de nim, na maior dose aplicada (1,0 mL/L), apresentou valores de absorvância iguais ao tratamento com ASM e o extrato pirolenhoso, nas doses 0,5 mL/L e 1,0 mL/L, também foi significativamente igual ao controle positivo (Figura 3).

A análise de regressão linear do fator ‘dose’ versus a absorvância a 480 nm/g.m.f. para o bioensaio com mesocótilos de sorgo, demonstrou que o aumento progressivo das concentrações dos produtos implica em aumentos no valor da absorvância. Esse fato pôde ser comprovado pelo alto valor de R^2 que, para todos os ensaios, foi maior do que 0,80 (Figura 4).

O potencial indutor do extrato da alga marinha *A. nodosum* já foi comprovado em diversas espécies vegetais. A aplicação do extrato nas doses 0,5 e 1,0%, em pepineiros parasitados pelo oomiceto *Phytophthora melonis*, foi suficiente para aumentar a atividade de enzimas de defesa das plantas como a β -1,3-glucanase, peroxidase e polifenoloxidase, alterando, inclusive, a transcrição de vários genes de defesa (1). Adicionalmente, os trabalhos realizados por Subramanian et al. (30) demonstraram que o extrato de *A. nodosum* apresenta inespecificidade de indução, uma vez que plantas de *Arabidopsis thaliana* apresentaram-se resistentes tanto contra a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* quanto contra o fungo

necrotrófico *Sclerotinia sclerotiorum*. A indução de resistência, geralmente, protege o vegetal contra ampla gama de microrganismos (22). Isso já foi observado a partir da aplicação do extrato da alga em pepineiros, que apresentaram menor incidência das doenças causadas pelos fungos *Didymella applanata*, *Fusarium oxisporum* e *Botrytis cinerea*, provavelmente devido ao aumento da atividade de enzimas de defesa vegetal como quitinases, peroxidases, polifenoloxidase e lipoxigenase (12). Pimenteiros tratadas com o extrato de *Ascophyllum* tiveram a resistência foliar aumentada contra *Phytophthora capsici* e o aumento da resistência adquirida foi proporcional ao aumento das doses do produto aplicada (16), como foi observado para a indução de fitoalexinas nos testes realizados neste trabalho.

Trabalhos como o de Schurt et al. (26) demonstram o potencial do fosfito de potássio na redução do comprimento de lesões relativas à queima das bainhas em arroz, doença causada pelo fungo *Rhizoctonia solani*. Plantas tratadas com a molécula apresentaram os menores valores de queima observados, não diferindo apenas das plantas tratadas com o fungicida Carbendazim. Isso provavelmente se deu pelo complexo modo de ação dos fosfitos que, além de agir diretamente sobre os microrganismos, potencializa a resposta de defesa das plantas, induzindo a resistência destas (7, 15).

O óleo de nim apresenta efeito inibitório e promissor contra fungos de grande importância econômica para a agricultura. Isso já foi comprovado pela incorporação do óleo essencial de azaractina, em meios de cultivo BDA, nas doses de 25, 50, 75 e 100 μ g de i.a./mL que inibiram progressivamente o crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (10). As mesmas doses do óleo de nim utilizadas neste trabalho, foram eficientes na redução do abortamento floral e de frutos doentes de morangueiros, parasitados pelo fungo *Colletotrichum*

