



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0714050-9 B1

(22) Data do Depósito: 12/07/2007

(45) Data de Concessão: 02/05/2017



(54) Título: "MÉTODO DE TRATAMENTO DE UMA SEMENTE PARA INDUZIR UM MECANISMO DE RESISTÊNCIA DA PLANTA CONTRA PRAGAS, MÉTODO PARA PROVER UMA PLANTA COM RESISTÊNCIA A DANO POR PRAGAS, E, USO DE UMA COMPOSIÇÃO DE TRATAMENTO DE SEMENTE"

(51) Int.Cl.: A01N 37/42; A01N 37/44

(30) Prioridade Unionista: 13/07/2006 GB 05139018

(73) Titular(es): PLANT BIOSCIENCE LIMITED

(72) Inventor(es): MICHAEL RICHARD ROBERTS; NIGEL DUNCAN PAUL; JANE ELIZABETH TAYLOR; PATRICIA CROFT; JASON PAUL MOORE

“MÉTODO DE TRATAMENTO DE UMA SEMENTE PARA INDUZIR
UM MECANISMO DE RESISTÊNCIA DA PLANTA CONTRA PRAGAS,
MÉTODO PARA PROVER UMA PLANTA COM RESISTÊNCIA A
DANO POR PRAGAS, E, USO DE UMA COMPOSIÇÃO DE
5 TRATAMENTO DE SEMENTE”

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se à proteção de plantas,
particularmente às composições detecção de semente e seu uso, a métodos
para o tratamento de sementes, a métodos de proteção de plantas contra
10 pragas e sementes e plantas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

As doenças das safras são causadas por microorganismos
patogênicos das plantas (por exemplo fungos, bactérias ou vírus) que podem
infectar a planta em vários estágios de desenvolvimento, da semente dormente
15 até a planta madura. O ataque por diferentes patógenos resulta em doenças
amplamente diferentes, de morte de tecido rápida e em larga escala a
infecções crônicas a longo prazo. As pragas de safras englobam uma ampla
faixa de animais, mas a maior parte são de invertebrados incluindo
nematódeos e artrópodes como insetos ou ácaros. Estas pragas se alimentam
20 dos tecidos das plantas, com pragas diferentes atacando diferentes tecidos em
diferentes modos. Por exemplo, em um extremo, os nematódeos podem sugar
os conteúdos das células de raízes individuais enquanto pragas de insetos
grandes podem mastigar grandes áreas da folhagem.

Deixando de lado práticas de cultivo como rotação das safras e
25 sanitização, a maior parte da proteção das safras tem se baseado na aplicação
de agentes (pesticidas, que é o termo usado para agentes usados contra tanto
pragas como doenças) que são diretamente tóxicos para a praga ou micróbio
causador da doença. Por exemplo, pragas podem ser tratadas usando

inseticidas ou nematicidas, doenças tratadas com agentes anti-microbianos, como fungicidas ou bactericidas. Dependendo do sítio de infecção ou ataque, pesticidas podem ser aplicados à safra em vários modos, incluindo pulverização foliar, aplicações de líquidos tipo "ensopamento" para solo ou tratamento de sementes. Sem levar em conta o método de aplicação, os pesticidas convencionais podem atuar através de contato direto com a praga ou patógeno, ou podem ser absorvidos pela planta e atender à sua função quando os tecidos das plantas são consumidos (por exemplo pesticidas sistêmicos).

Quando os pesticidas conhecidos são usados como tratamento de sementes, as sementes são revestidas com agentes que são projetados para inibir ou interferir diretamente com patógenos ou pragas e estes são secados sobre as sementes. Estes tratamentos são principalmente visados para prover proteção direta contra patógenos de origem no solo ou pragas que atacam as sementes, mudas ou raízes. Na maior parte dos casos, a proteção observada é transiente e declina à medida que o agente protetor é degradado, diluído ou localizado no solo e raízes à medida que o crescimento progride.

Uma desvantagem dos pesticidas conhecidos é que muitos são também tóxicos para as espécies não alvo, resultando em redução na biodiversidade e mesmo prejuízo às espécies benéficas como insetos polinizadores ou predatórios. Além disso, existem preocupações do consumidor com relação à possível toxicidade para humanos de alguns pesticidas conhecidos.

A modificação genética tem sido usada como uma alternativa para pesticidas como tem um Controle de Pragas Integrado (IPM), que combina práticas de cultivo com o uso de parasitas ou predadores de pragas como um meio de controle biológico. No entanto, cada tem desvantagens.

Uma outra abordagem para controle de pragas tenta fazer uso de sistemas de defesa natural das plantas. As plantas respondem a uma vasta

faixa de estímulos ambientais. As respostas incluem as que fornecem proteção contra pragas (por exemplo, herbívoros como insetos) e patógenos (por exemplo fungos, bactérias, vírus, etc). As respostas das plantas ao ataque de pragas ou patógenos são ocasionadas por uma cadeia de eventos que ligam o reconhecimento inicial do estímulo a mudanças em células da planta que por fim levam à proteção. Assim, em resposta a feridas e ao desafio de praga/patógeno, existem eventos locais e sistêmicos induzidos, com vias de transdução de sinal ocorrendo no sítio local, sinal(ais) sistêmico(s) comunicando os eventos locais em torno da planta, e vias de transdução de sinal ocorrendo em células distantes que estão respondendo ao(s) sinal(ais) sistêmico(s).

As moléculas de sinalização de plantas desempenham um papel central nestas respostas induzidas a estímulos ambientais, porque elas atuam como os sinais moleculares intermediários que ligam o ataque ao(s) efeito(s) final (ais) interno(s) dentro da planta. Por exemplo, em várias espécies de plantas, ácido jasmônico é conhecido como se acumulando transientemente após a ferida ou ataque por herbívoro, e é ligado à ativação de genes respondentes ao ferimento. Outro exemplo ocorre durante as interações de plantas com patógeno, quando ácido salicílico é conhecido como aumentando em quantidade e é considerado como sendo um regulador central de resistência adquirida local e sistêmica (SAR) e a ativação de genes relacionados com defesa associados com resistência à doença.

O ácido jasmônico (JA) tem sido aplicado como uma pulverização foliar externa (e também como uma aplicação líquida tipo ensopamento para as raízes) para induzir a resistência ao inseto-praga em cultas como tomate (*Solanum lycopersicum*) e videiras. No entanto, estas aplicações foliares (e raízes) de JA ou seus derivados são passíveis de causar dano direto à safra, ao causar fitotoxicidade por exemplo, e são muito caras para serem comercialmente viáveis.

US 5977060 descreve o uso da proteína Harpin de *Erwinia amylovora* para induzir respostas de resistência adquirida hipersensível e sistêmica em safras de modo a prover proteção às doenças contra vírus, assim como proteção contra fungos de origem no solo, nematódeos e alguns insetos atacando o crescimento de mudas prematuras. No entanto, a proteção fornecida contra insetos por um embebedimento das sementes parece limitado aos afídeos, isto é, artrópodes se alimentando da seiva. O embebedimento é aplicado antes da semeadura e parece que a proteção da planta iria realmente ser proporcionada por transporte do embebedimento da semente para as mudas, efetivamente aplicando a proteína diretamente às mudas. Harpin também tem a desvantagem de que é o resultado de manipulação genética que pode limitar em grande parte seu uso em muitas áreas.

O uso de ácido jasmônico como um embebedimento para sementes aplicado às sementes de melão e feijão germinando é conhecido mas somente para o fim de prover proteção contra doença fúngica. A proteção conferida às plantas foi limitada e provavelmente surgiu do ácido jasmônico se transferir diretamente sobre as mudas germinando.

WO 02055480 refere-se à aplicação de coronalon e compostos relacionados na indução de resistência a patógenos incluindo insetos. Coronalon é um análogo artificial (quimicamente sintetizado) de coronatina que é um análogo de conjugados de JA-aminoácidos, e que tem atividade biológica similar, apesar de não idêntica, a JA. No entanto, o coronalon foi aplicado às plantas em crescimento e, assim, esta descoberta é pouco diferente de uma pulverização foliar de JA.

WO 0141568 descreve o uso de pulverizações de cis-jasmona para induzir emissões voláteis das plantas que repelem as pragas de insetos e atraem insetos benéficos. Novamente, é aplicado diretamente às plantas em crescimento.

Assim, a presente invenção visa se dirigir a pelo menos uma

desvantagem associada com a técnica anterior seja discutida aqui ou em outras partes.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

De acordo com um primeiro aspecto da presente invenção, provê-se um método de tratamento de uma semente com uma composição de tratamento de semente para induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida a partir da referida semente de modo a limitar o dano às plantas por pragas, o método compreendendo aplicar a composição de tratamento a uma semente.

Preferivelmente, o método compreende a aplicação da composição de tratamento a uma semente não germinada. De modo apropriado, o método compreende aplicar a composição de tratamento a uma semente não germinante capaz de subsequente germinação. Alternativamente, o método pode compreender aplicar a composição de tratamento a uma semente germinando.

Como usado aqui, o termo "pragas" exclui "doença". Especificamente incluído do termo "pragas" estão patógenos que incluem fungos, bactérias e vírus. Estão incluídos no termo "pragas" os invertebrados incluindo nematódeos, moluscos e artrópodes como insetos e ácaros.

De modo apropriado, as pragas compreendem pragas herbívoras. De modo apropriado, as pragas compreendem invertebrados herbívoros. As pragas podem compreender nematódeos e/ou moluscos e/ou artrópodes herbívoros. Alternativamente, ou em adição, as pragas podem compreender vertebrados como coelhos. As pragas podem compreender pragas que se alimentam da folhagem. As pragas podem compreender pragas que se alimentam da seiva. O mecanismo de resistência da planta induzido pode assim atuar para limitar o dano à planta por pragas que se alimentam da seiva e/ou folhagem. Alternativamente, ou além disso, as pragas podem compreender pragas que se alimentam ou de outras partes da planta e o

mecanismo de resistência da planta induzido pode atuar contra estas pragas. O método/ composição de tratamento podem proporcionar proteção contra doença, incluindo patógenos, como fungos, bactérias e vírus, assim como contra pragas.

5 Como usado aqui, o termo "composição de tratamento de semente" inclui composições de revestimento de semente e de embeбimento de sementes.

De modo apropriado, a composição de tratamento de semente compreende um embeбimento de semente. O método pode assim
10 compreender um método de tratamento de uma semente por embeбimento da mesma na composição de tratamento de semente.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um agente de tratamento (de modo apropriado um produto químico de sinalização de planta) selecionado dentre ácido jasmônico (JA) ou membros
15 relacionados da família jasmonato de oxilipinas, ou outros compostos que ativam as vias de resistência aos herbívoros dependentes de JA incluindo> ácido jasmônico ou seus sais de jasmonato, como, por exemplo, jasmonato de sódio ou potássio; éster metílico de ácido jasmônico, (' jasmonato de metila'), conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), como, por
20 exemplo, o conjugado com L-isoleucina ou os conjugados com L-valina, L-leucina e L-fenilalanina; ácido 12-oxo-fitodienóico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres de metila de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de
25 ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanóico); ou combinações dos mesmos.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um agente de tratamento selecionado dentre o grupo consistindo de : ácido jasmônico ou seus sais de jasmonato, como, por exemplo, jasmonato de sódio

ou potássio; éster metílico de ácido jasmônico, (' jasmonato de metila'), conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), como, por exemplo, o conjugado com L-isoleucina ou os conjugados com L-valina, L-leucina e L-fenilalanina; ácido 12-oxo-fitodienólico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres de metila de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanólico); ou combinações dos mesmos.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um agente de tratamento único selecionado dentre o grupo consistindo de: ácido jasmônico ou seus sais de jasmonato, como, por exemplo, jasmonato de sódio ou potássio; éster metílico de ácido jasmônico, (' jasmonato de metila'), conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), como, por exemplo, o conjugado com L-isoleucina ou os conjugados com L-valina, L-leucina e L-fenilalanina; ácido 12-oxo-fitodienólico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres de metila de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; e coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanólico).]De modo apropriado, a composição de tratamento compreende ácido jasmônico (JA) como um agente de tratamento. De modo apropriado, a composição de tratamento compreende ácido jasmônico (JA) como o único agente de tratamento.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende jasmonato de metila (MeJA) como um agente de tratamento. A composição de tratamento pode compreender jasmonato de metila (MeJA) como o único agente de tratamento.

Acredita-se que ácido jasmônico (JA) é um regulador ubíquo

das respostas ao ataque por herbívoros nas plantas. Entende-se que ele forma parte de uma via de sinalização de defesa da planta de longa distância e quando aplicado de modo exógeno (aos tecidos foliares ou raízes) pode induzir respostas relacionadas com defesa para artrópodes e outras pragas com o fim de reduzir o dano feito no momento do ataque e a possibilidade de um futuro ataque. A via octadecanóide levando à biossíntese de JA é entendida como estando ligada à ativação de respostas de defesa da planta.

No entanto, dada a compreensão atual de defesas de plantas induzidas contra o ataque das pragas, não seria esperado que a aplicação de compostos induzindo sistemas de defesa à semente iria proteger a planta em crescimento do ataque de pragas durante um período prolongado. A transição da semente para a planta em crescimento envolve uma re-programação metabólica principal e a produção de tecidos não presentes na semente, mesmo em uma forma meristemática. Apesar disto, as respostas de defesa mediadas por ácido jasmônico contra insetos herbívoros que podem ser induzidas pela presente invenção podem ser surpreendentemente efetivas. Também surpreendente, a germinação subsequente das sementes tratadas pode ser substancialmente não inibida pelo método de tratamento.

Surpreendentemente, os presentes inventores verificaram que a aplicação de uma composição de tratamento às sementes pode incluir elementos de defesas naturais que visam pragas em plantas germinadas a partir de sementes tratadas. Isto pode continuar a ser o caso um tempo considerável após a germinação que não é de todo esperado. Isto pode mesmo ser assim mesmo quando um agente de tratamento é aplicado em baixas concentrações à semente e pode resultar em um controle de pragas persistentes mesmo durante muitas semanas, muito tempo depois do composto ativo ter sido naturalmente degradado. Inesperadamente, verificou-se que quando aplicado a semente não germinada, a proteção pode ser induzida na planta em crescimento subsequente.

De modo apropriado, a resistência contra pragas é causada por um mecanismo de defesa que é regulado pela via oxilipina (também conhecida como via jasmonato ou via octadecanóide).

5 De modo apropriado, a composição de tratamento de semente compreende uma composição aquosa. A composição de tratamento pode compreender um solvente não aquoso, de modo apropriado um álcool, por exemplo etanol.

10 De modo apropriado, a composição de tratamento compreende agente de tratamento, por exemplo ácido jasmônico, a uma concentração de pelo menos 10 μ M, por exemplo de 1 mM ou mais. A composição de tratamento pode compreender agente de tratamento, por exemplo ácido jasmônico, a uma concentração de entre 10 μ M, e 50 mM, de modo apropriado de entre 0,1 mM e 15 mM, por exemplo de entre 1 mM e 5 mM. A composição de tratamento pode compreender agente de tratamento em uma
15 quantidade de até 10 mM.

A composição de tratamento pode compreender agente de tratamento em uma quantidade de pelo menos 0,1 mM, por exemplo pelo menos: 0,5 mM, 1,0 mM; 1,5 mM; 2,0 mM; 2,5 mM; 3,0 mM; 3,5 mM; 4,0 ; 4,5 mM; 5,0 mM; 6,0 mM; 7,0 mM; 8,0 mM; 9,0 mM; ou 10 mM.

20 A composição de tratamento pode compreender agente de tratamento em quantidade não maior que 15 mM, por exemplo não maior que 14 mM, 13 mM, 12,5 mM, 12,0 mM, 11,5 mM, 11,0 mM, 10,5 mM, 10,0 mM, 9,5 mM, 9,0 mM, 8,0 mM, 7,0 mM ou 6,0 mM.

25 A composição de tratamento pode compreender um solvente não aquoso, de modo apropriado um álcool, em uma concentração de pelo menos 1 mM. A composição de tratamento pode compreender um solvente não aquoso, de modo apropriado um álcool, em uma concentração de entre 1 mM e 100 mM, de modo apropriado entre 10 mM e 100 mM, por exemplo entre 30 mM e 50 mM.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende água e agente de tratamento e de modo apropriado também um solvente não aquoso, de modo apropriado álcool. De modo apropriado, pelo menos 95 % em peso, por exemplo pelo menos 99 % em peso da composição de tratamento pode consistir de água, agente de tratamento e álcool. De modo apropriado, a composição de tratamento consiste de água, agente de tratamento e álcool. A composição de tratamento pode consistir de água, etanol e ácido jasmônico.

De modo apropriado, o método compreende aplicar a composição de tratamento de semente a uma semente não germinada que pode ser uma semente dormente.

De modo apropriado, o método compreende aplicar uma composição de tratamento de semente a uma semente sob condições que impedem a germinação. A composição de tratamento de semente pode ser aplicada a uma semente sob condições de baixa temperatura e/ou escuridão.

De modo apropriado, a composição de tratamento de semente é aplicada a uma semente a uma temperatura de 10 °C ou menor, por exemplo: 9 °C, 8 °C, 7 °C, 6 °C, 5 °C ou 4 °C ou menor. De modo apropriado, a semente é retida em tal temperatura durante todo o processo de tratamento.

De modo apropriado, o método compreende manter uma semente em um estado de não germinação durante o tratamento pelo uso de temperaturas frias, de modo apropriado de menos que 10 °C mas maiores do que o ponto de congelamento da composição de tratamento.

De modo apropriado, o método compreende colocar uma semente em contato com uma composição de tratamento de semente durante um período de 1 hora ou mais, de modo apropriado durante um período de pelo menos 6 h, por exemplo pelo menos 12 h. De modo apropriado, o método compreende colocar uma semente em contato com uma composição de tratamento de semente durante entre 1 h e 72 horas, de modo apropriado

durante entre 6 h e 48 h, por exemplo em torno de 24 horas.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um líquido aplicado à semente, por exemplo um embebedimento da semente. De modo apropriado, a composição de tratamento compreende ácido jasmônico aplicado como um líquido.

Alternativamente, a composição de tratamento pode ser aplicada como um polvilho, pó, suspensão ou vapor. O agente de tratamento pode por exemplo compreender jasmonato de metila aplicado como um vapor.

Se aplicado como um pó, a composição de tratamento pode compreender um agente de cola. Se aplicada como uma suspensão, a suspensão pode compreender ou um pó umectável, pó dispersável em água ou uma suspensão de micro-encapsulação / cápsula. Se aplicada como um líquido, então um concentrado pode requerer diluição antes da aplicação à semente. Os revestimentos de semente derivados de ácido jasmônico ou jasmonato podem por exemplo ser prontamente aplicados como um líquido, mas podem também ser aplicados como um polvilho ou suspensão se diluídos de modo suficiente com uma carga, como argila, para evitar sobre-aplicação.

Para revestir as sementes com uma composição de tratamento, a composição pode ser mecanicamente misturada com as sementes para assegurar uma cobertura uniforme e qualquer umidade pode ser encorajada a evaporar para evitar disparar uma germinação prematura. As variantes do processo de revestimento podem envolver a aplicação de vários diferentes tratamentos às sementes ao mesmo tempo via uma formulação (onde estes tratamentos são compatíveis com relação a seus meios de aplicação) ou aplicação de vários diferentes tratamentos consecutivamente para acumular uma série de camadas de tratamento em um processo conhecido como granulação. Um dos vários polímeros bem conhecidos ou outros revestimentos pode ser aplicado para selar a semente contra retirada do

polvilhamento e, se requerido, para também colocar a semente para identificação.