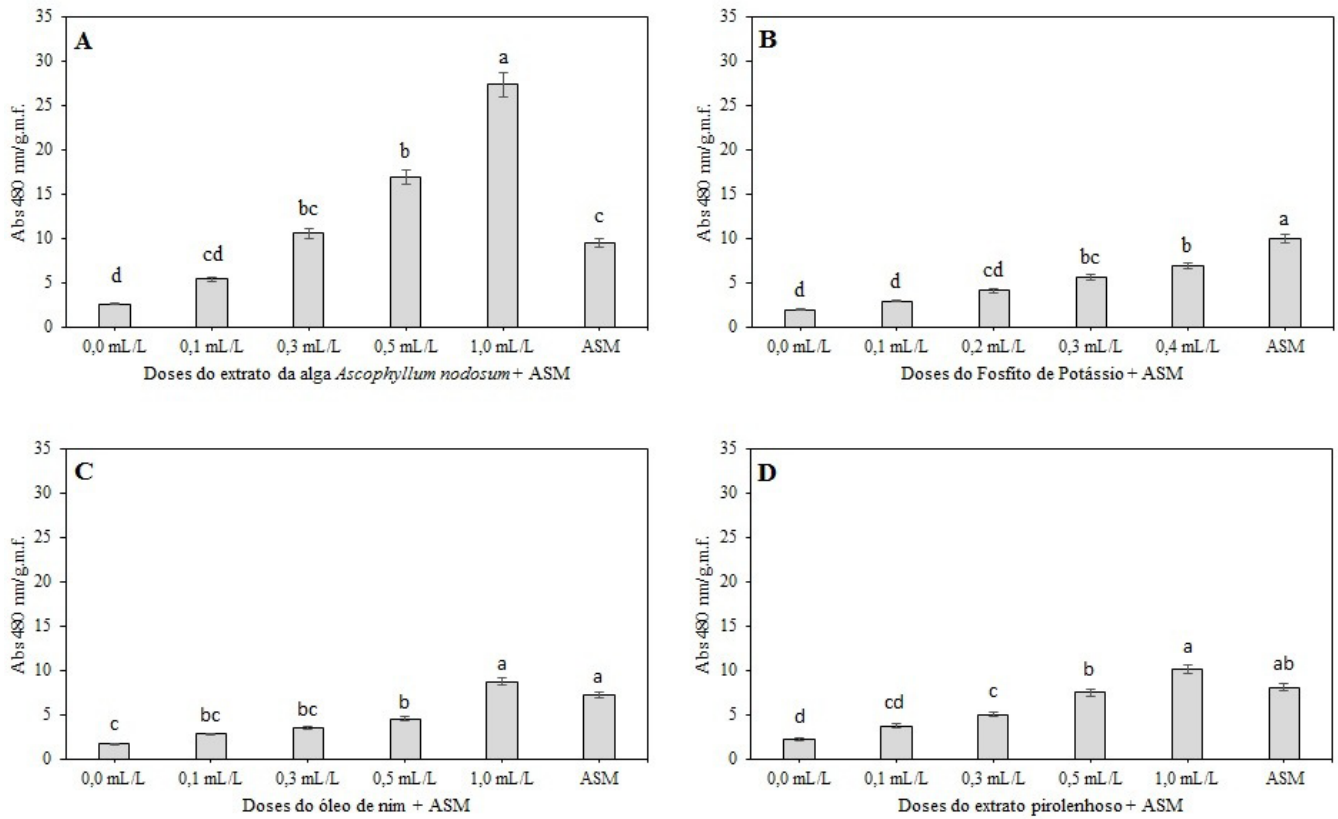


Figura 3. Acúmulo de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo expostos à diferentes doses do extrato de *Ascophyllum nodosum* (A), fosfito de potássio (B), óleo de nim (C) e extrato pirolenhoso (D). Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média. ASM – acibenzolar-S-metílico.