De modo apropriado, o método compreende embeber uma semente por imersão parcial ou completa, mais apropriado completa, de uma semente em uma composição de tratamento. De modo apropriado, o método compreende imergir uma semente em uma composição de tratamento de modo que a semente é colocada em contato com a composição durante um período de pelo menos 1 h, como detalhado acima.

De modo apropriado, o método compreende secar a semente subsequente à aplicação da composição de tratamento à semente. O método pode compreender deixar a semente secar naturalmente. Alternativamente, o método pode compreender aplicar calor para secar a semente. De modo apropriado, secar a semente subsequente à aplicação da composição de tratamento e antes da germinação não impede a indução de mecanismos de resistência da planta.

O método pode compreender lavar uma semente subsequente à aplicação da composição de tratamento à semente. O método pode compreender lavar a semente com água. O método pode compreender imergir de modo parcial ou completo, de modo mais apropriado de modo completo, a semente em água. O método pode compreender lavar a semente entre a etapa de aplicação da composição de tratamento à semente e uma etapa de secar a semente. De modo apropriado, lavar a semente subsequente à aplicação da composição de tratamento e antes da germinação não impede a indução dos mecanismos de resistência da planta.

De modo apropriado, uma semente tratada pelo método pode ser armazenada durante pelo menos 24 h antes de ser semeada. De modo apropriado, uma semente tratado pelo método pode ser armazenada em substancialmente o mesmo modo como uma semente não tratada antes do uso. Uma semente tratada pode ser armazenada durante pelo menos 24 h antes da

germinação ser iniciada, de modo apropriado pelo menos 72 h, por exemplo uma semana ou mais. Uma semente tratada pode por exemplo ser armazenada durante um mês ou mais antes de ser semeada e a germinação iniciada. De modo apropriado, o armazenamento da semente subsequente à aplicação da
5 composição de tratamento e antes da germinação não impede a indução dos mecanismos de resistência da planta. Uma semente tratada pode assim ser armazenada durante uma semana ou mais antes da germinação ser iniciada sem impedir a indução dos mecanismos de resistência da planta.

De modo apropriado, uma semente tratada pelo método é de
10 uma planta monocotiledônea ou dicotiledônea. De modo apropriado, uma semente tratada pelo método é de uma safra hortícola ou agrícola. A safra pode ser uma safra cultivada para fins comerciais.

De modo apropriado, o método compreende uma composição de tratamento de modo que a resistência contra pragas em uma planta
15 desenvolvida a partir de uma semente tratada é causada por mecanismos de defesa que são regulados pela via oxilipina (também conhecida como a via jasmonato ou via octadecanóide).

De modo apropriado, o mecanismo de resistência é induzido devido ao tratamento da semente. De modo apropriado, a resistência contra
20 pragas não é induzida apenas pelo transporte da composição sobre uma planta germinada a partir da semente tratada. O mecanismo de resistência pode ser induzido devido ao tratamento da semente em vez de devido ao transporte da composição de tratamento a partir da semente sobre uma planta germinando.

De modo apropriado, uma planta germinada a partir de uma
25 semente tratada de acordo com o método pode demonstrar resistência ao dano das pragas pelo menos 1 semana após germinação, de modo apropriado pelo menos 2 semanas, por exemplo 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 semanas ou mais após a germinação.

De modo apropriado, uma planta germinada a partir de uma

semente tratada de acordo com o método pode demonstrar uma maior resistência ao dano pela pragas do que uma planta equivalente de outra forma germinada a partir de uma semente não tratada pelo menos 1 semana após a germinação, de modo apropriado pelo menos 2 semanas, por exemplo 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 semanas ou mais após a germinação.

De modo apropriado, um mecanismo de resistência às pragas em uma planta germinada a partir de uma semente tratada de acordo com o método pode atuar por redução da sobrevivência de uma praga e/ou redução do dano da planta por uma praga e/ou redução da reprodução de uma praga.

10 A composição de tratamento de semente pode induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida a partir da referida semente que limita a sobrevivência da praga e/ou números de pragas e/ou crescimento das pragas e/ou reprodução das pragas.

15 De modo apropriado, uma planta localizada dentro da proximidade de uma planta germinada a partir de uma semente tratada de acordo com o método pode também estar em um risco reduzido de dano à planta por pragas. De modo apropriado, a produção de compostos de sinalização voláteis da planta produzidos pela planta a partir de uma semente
20 tratada pelo método pode proporcionar resistência contra o dano das pragas em plantas não tratadas na vizinhança.

De modo apropriado, não se notam problemas associados com fitotoxicidade em plantas germinadas a partir de sementes tratadas.

De modo apropriado, não se notam problemas associados com
25 a germinação de sementes tratadas.

De modo apropriado, o método de tratamento substancialmente evita causar efeitos prejudiciais sobre as plantas, ou o rendimento ou qualidade de produto que a planta é cultivada para produzir, cultivada a partir da semente tratada. De modo apropriado, o método é tal que

a fitotoxicidade em uma planta desenvolvida a partir de uma semente tratada é substancialmente evitada.

O método pode compreender tratar uma semente com uma composição de acordo com o terceiro aspecto como descrito abaixo.

5 De acordo com um segundo aspecto da presente invenção, provê-se uma semente da qual uma planta resistente ao dano por pragas pode ser cultivada, em que a semente compreende uma semente tratada com uma composição de tratamento de semente para induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida
10 a partir da referida semente, de modo a limitar o dano às plantas por pragas.

Preferivelmente, a semente compreende uma semente não germinada. De modo apropriado, a semente compreende uma semente não germinante capaz de subsequente germinação.

De modo apropriado, a semente compreende uma semente
15 tratada de acordo com o método do primeiro aspecto,. A semente pode compreender uma semente tratada com uma composição de acordo com o terceiro aspecto como descrito abaixo.

De modo apropriado, a semente compreende qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto.

20 A planta pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. A praga pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. A composição de tratamento de semente pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. O mecanismo de resistência da planta pode compreender
25 qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto.

De acordo com um terceiro aspecto da presente invenção, provê-se uma composição de tratamento de semente para tratar uma semente para induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida a partir da referida semente tratada de

modo a limitar o dano à planta por pragas.

De modo apropriado, a composição de tratamento é disposta para ser empregada em um método de acordo com o primeiro aspecto.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um agente de tratamento selecionado dentre ácido jasmônico (JA) ou membros relacionados da família jasmonato de oxilipinas, ou outros compostos que ativam as vias de resistência aos herbívoros dependentes de JA incluindo ácido jasmônico ou seus sais de jasmonato, como, por exemplo, jasmonato de sódio ou potássio; éster metílico de ácido jasmônico, ('jasmonato de metila'), conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), como, por exemplo, o conjugado com L-isoleucina ou os conjugados com L-valina, L-leucina e L-fenilalanina; ácido 12-oxo-fitodienólico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres de metila de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanólico); ou combinações dos mesmos.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende um agente de tratamento selecionado dentre o grupo consistindo de : ácido jasmônico ou seus sais de jasmonato, como, por exemplo, jasmonato de sódio ou potássio; éster metílico de ácido jasmônico, ('jasmonato de metila'), conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), como, por exemplo, o conjugado com L-isoleucina ou os conjugados com L-valina, L-leucina e L-fenilalanina; ácido 12-oxo-fitodienólico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres de metila de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanólico); ou combinações dos mesmos.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende ácido jasmônico (JA) como um agente de tratamento.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende uma composição aquosa. A composição de tratamento pode compreender um
5 solvente não aquoso, de modo apropriado um álcool, por exemplo etanol.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende água e agente de tratamento e de modo apropriado também um solvente não aquoso, de modo apropriado álcool. De modo apropriado, a composição de tratamento de semente essencialmente consiste de água, agente de tratamento
10 e solvente não aquoso. De modo apropriado, a composição de tratamento essencialmente consiste de água, agente de tratamento e álcool.

De modo apropriado, a composição de tratamento compreende qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. A semente pode ser uma semente não germinante. A planta pode compreender qualquer
15 aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. A praga pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. O mecanismo de resistência da planta pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto.

De acordo com um quarto aspecto da presente invenção,
20 provê-se um método de prover uma planta com resistência ao dano de pragas, o método compreendendo aplicar uma composição de tratamento de semente a uma semente e subsequente cultivar uma planta a partir da referida semente, em que a composição de tratamento induz um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas na referida planta
25 desenvolvida a partir da referida semente tratada de modo a limitar o dano à planta por pragas.

De modo apropriado, referida planta compreende maior resistência às pragas do que uma planta de outra forma equivalente desenvolvida a partir de uma semente não tratada.

Preferivelmente, o método compreende aplicar a composição de tratamento a uma semente não germinada. De modo apropriado, o método compreende aplicar a composição de tratamento a uma semente não germinante capaz de subsequente germinação. Alternativamente, o método
5 pode compreender aplicar a composição de tratamento a uma semente germinando.

De modo apropriado, o método compreende tratar uma semente de acordo com o método do primeiro aspecto. O método pode empregar uma semente de acordo com o segundo aspecto. O método pode
10 empregar uma composição de tratamento de acordo com o terceiro aspecto.

O método pode compreender tratar uma semente com uma composição de tratamento e subsequente lavar e/ou secar e/ou armazenar referida semente antes da germinação.

Subsequente ao tratamento, que pode incluir lavagem e/ou
15 secagem, o método pode compreender manipular, que pode incluir armazenar, a semente tratada em substancialmente o mesmo modo que uma semente não tratada conhecida.

De modo apropriado, a planta compreende qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto.

20 De modo apropriado, a planta preparada pelo método demonstra resistência contra pragas causada por mecanismos de defesa que são regulados pela via oxilipina que pode também ser referida como a via jasmonato ou via octadecanóide.

A semente pode compreender qualquer aspecto como descrito
25 com relação ao primeiro aspecto. A praga pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. A composição de tratamento de semente pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto. O mecanismo de resistência da planta pode compreender qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro aspecto.

De acordo com um quinto aspecto da presente invenção, provê-se uma planta resistente ao dano por pragas, em que a planta compreende uma planta provida pelo método de acordo com o quarto aspecto e/ou desenvolvida a partir de uma semente de acordo com o segundo aspecto e/ou desenvolvida a partir de uma semente tratada de acordo com o método do primeiro aspecto e/ou desenvolvida a partir de uma semente tratada com uma composição de acordo com o terceiro aspecto.

O quinto aspecto pode empregar qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro, segundo, terceiro ou quarto aspectos.

De acordo com um sexto aspecto da presente invenção, provê-se um método de imitar o dano por pragas a uma planta, o método compreendendo localizar referida planta em proximidade com uma planta de acordo com o quinto aspecto.

O sexto aspecto pode empregar qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro, segundo, terceiro ou quarto aspectos.

De acordo com um sétimo aspecto da presente invenção, provê-se o uso de uma composição de tratamento de semente para tratar uma semente a fim de induzir um mecanismo de resistência à planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida a partir da referida semente de modo a limitar o dano à planta por pragas.

De modo apropriado, a composição de tratamento de semente compreende uma composição de acordo com o terceiro aspecto.

De modo apropriado, a resistência contra pragas é causada por um mecanismo de defesa que é regulado pela via oxilipina (também conhecida como via jasmonato ou via octadecanóide).

O sétimo aspecto pode empregar qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro, segundo, terceiro ou quarto aspectos.

De acordo com um oitavo aspecto da presente invenção, provê-se o uso de uma composição de tratamento de semente para tratar uma

semente a fim de induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas em uma planta desenvolvida a partir da referida semente a fim de limitar a sobrevivência da praga e/ou números de pragas e/ou crescimento da planta e/ou reprodução das pragas.

5 De modo apropriado, a composição de tratamento compreende uma composição de acordo com o terceiro aspecto.

De modo apropriado, a resistência contra pragas é causada por um mecanismo de defesa que é regulado pela via oxilipina (também conhecida como a via jasmonato ou via octadecanóide).

10 O oitavo aspecto pode empregar qualquer aspecto como descrito com relação ao primeiro, segundo, terceiro ou quarto aspectos, exceto onde estes aspectos são mutuamente exclusivos.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A presente invenção será agora ilustrada a título de exemplo com referência aos desenhos anexos, em que:

Figura 1 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em dano por ácaro-aranha em plantas de tomate;

Figura 2 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em populações de ácaro-aranha;

20 Figura 3 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em produção de ovos por populações de ácaro-aranha;

Figura 4 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em pastos por lagartas *Manduca sexta*;

25 Figura 5 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em populações de *Myzus persicae* em pimentão (*Capsicum annuum*);

Figura 6 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em populações de ácaro-aranha em plantas não tratadas nas proximidades;

Figura 7 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em reprodução de ácaro-aranha em plantas não tratadas nas proximidades;

Figura 8 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em população de *Myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel");

5 Figura 9 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em pastos por lagartas de *Spodoptera exempta* em milho;

Figura 10 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em pastos por lagartas de *Spodoptera exempta* em trigo;

10 Figura 11 mostra os efeitos de tratamentos da semente com JA em populações de *Myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") quando semente tratada foi semeada após dois meses de armazenamento;

Figura 12 mostra os efeitos dos tratamentos da semente com JA em germinação de semente de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") 7 dias após a semeadura;

15 Figura 13 mostra os efeitos dos tratamentos da semente com JA em altura da planta de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em colheitas semanais;

20 Figura 14 mostra os efeitos dos tratamentos da semente com JA em número de frutas por planta de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em colheitas semanais;

Figura 15 mostra os efeitos dos tratamentos da semente com JA em peso seco de frutas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em colheitas semanais;

25 Figura 16 mostra os efeitos dos tratamentos da semente com MeJA em populações de *Myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel").

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Preparação de soluções de ácido jasmônico (JA) e jasmonato de metila (MeJA)

As soluções de ácido jasmônico (JA) e jasmonato de metila (MeJA) foram preparadas imediatamente antes do tratamento de sementes.

5 Pare preparar a solução de ácido jasmônico 250 mg de JA foram dissolvidos em 1 ml de etanol e completados a um volume de 400 ml com água deionizada para dar uma solução de 3 mM JA em 42,8 mM etanol, como a seguir:

1. A massa de ácido jasmônico em frasco de 250 mg de JA (Sigma- Aldrich) foi registrada do rótulo do frasco.

10 2. O rótulo foi removido e acetona usada para também remover qualquer cola do lado de fora do frasco.

3. Após deixar o frasco secar por 5 min, ele foi pesado em mg mais próximo.

4. Um frasco volumétrico de 500 mL foi cheio com água deionizada até a linha.

15 5. 5 ml de água foram removidos do frasco volumétrico usando uma pipeta Gilson de 1000 µl e então mais 100 ml usando uma pipeta de 100 ml analítica.

20 6. 1 ml de etanol foi adicionado ao frasco de JA usando uma pipeta Gilson de 1000 µl, a tampa do frasco foi substituída e o frasco agitado para dissolver JA. O uso de etanol é necessário como JA não irá dissolver em água diretamente.

7. Os conteúdos do frasco são então transferidos para o frasco volumétrico de 500 ml usando uma pipeta Gilson de 1000 µl.

25 8. 1 mL de água deionizada foram adicionados para o frasco vazio usando uma pipeta Gilson de 1000 µl, a tampa do frasco substituída e o frasco novamente agitado com vigor.

9. Os conteúdos do frasco são então transferidos para o frasco volumétrico de 500 ml usando uma pipeta Gilson de 1000 µl.

10. Etapas 8 e 9 foram repetidas mais 3 vezes.

11. O frasco volumétrico (agora contendo 400 ml de líquido e 250 mg de JA) foram tampados e agitados com vigor.

12. O frasco foi secado a um peso constante em um forno a 150 °C e seu peso registrado.

5 13. A concentração de JA no frasco volumétrico foi calculada da diferença de peso entre as duas pesagens do frasco.

Uma solução de JA de 1,5 mM foi preparada por diluição de solução de JA de 3 mM 2 vezes com água deionizada contendo 42,8 mM etanol. Várias outras concentrações foram preparadas para exemplo 9 de acordo com o método acima com quantidades modificadas de modo apropriado.

15 Uma solução de MeJA de 3,0 mM foi preparada usando substancialmente o mesmo método como acima mas usando MeJA em vez de JA. Para produzir a solução de MeJA, 269 mg de MeJA foram dissolvidos em 1 mL de etanol e levados a um volume de 400 ml com água deionizada para dar uma solução de 3 mM MeJA em 42,8 mM etanol.

Tratamento da semente - Visão Geral

20 Sementes de tomate, pimenta, milho e trigo foram tratadas com soluções de 3 mM JA ou 1,5 mM JA ou com 3 mM jasmonato de metila (MeJA) ou com água deionizada contendo 42,8 mM etanol (controle) por submersão completa de até 40 sementes em uma placa de Petri de solução enrolado em uma folha durante um período de 24 h a 4 °C em um refrigerador. Uma temperatura de 4 °C foi usada tanto para evitar degradação das soluções de ácido jasmônico como para evitar germinação das sementes.

25 As sementes foram então removidas da solução de tratamento e lavadas em 1 litro de água deionizada durante 5 min para remover o revestimento de JA ou MeJA de fora das sementes.

Crescimento e desafio de plantas de tomate, pimenta, milho e trigo - Visão geral

As sementes de tomate foram semeadas em blocos de lã de rocha e cultivadas em composto à base de turfa em estufas a 12 °C - 28 °C sob luz artificial em um ciclo e luz de 16 h e 8 h no escuro durante 48, 56 ou 70 dias.

5 Sementes de pimenta foram semeadas em um composto à base de turfa e cultivadas em estufas não aquecidas sob condições ambientes no verão.

10 As sementes de trigo e milho foram semeadas em composto à base de turfa e cultivadas em estufas não aquecidas com iluminação suplementar (lâmpadas 600 W SON-T, durante 16 h por dia) no outono.

As plantas de tomate foram então desafiadas com *Tetranychus urticae* (ácaro aranha de duas pintas) que foram deixados se alimentar durante 9 dias, lagartas de *Manduca sexta*, (larva do chifre do tabaco) que foram deixadas consumir durante 4 dias ou *Myzus persicae* (afídeos) que foram deixados consumir durante 10 dias ou 12 dias. Em cada caso estes organismos foram limitados à planta em que eles tinham sido originalmente colocados. As plantas de pimenta foram desafiadas com *Myzus persicae* (afídeos), que foram deixados consumir durante 2 semanas. As plantas de milho e trigo foram desafiadas com lagartas de *Spodoptera*
15 *exempta* que foram deixadas consumir durante 2 dias (milho) ou 3 dias (trigo).
20

O efeito de *Tetranychus urticae* sobre as plantas foi medido por meio de contagem do número de ácaros vivos e mortos sobre cada planta e o número de ovos de ácaros presentes usando um microscópio de
25 dissecação.

O efeito de *Myzus persicae* em plantas foi determinado por contagem da população de afídeos em cada planta sob um microscópio de dissecação em uma ampliação de x10.

O efeito de *Manduca sexta* ou *Spodoptera exempta* em plantas

foi determinado por medida da área de folha consumida, medida usando um medidor de área de folha.