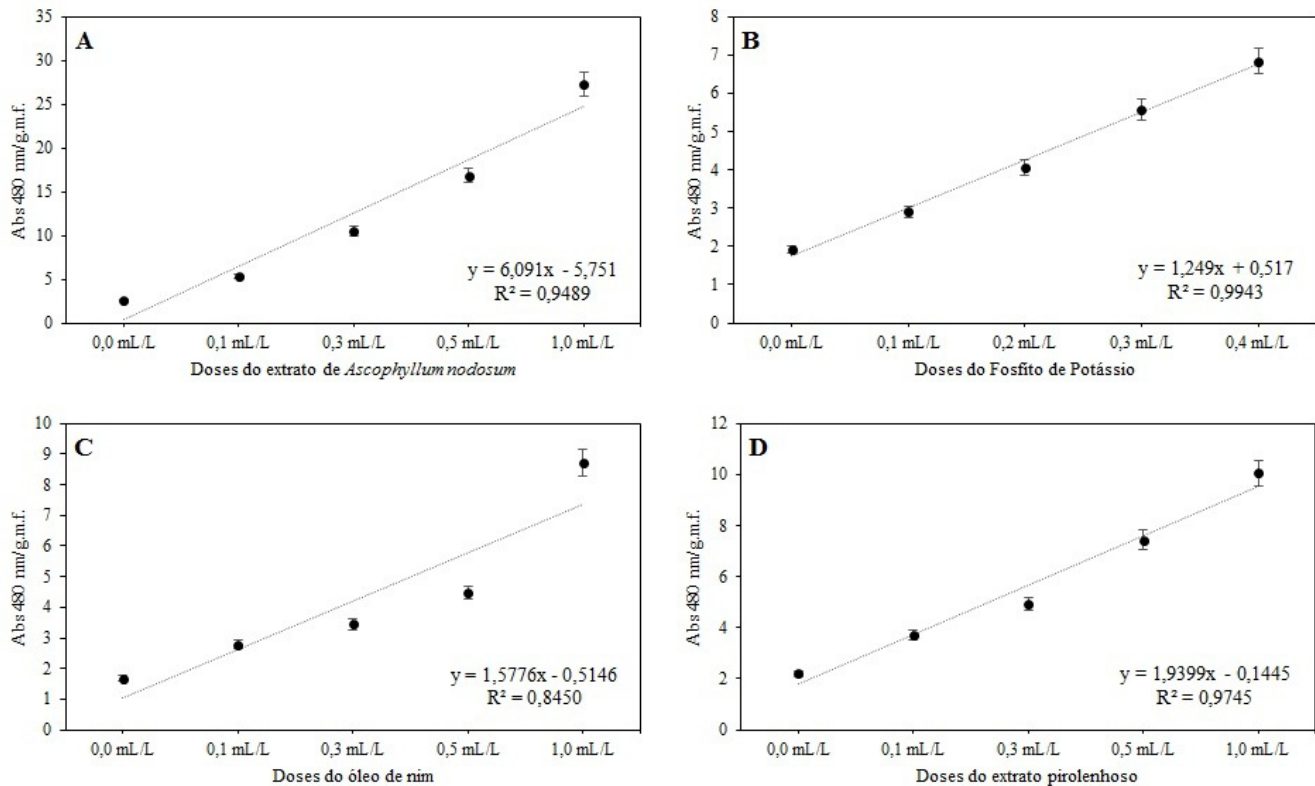


Figura 4. Acúmulo de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo submetidos à diferentes doses do extrato de *Ascophyllum nodosum* (A), do fosfito de potássio (B), do óleo de nim (C) e do extrato pirolenhoso (D). As barras representam o erro padrão da média.

acutatum (8). Os efeitos do óleo de nim sobre as plantas ainda não são bem conhecidos, mas este trabalho, somado a outros resultados constantes na literatura, apontam para um potencial na indução de resistência nas plantas tratadas (4, 9).

O efeito de doses maiores do extrato pirolenhoso (1,25 e 2,5%) já foi testado com o intuito de induzir fitoalexinas em cotilédones de soja e, assim como para os bioensaios realizados neste trabalho, os resultados confirmaram o potencial do extrato quando aplicado para essa finalidade (28). O extrato apresenta efeito comprovado na ativação de mecanismos de defesa em mudas de eucalipto, na dose de 1,0%, incrementando a atividade da enzima fenilalanina-amoniase, importante na rota metabólica dos compostos fenólicos e de fitoalexinas em plantas (17).

Dentre os produtos testados, o que se verificou, em valores numéricos, foi que o extrato de *A. nodosum* apresentou maior potencial de indução de fitoalexinas, quando comparado aos demais (Figuras 1 e 3). Testes adicionais com doses maiores devem ser realizados para a determinação da melhor concentração de utilização do fosfito de potássio, do óleo de nim e do extrato pirolenhoso na indução de fitoalexinas em plantas, assim como no controle *in vivo* de fitopatógenos.

De forma conclusiva, pode-se dizer que todos os produtos utilizados neste trabalho, nas condições em que estes ensaios foram conduzidos, induzem fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo e, por isso, configuram-se como potenciais indutores de resistência em plantas. Adicionalmente, o manejo integrado de doenças é a saída para a utilização racional de produtos químicos e substituição gradativa destes por produtos naturais. A produção de uma monocultura, em larga escala e sem a utilização de um agrotóxico certamente é impossível. Entretanto, a aplicação de duas ou mais técnicas, não químicas, de manejo de doenças, integradas com o correto entendimento de doses e intervalo de aplicação de produtos naturais, pode ser a saída para um cultivo livre de agrotóxicos, de qualidade e com altas produtividades, respeitando toda a teia que forma o agroecossistema.

AGRADECIMENTOS

À empresa Acadian Seaplants, pelo fornecimento do extrato de da alga marinha *A. nodosum*; à empresa Cruangi Neem do Brasil Ltda., pelo fornecimento do óleo de nim; à empresa Biocarbo Indústria e Comércio Ltda., pelo extrato pirolenhoso; à Stoller do Brasil pelo fornecimento do fosfito de potássio.

REFERÊNCIAS

1. ABKHOO, J.; SABBAGH, S.K. Control of *Phytophthora melonis* damping-off, induction of defence responses, and gene expression of cucumber treated with commercial extract of *Ascochyllum nodosum*. **Journal of Applied Phycology**, Murdoch, v.28, n.2, p.1333-1342, 2016.
2. BURDEN, R.J.; BAILEY, J.A. Structure of the phytoalexin from soybean. **Phytochemistry**, Washington, v.14, p.1389-1390, 1975.
3. CORBANI, R.Z. **Estudo do extrato pirolenhoso Biopiroi® no manejo de nematóides em cana-de-açúcar, olerícolas e citros, em diferentes ambientes**. 2008. 55f. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
4. COVENTRY, E.; ALLAN, E.J. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.29, n.5, p.1-10, 2001.
5. CRAIGIE, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, Murdoch, v.23, p.371-393, 2011.
6. CUANDRA, R.; CRUZ, X.; PEREIRA, E.; MARTIN, E.; DIAZ, A. Algunos compuestos naturales com efecto nematocida. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v.24, n.15, p.31-37, 2000.
7. DALIO, R.J.D.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; SILVA, A.C.;