EXEMPLO 1

Sementes de variedade de tomate híbrido F1 comercial UK
5 (cv. Carousel) foram tratadas com ou 1,5 ou 3,0 mm de ácido jasmônico (JA) e 42,8 mM etanol em H₂O deionizada durante um período de 24 h a 4 °C no escuro. Estas sementes foram então removidas da solução e lavadas com H₂O deionizada somente para remover o revestimento de JA de fora da semente. Estas sementes foram então germinadas em um modo comercial usando
10 blocos de lã de rocha e foram cultivadas em condições de estufa apropriadas para esta safra. As plantas foram desafiadas com ácaro aranha de duas pintas (*Tetranychus urticae*) 7 semanas após tratamento de uma praga de safra comum, atuando aqui como um "herbívoro modelo".

O dano visual causado pelo ataque do ácaro aranha vermelho
15 (o pontilhado pálido característico da superfície da folha devido à atividade de alimentação da praga) foi substancialmente reduzido (figura 1 - controle e 3,0 mM JA apenas). A resistência observada induzida foi significativa mesmo 8 semanas após a aplicação de JA às sementes.

Foi também observado que se tem uma redução significativa na
20 população de ácaro aranha de duas pintas (*Tetranychus urticae*) sobre as folhas das plantas cultivadas das sementes tratadas com JA comparado com populações em plantas de controle (figura 2). As plantas de controle foram colocadas em pelo menos 10 metros afastadas de quaisquer plantas tratadas com JA e os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da
25 média.

Foi ainda observado que se tem uma redução significativa na taxa reprodutiva do ácaro medida por produção de ovos (figura 3), comparado com as plantas de controle. As plantas de controle foram colocadas em pelo menos 10 metros afastadas de quaisquer plantas tratadas com JA e os dados

ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média .

A figura 2 mostra os efeitos de tratamentos de sementes com JA em populações de ácaro aranha em que as legendas são as seguintes:

X2 = concentração de JA no tratamento de sementes (mM); e

5 Y2 = número de ácaros vivos.

A figura 3 mostra os efeitos de tratamentos com sementes de JA em produção de ovos de populações de ácaro aranha, em que as legendas são as seguintes:

X3 = concentração de JA no tratamento de sementes (mM); e

10 Y3 = ovos produzidos por fêmea adulta.

EXEMPLO 2

Sementes de variedade de tomate híbrido F1 comercial UK (cv. Carousel) foram tratadas com 1,5 ou 3,0 mM de ácido jasmônico (JA) e as plantas cultivadas em condições apropriadas a esta safra (como descrito no exemplo 1). Oito semanas após o tratamento da semente, as plantas cultivadas de semente tratada foram desafiadas com um herbívoro mastigador de folhas por colocação de duas lagartas no terceiro instar da traça de *Manduca sexta* (larga do chifre do tabaco) na quinta folha. As lagartas foram deixadas se alimentar das plantas durante quatro dias e a área das folhas atacadas foi então medida. A área da folha permanecendo após serem atacadas foi significativamente maior em plantas cultivadas da semente tratada com JA do que controles (figura 4). Além disso, as lagartas atacando as folhas de plantas cultivadas a partir de semente tratada com JA cresceram 20% menos do que as se alimentando dos controles. As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximo das plantas cultivadas da semente tratada com JA. Os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média.

A figura 4 mostra os efeitos dos tratamentos com sementes de JA em partes atacadas por lagartas de *Manduca sexta*, em que as legendas são

as seguintes:

X4 = tratamento da semente com C = controle de JA = tratadas com ácido jasmônico e

Y4 = área de folha após serem atacadas (cm²).

5 EXEMPLO 3

Nas experiências em que sementes de pimentão (*Capsicum annuum*, cv. Biscayne) foram tratadas com 1,5 mM ácido jasmônico (JA) e as plantas cultivadas em condições apropriadas para esta safra (como descrito sob Visão Geral). Oito semanas após o tratamento das sementes, as plantas cultivadas de sementes tratadas foram desafiadas com o afídeo *Myzus persicae*. Os afídeos foram deixados se alimentar das plantas durante duas semanas e o crescimento da população de afídeos durante este período foi então medido. Se tem uma redução significativa ($p < 0,001$) na taxa de crescimento da população de afídeos em plantas cultivadas das sementes tratadas com JA (figura 5). As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximas das plantas cultivadas de semente tratada com JA. . Os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média, e as linhas são curvas de crescimento ajustadas que dão taxas de crescimento de população de 0,19 +/- 0,011 para controles e 0,11 +/- 0,016 para tratada com JA.

A figura 5 mostra os efeitos de tratamentos das sementes com JA em populações de *Myzus persicae* em pimentão (*Capsicum annuum*), em que as legendas são:

X5 = dias após introdução de afídeos, e

25 Y5 = número de afídeos com C = controle de JA = tratado com ácido jasmônico

EXEMPLO 4

Nas experiências em que plantas de tomate (cv. Carousel) foram cultivadas sob as mesmas condições e expostas ao mesmo desafio pelo

ácaro aranha de duas pintas *Tetranychus urticae*, como descrito no exemplo 1, se tem uma redução significativa na população de *Tetranychus urticae* em plantas que não tinham recebido o tratamento com JA mas tinham sido cultivadas adjacentes a plantas cultivadas a partir de sementes tratadas com ou 1,5 ou 3,0 mM de ácido jasmônico (JA). O efeito foi observado na comparação dos controles localizados pelo menos 10 metros afastados (figura 6). Os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média.

Foi também observado que se tem uma redução significativa na taxa de reprodução de ácaro (medido por produção de ovos) em plantas que não tinham recebido tratamento com JA mas tinham sido cultivadas adjacentes a plantas cultivadas de sementes tratadas com ou 1,5 ou 3,0 mM ácido jasmônico (JA). O efeito foi novamente observado na comparação dos controles localizados pelo menos 10 metros afastados (figura 7). Os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média.

Figura 6 mostra os efeitos de tratamento com sementes JA em populações de ácaro aranha em plantas não tratadas na proximidade, em que as legendas são:

X6 = tratamento, com VC = controle virgem, N1.5= vizinho de tratamento com sementes 1,5 mM e N3.0 = vizinho de tratamento com sementes 3,0 mM, e

Y6 = número de ácaros vivos.

Figura 7 mostra os efeitos dos tratamentos com sementes JA em reprodução de ácaro aranha em plantas não tratadas vizinhas, em que as legendas são as seguintes:

X7 = tratamento com VC = controle virgem, N1.5= vizinho de tratamento com sementes 1,5 mM e N3.0 = vizinho de tratamento com sementes 3,0 mM, e

Y7 = ovos produzidos por fêmea adulta.

EXEMPLO 5

Sementes de variedade de tomate híbrido F1 comercial UK (cv. Carousel) foram tratadas com 3,0 mM de ácido jasmônico (JA) e 42,8 mM etanol em H₂O deionizada durante um período de 24 h a 4 °C no escuro. Estas sementes foram então removidas da solução e lavadas com H₂O deionizada somente para remover o revestimento de JA de fora da semente, e as plantas cultivadas em condições apropriadas para esta cultura (como descrito em Visão Geral). 10 semanas após a semeadura, as plantas foram desafiadas com o ácaro *Myzus persicae*. Os afídeos foram deixados se alimentar das plantas durante 12 dias e a população de afídeos comparada com as plantas de controle. Se tem uma redução significativa ($p < 0,05$) na população de afídeos em plantas cultivadas de sementes tratadas com JA (figura 8). As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximas das plantas cultivadas da semente tratada com JA. Os dados ilustrados são médias de 15 réplicas +/- erro padrão da média.

A figura 8 mostra os efeitos dos tratamentos de sementes com JA em populações de *Myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel"), em que as legendas são as seguintes:

X8 = dias após primeiro ataque dos afídeos, e

Y8 = número de afídeos (tratados como % de controle).

EXEMPLO 6

Sementes de milho cv. Earligold foram tratadas com 1,5 mM ácido jasmônico (JA) e as plantas cultivadas na estufa (como no exemplo 1). No estágio de cabelo de milho (aproximadamente 10 semanas após o tratamento das sementes), as plantas foram desafiadas com um herbívoro mastigando as folhas por colocação de duas lagartas da traça *Spodoptera exempta* em uma folha completamente expandida. As lagartas foram deixadas se alimentar das plantas durante 2 dias e a área de folhas atacadas foi então medida. A área de folha consumida pelas lagartas foi 38% menor em plantas

cultivadas da semente tratada com JA do que controles (significante a $p < 0,05$). Quando expressada como a área de folha consumida por peso unitário de lagartas, a redução em plantas cultivadas da semente tratado com JA foi ainda mais pronunciada (40%, $p < 0,001$, figura 9). As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximo das plantas cultivadas a partir de semente tratada com JA. . Os dados ilustrados são médias de 12 réplicas +/- erro padrão da média.

Figura 9 mostra os efeitos dos tratamentos de sementes com JA em ataques por lagartas *Spodoptera exempta* em milho, em que as legendas são como a seguir:

X9 = tratamento , com C = controle e JA = tratado com ácido jasmônico, e

Y9 = área de folha consumida por g de peso fresco de lagarta.

EXEMPLO 7

Sementes de variedade de trigo comercial (cv. Einstein) foram tratadas com 1,5 mM ácido jasmônico (JA), e plantas cultivadas na estufa (com no exemplo 1). 7 semanas após o tratamento da semente, plantas foram desafiadas com um herbívoro mastigando as folhas por colocação de duas lagartas da traça *Spodoptera exempta* em cada planta. As lagartas foram deixadas se alimentar das plantas durante 3 dias e a área de folhas atacadas foi medida. A área de folha consumida por lagartas for 60% menor em plantas cultivadas de semente tratada com JA do que controles (significante a $p < 0,01$, figura 10). As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas mantidas próximas das plantas cultivadas da semente tratada com JA . Os dados ilustrados são médias de 10 réplicas +/- erro padrão da média.

Figura 10 mostra os efeitos dos tratamentos com sementes de JA em ataque por lagartas de *Spodoptera exempta* em trigo, em que as legendas são como a seguir:

X10 = tratamento com C = controle e Já = tratamento com ácido jasmônico, e

Y10 = área de folha comida (cm²).

EXMEPLO 8

5 Sementes de variedade de tomate híbrido F1 comercial UK (cv. Carousel) foram tratadas com 3,0 mm de ácido jasmônico (JA) e 42,8 mM etanol em H₂O deionizada durante um período de 24 h a 4 °C no escuro. Como nos exemplos anteriores, estas sementes foram então removidas da
10 solução e lavadas com H₂O deionizada somente para remover o revestimento de JA de fora da semente, mas diferente de exemplos anteriores, a semente tratada foi então secada e armazenada seca em um refrigerador a 4 °C durante dois meses antes da semeadura. Após semeadura, as plantas foram cultivadas em condições apropriadas para a cultura (como descrito sob Visão Geral). Dez
15 semanas após semeadura, as plantas foram desafiadas com o afídeo *Myzus persicae*. Os afídeos foram deixados se alimentar das plantas durante 10 dias e a população de afídeos comparada com a das plantas de controle. Se tem uma redução significativa ($p < 0,05$) na população de afídeos em plantas cultivadas de semente tratada com JA (figura 11). As sementes de controle foram
20 tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximas das plantas cultivadas de semente tratada com JA. . Os dados ilustrados são médias de 15réplicas +/- erro padrão da média.

Figura 11 mostra os efeitos de tratamentos de sementes com JA em populações de *Myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") quanto a semente tratada foi semeada após dois meses de
25 armazenamento, em que as legendas são as seguintes:

X11 = dias após o primeiro ataque dos afídeos; e

Y11 = número de afídeos (tratados como % de controle).

EXEMPLO 9

A germinação de sementes de um híbrido F1 comercial UK

(cv. Carousel) foi retardada durante aproximadamente um dia quando as sementes foram tratadas com ou 1,5 ou 3,0 mM ácido jasmônico (JA) e 42,8 mM etanol em H₂O deionizada durante um período de 24 h a 4 °C no escuro. Estes tratamentos não tinham efeitos significantes sobre a germinação percentual final. Quando as sementes foram tratadas com uma faixa mais ampla de concentrações de ácido jasmônico (JA) entre 0,001 e 50 mM sob as mesmas condições, a germinação percentual final foi reduzida de modo significativo somente por concentrações em excesso de 10 mM (figura 12). Os dados ilustrados são médias de 10 populações em réplicas +/- erro padrão da média, e a linha é uma resposta de dose ajustada.

A figura 12 mostra os efeitos de tratamentos de sementes com JA sobre a terminação de sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") 7 dias após a semeadura, em que as legendas são as seguintes:

X12 = concentração de JA (mM escala log) e

Y12 = germinação de sementes (%) após 7 dias.

EXEMPLO 10

Os estudos a longo prazo de crescimento e rendimento ondas as plantas são coletadas em intervalos semanais, tratamento de sementes com 1,5 ou 3,0 mM JA, como no exemplo 9, não teve um efeito significativo sobre o crescimento vegetativo ou reprodutivo, ou rendimento comercial de tomate, pepino ou pimenta. Por exemplo, os dados ilustrados para tomate (cv. Carousel) não mostram efeitos significantes sobre a altura da planta (figura 13), número de frutas (figura 14) ou peso seco de frutas (figura 15) em cada colheita semanal. Os dados são médias de 8 réplicas de plantas +/- erro padrão da média, e a linha é uma resposta do crescimento ajustada. Nem a resposta de crescimento ajustada nem a análise de 2 vias de variância (tratamento x colheita) mostraram qualquer diferença significativa entre plantas de controle e as cultivadas de semente tratada com JA.

Figura 13 mostra os efeitos de tratamentos de sementes com

JA em altura de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em cada colheita semanal, em que as legendas são as seguintes:

X13 = colheita (semanas); e

Y13 = altura de planta (cm) com C = controle de tratamento

5 com JA = ácido jasmônico

Figura 14 mostra os efeitos de tratamentos de sementes de A sobre o número de frutas por planta de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em cada colheita semanal, em que as legendas são as seguintes:

X14 = colheita (semanas) e

10 Y14 = número de frutas com C = controle e tratamento com JA = ácido jasmônico

Figura 15 mostra o efeito dos tratamentos com sementes com JA sobre o peso seco das frutas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em cada colheita semanal, em que as legendas são as seguintes:

15 X15 = colheita (semanas); e

Y15 = peso seco das frutas (g) com C = controle e tratamento com JA = ácido jasmônico

EXEMPLO 11

20 Sementes de variedade de tomate híbrido F1 comercial UK foram tratadas com 0,2 mM jasmonato de metila (MeJA) e 42,8 mM etanol em H₂O deionizada durante um período de 24 h a 4 °C no escuro. Estas sementes foram então removidas da solução e lavadas com H₂O deionizada somente para remover o revestimento de MeJA de fora da semente e as plantas foram cultivadas em condições de estufa apropriadas para esta safra

25 (como descrito sob Visão Geral). Dez semanas após o tratamento da semente, as plantas cultivadas da semente tratada foram desafiadas com o afídeo *Myzus persicae*. Os afídeos foram deixados se alimentar das plantas durante doze dias e a população de afídeos foi medida em intervalos durante este período. Comparado com plantas de controle, se tem uma redução significativa

($p < 0,05$) na população de afídeos em plantas cultivadas a partir de semente tratada com MeJA (figura 16). As sementes de controle foram tratadas com a solução de etanol apropriada mas foram mantidas próximas das plantas cultivadas de semente tratada com JA. . Os dados ilustrados são médias de 12 réplicas +/- erro padrão da média.

Figura 16 mostra os efeitos dos tratamentos de sementes com MeJA em populações de *myzus persicae* em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel") em que as legendas são as seguintes:

X16 = dias após desafio com afídeos, e

Y16 = número de afídeos (tratado como % de controle).

Sumário dos exemplos

Dos exemplos 1 a 11, plantas de tomate, pimentão, milho e trigo cultivadas de semente tratada foram observadas como sendo protegidas contra insetos e outras pragas quando desafiadas até 10 semanas após a semeadura (tabela 1).

Tabela 1				
Safra	praga	Semanas da semeadura	tratamento	exemplo
tomate	<i>Tetranychus urticae</i>	7	ácido jasmônico 1,5 3 mM	1
tomate	<i>Menduca sexata</i>	8	ácido jasmônico 1,5 mM	2
tomate	<i>Myzus persicae</i>	10	ácido jasmônico 3 mM	5 e 8
tomate	<i>Myzus persicae</i>	10	jasmonato de metila 3 mM	11
pimentão	<i>Myzus persicae</i>	8	ácido jasmônico 1,5 mM	3
Milho	<i>Spodoptera exempta</i>	10	ácido jasmônico 1,5 mM	6
trigo	<i>Spodoptera exempta</i>	7	ácido jasmônico 1,5 mM	7

Tabela 1 mostra os períodos de tempo tratados após o que as plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. "Carousel"), pimentão (*Capsicum annuum* cv. Biscayne), milho (Cv. Earligold) e trigo (cv Einstein) cultivadas a partir da semente tratada com ácido jasmônico ou jasmonato de metila foram desafiadas com várias pragas e verificou-se demonstrarem resistência às pragas.

Será notado que as formas de realização preferidas dos métodos, sementes, plantas e composições da invenção tem benefícios significantes. Por aplicação de uma composição de tratamento

compreendendo um produto químico de sinalização de planta (agente de tratamento) a uma semente para induzir os mecanismos de resistência natural da planta, por exemplo as atuando contra pragas de modo a reduzir a sobrevivência, alimentação ou reprodução de pragas, o dano à safra pode ser
5 reduzido. Por aplicação desta composição antes da germinação, pode ser possível então iniciar subseqüentes mudas e plantas maduras contra o ataque das pragas em um modo surpreendentemente expediente e efetivo. Dado o modo de ação da composição de tratamento, acredita-se que as formas de realização preferidas podem ter um papel principal dentro das abordagens de
10 IPM e/ou na redução dos níveis de uso de pesticidas.

As formas de realização preferidas de métodos e composições para o tratamento de sementes podem prover efetiva proteção para plantas subseqüentes contra artrópodes herbívoros e outras pragas. Esta proteção pode ser efetiva em um período de tempo extensivo. Surpreendentemente, o
15 tratamento de uma semente não germinante pode ser efetivo que pode permitir que a semente seja armazenada durante períodos significantes entre o tratamento e a semeadura. De modo benéfico, problemas de fitotoxicidade podem ser evitados.

A atenção é dirigida a todos os trabalhos e documentos que são
20 apresentados concorrentemente com ou anteriores a este relatório em conexão com este pedido e que são abertos à inspeção pública com este relatório, e os conteúdos de todos estes trabalhos e documentos são incorporados aqui por referência.

Todos os aspectos descritos neste relatório (incluindo
25 quaisquer reivindicações, resumo e desenhos anexos) e/ou todas as etapas de qualquer método ou processo assim descritos, podem ser combinados em qualquer combinação, exceto combinações onde pelo menos alguns destes aspectos e/ou etapas são mutuamente exclusivos.

Cada aspecto descrito neste relatório (incluindo quaisquer

reivindicações, resumo e desenhos anexos) pode ser substituído por aspectos alternativos servindo ao mesmo, equivalente ou similar fim, salvo expressamente especificado em contrário. Assim, salvo expressamente especificado em contrário, cada aspecto descrito é um exemplo apenas de uma série genérica de aspectos equivalentes ou similares.

5 A invenção não é limitada aos detalhes da(s) forma(s) de realização acima(s). A invenção estende-se a qualquer um dos novos aspectos, ou qualquer combinação nova, descritos neste relatório (incluindo quaisquer reivindicações, resumo e desenhos anexos) ou a qualquer uma nova das etapas, ou qualquer combinação nova, de qualquer método ou processo assim descrito.