- BLUMER, S.; PEREIRA, V.S.; OSSWALD, W.; PASCHOLATI, S.F. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.20, p.206-242, 2012.
8. DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L.R.; ARIEIRA, J.O.; MIGUEL, E.G.; DONEGA, M.A.; RIBEIRO, R.C. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.3, p.228-232, 2010.
9. DINIZ, L.P.; MAFFIA, L.A.; DHINGRA, O.D.; CASALI, V.W.D.; SANTOS, R.H.S.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de produtos alternativos no controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Botucatu, v.31, n.2, p.171-179, 2006.
10. GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.48-57, 2012.
11. GOEL, N.; PAUL, P.K. Polyphenol oxidase and lysozyme mediate induction of systemic resistance in tomato, when a bioelicitor is used. **Journal of Plant Protection Research**, Poznan, v.55, n.4, p.343-350, 2015.
12. JAYARAMAN, J.; JEFF, N.; ZAMIR, P. Commercial extract from the brown seaweed *Ascochyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. **Journal of Applied Phycology**, Murdoch, v.23, p.353-361, 2011.
13. KNAAK, N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v.5, n.2, p.120-132, 2010.
14. LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolina em soja**. 2002. 107f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
15. LIM, S.; BORZA, T.; PETERS, R.D.; COFFIN, R.H.; AL-MUGHRABI, K.I.; PINTO, D.M.; WANG-PRUSK, G. Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against *Phytophthora infestans*. **Journal of Proteomics**, Amsterdam, v.93, p.207-223, 2013.
16. LIZZI, Y.; COULOMB, C.; POLIAN, C.; COULOMB, P.J.; COULOMB, P.O. L’algue face au Mildiou quel avenir? **Phytoma**, Paris, v.508, p.29-30, 1998.
17. LORENCETTI, G.A.T.; MAZARO, S.M.; POTRICH, M.; LOZANO, E.R.; BARBOSA, L.R.; LUCKMANN, D.; DALLACORT, S. Produtos alternativos para o controle de *Thaumatoctis peregrinis* e indução de resistência em plantas. **Floresta e Meio Ambiente**, Seropédica, v.22, n.4, p.541-548, 2015.
18. MARTINEZ, S.S. Composição do nim. In: MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. cap.2, p.23-30.
19. MAZARO, S.M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIM, ARÊES, S.S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.
20. NICHOLSON, R.L.; JAMIL, F.F.; SNYDER, B.A.; LUE, W.L.; HIPSKIND, J. Phytoalexin synthesis in the juvenile sorghum leaf. **Physiological and Molecular Plant Physiology**, Michigan, v.33, p.271-278, 1988.
21. PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 2011. v.1, cap.35, p.545-591.
22. PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Uso de indutores de resistência: conceito, realidade e perspectivas. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Milho: manejo e produtividade**. Piracicaba: USP/ESALQ/LPV, 2009. p. 177-181.
23. PAXTON, J.D. Phytoalexins – a working definition. **Phytopathologische Zeitschrift**, Göttinger, v.101, p.106-109, 1981.
24. RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. Fosfito de potássio na indução de resistência à *Verticillium dahliae* Kleb., em mudas de cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, p.629-636, 2006.
25. ROMA, R.C.C. **Fosfito de potássio no controle de doenças pós-colheita em bagas de uva “Itália” e possíveis mecanismos de ação à *Rhizopus stolonifer***. 2013. 117f. Tese (Doutorado em Ciências/Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
26. SCHURT, D.A.; RODRIGUES, F.A.; SOUZA, N.F.A.; REIS, R.D. Eficiência

- de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima da das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani in vitro*. **Revista Ceres**, Viçosa, v.60, n.2, p.221-225, 2013.
27. SILVA, E.G.; GOMES, E.C.; SERRA, I.M.R.S.; MELO, T.A.; MONTELES, F.H.R.; RIBEIRO, J.G. Produtos naturais aplicados ao manejo de antracnose em pimentas pós-colheita. **Cadernos de Agroecologia**, Recife, v.6, n.2, p.1-4, 2011.
28. SMANIOTTO, L.F.; CECHIN, F.; MAZARO, S.M.; GOUVEA, A.; PO; TRICH, M.; PEGORINE, C.S.; PIZZATTO, M. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta ao óleo de gerânio e o extrato piroleñoso. **Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária, Dois Vizinhos**, v.4, p.1-3, 2010.
29. STANGARLIN, J.R.; SCHULZ, D.G.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; SCHWAN-STRADA, K.R.F.; KUHN, O.J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.91-98, 2010.
30. SUBRAMANIAN, S.; SANGHA, J.S.; GRAY, B.A.; SINGH, R.P.; HILTZ, D.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Extracts of marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.131, p.237-248, 2011.