10

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de uma semente com uma composição de tratamento de semente para induzir um mecanismo de resistência da planta contra um ou mais pragas invertebradas herbívoras em uma planta desenvolvida a partir da referida semente, de modo a limitar o dano à planta por pragas, caracterizado pelo fato de compreender aplicar a composição de tratamento a uma semente, em que a semente é uma semente não germinada, em que a composição de tratamento compreende um agente de tratamento selecionado dentre ácido jasmônico (JA) ou seus sais de jasmonato, éster metílico de ácido jasmônico, ('jasmonato de metila'); conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), ácido 12-oxo-fitodienólico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres metílicos de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanóico); ou combinações dos mesmos.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição de tratamento compreende um embebimento de semente e o método compreende o tratamento de uma semente por embebimento da mesma na composição de tratamento.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a composição de tratamento compreende água, um agente de tratamento e um solvente não aquoso.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o solvente não aquoso compreende etanol.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a composição de tratamento compreende ácido jasmônico (JA).

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a

5, caracterizado pelo fato de que a composição de tratamento compreende jasmonato de metila (MeJA).

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que a composição de tratamento compreende agente de tratamento a uma concentração de entre 0,1 mM e 15 mM.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a resistência contra as pragas é causada por um mecanismo de defesa que é regulado pela via da oxilipina (também conhecida como via jasmonato ou via octadecanóide).

10 9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que compreende manter uma semente em um estado não germinado durante o tratamento pelo uso de temperaturas frias.

15 10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que compreende colocar uma semente em contato com uma composição de tratamento de semente durante 1 hora ou mais.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que compreende secar uma semente subsequente à aplicação da composição de tratamento à semente.

20 12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que uma semente tratada pode ser armazenada durante uma semana ou mais antes da germinação ser iniciada sem impedir a indução de mecanismos de resistência da planta.

25 13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que uma planta germinada a partir de uma semente tratada de acordo com o método demonstra resistência ao dano por pragas pelo menos sete semanas após a germinação.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que o método é tal que a fitotoxicidade em

uma planta desenvolvida a partir de uma semente tratada é substancialmente evitada.

15 15. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que o método inclui o tratamento de semente não germinada com a composição de tratamento e, subsequentemente, lavagem e/ou secagem e/ou armazenagem da referida semente antes da germinação.

10 16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o método inclui o tratamento de semente não germinada com a composição de tratamento e, subsequentemente, armazenagem da referida semente por pelo menos 24 horas antes da germinação ser iniciada.

15 17. Método para prover uma planta com resistência a dano por pragas, caracterizado pelo fato de compreender aplicar uma composição de tratamento de semente a uma semente não germinada, e subsequentemente desenvolver uma planta a partir da referida semente, em que a composição de tratamento induz um mecanismo de resistência na planta contra uma ou mais pragas na referida planta desenvolvida a partir da referida semente tratada, em que o método de tratamento da semente compreende um método como
20 definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 16.

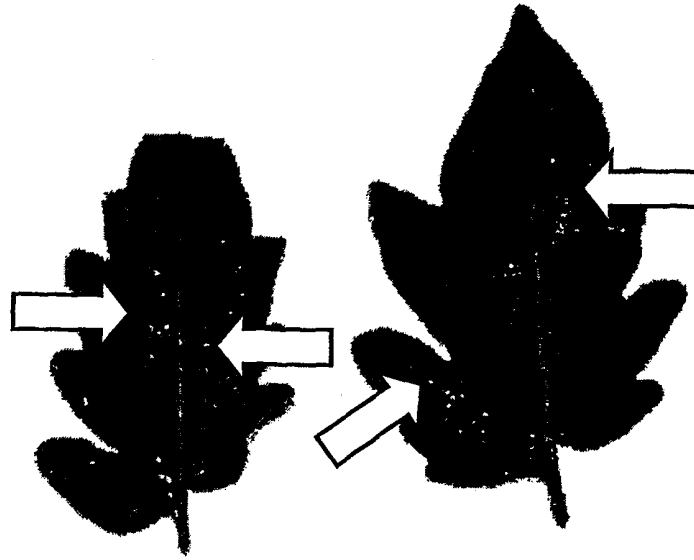
18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o método compreende tratar uma semente com uma composição de tratamento, e subsequentemente lavar e/ou secar e/ou armazenar a referida semente antes da germinação.

25 19. Método de acordo com a reivindicação 17 ou reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que a planta provida pelo método demonstra resistência contra pragas causada por mecanismos de defesa que são regulados pela via da oxilipina que pode também ser referida como a via do jasmonato ou a via do octadecanóide.

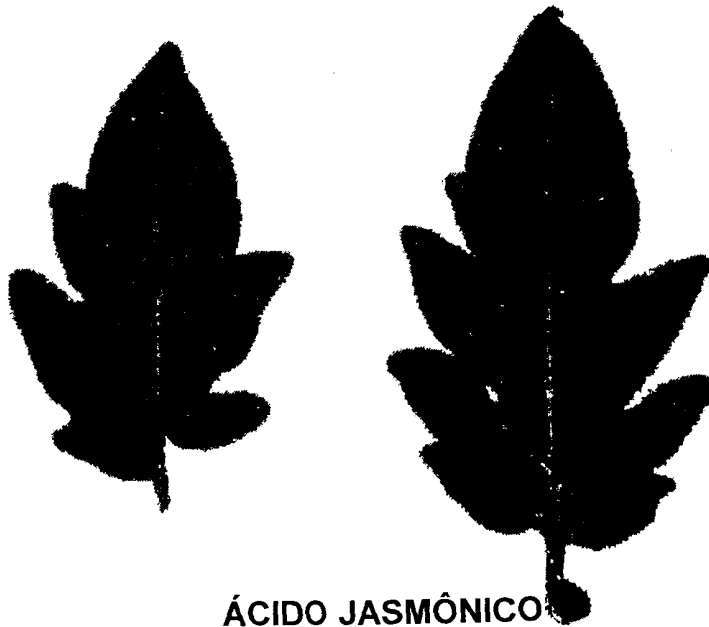
20. Uso de uma composição de tratamento de semente, caracterizado pelo fato de ser para tratar uma semente não germinada a fim de induzir um mecanismo de resistência da planta contra uma ou mais pragas vertebradas herbívoras em uma planta desenvolvida a partir da referida semente de modo a limitar o dano às plantas por pragas, em que a composição de tratamento compreende um agente de tratamento selecionado dentre ácido jasmônico (JA) ou seus sais de jasmonato, éster metílico de ácido jasmônico, ('jasmonato de metila'); conjugados de ácido jasmônico - L-aminoácido (ligado a amida), ácido 12-oxo-fitodienóico; coronatina (uma amida de ácido coronafácico com ácido 2-etil-1-aminociclopropano carboxílico); coronafacoil-L-serina e coronafacoil-L-treonina; ésteres metílicos de 1-oxo-indanoil-isoleucina e 1-oxo-indanoil-leucina; coronalon (éster metílico de ácido 2-[(6-etil-1-oxo- idano-4-carbonil)-amino]-3- metil pentanóico); ou combinações dos mesmos.

21. Uso de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o mecanismo de resistência da planta limita a sobrevivência da praga e/ou números de pragas e/ou crescimento da praga e/ou reprodução da praga.

22. Uso de acordo com a reivindicação 20 ou a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que a resistência contra pragas é causada por um mecanismo de defesa que é regulado pela via da oxilipina (também conhecida como via jasmonato ou via octadecanóide).

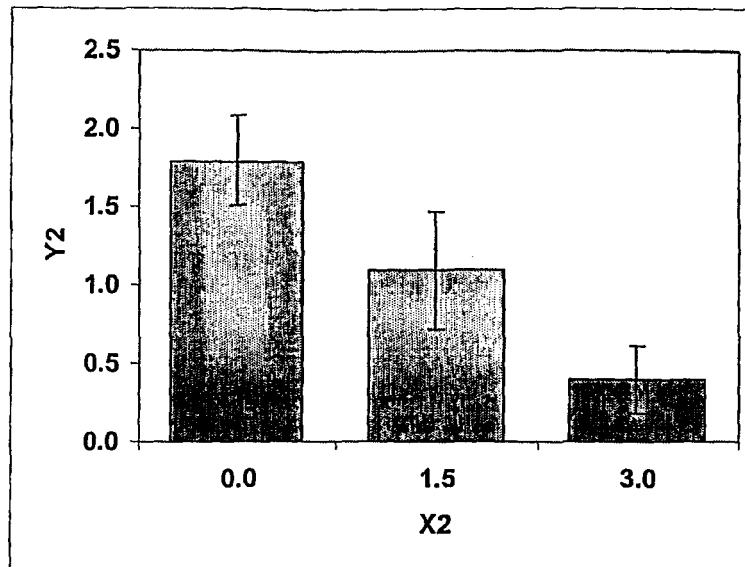
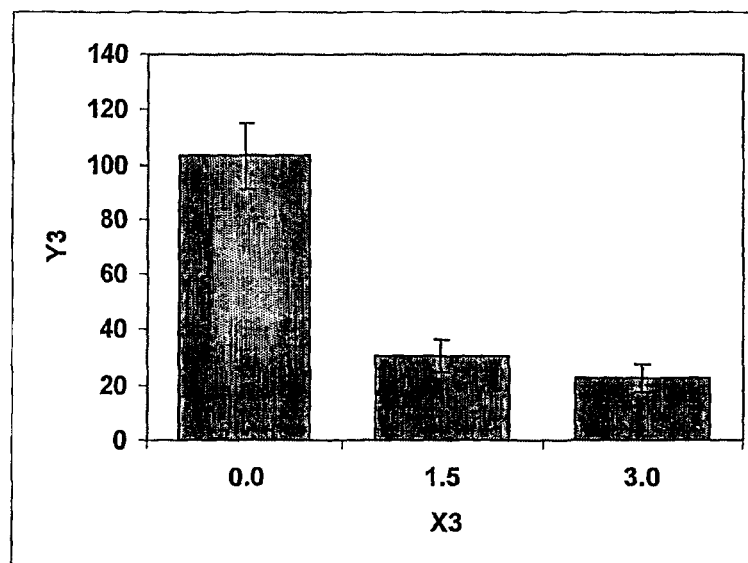


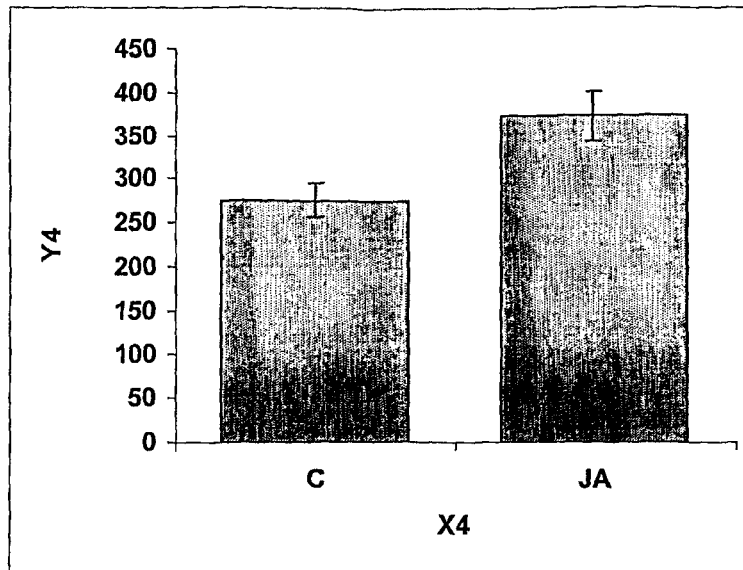
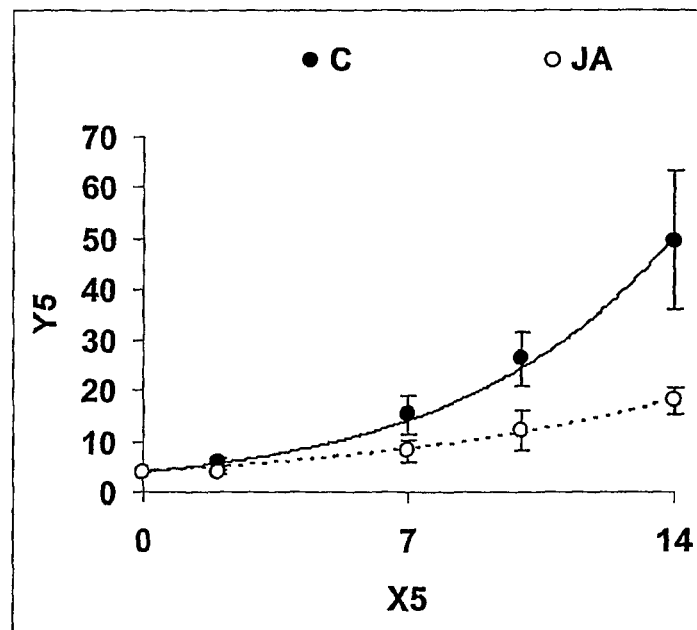
CONTROLE

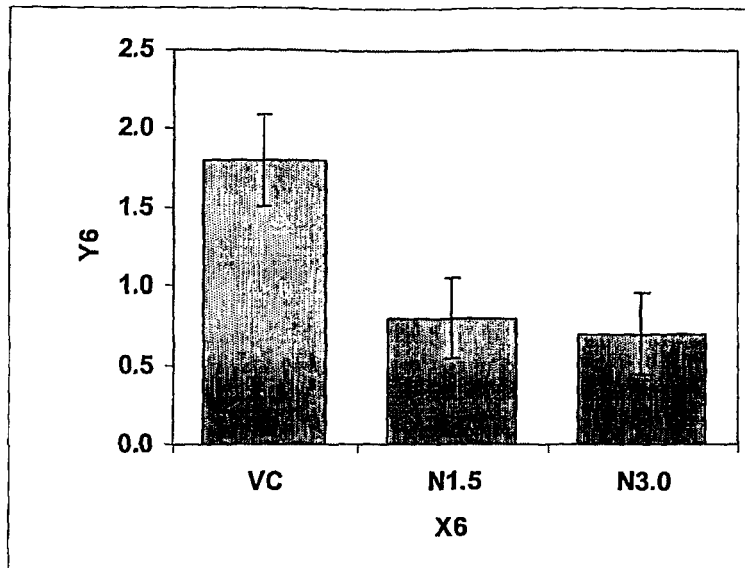
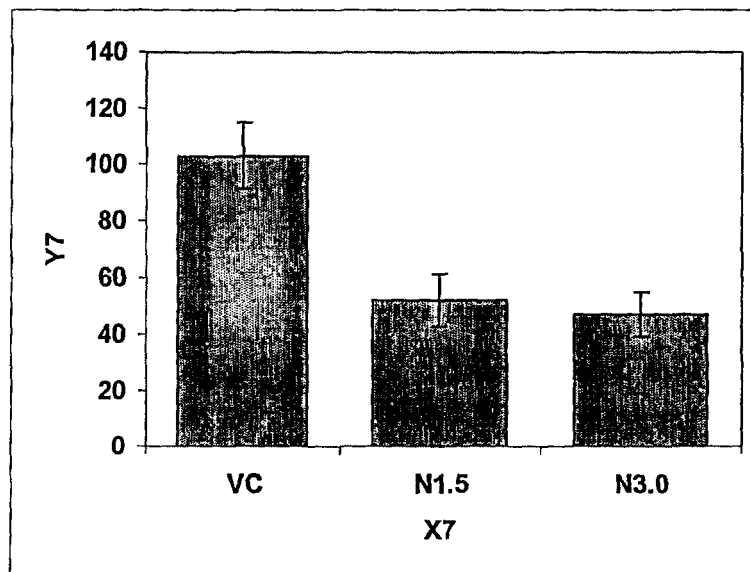


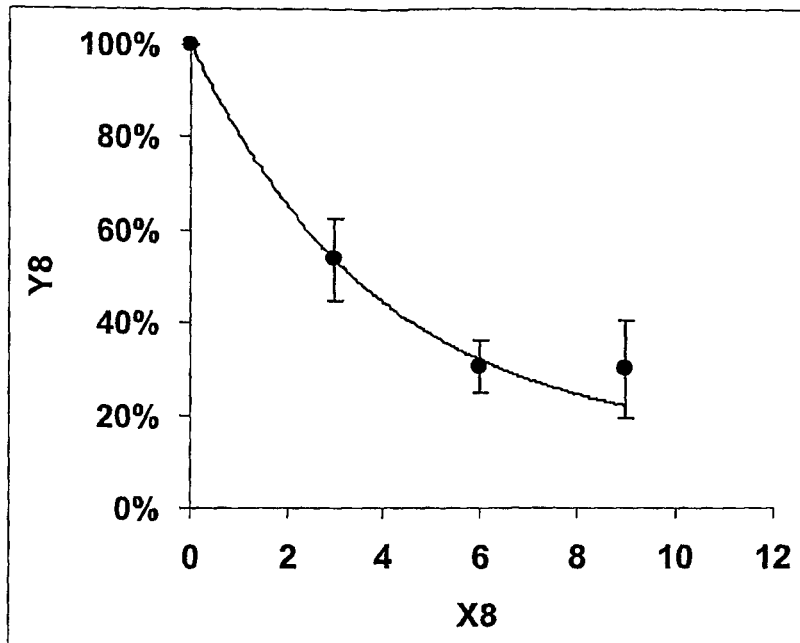
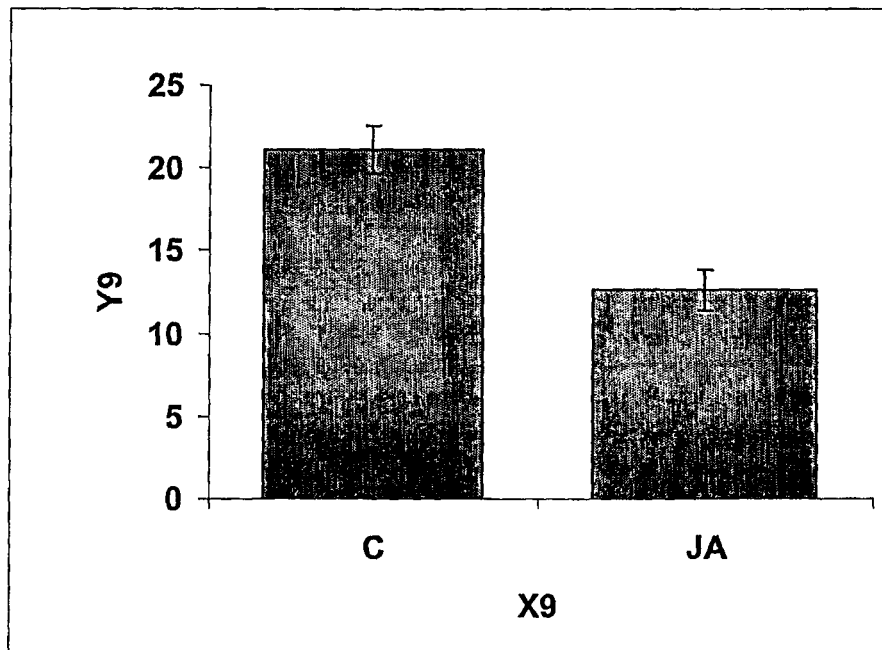
ÁCIDO JASMÔNICO

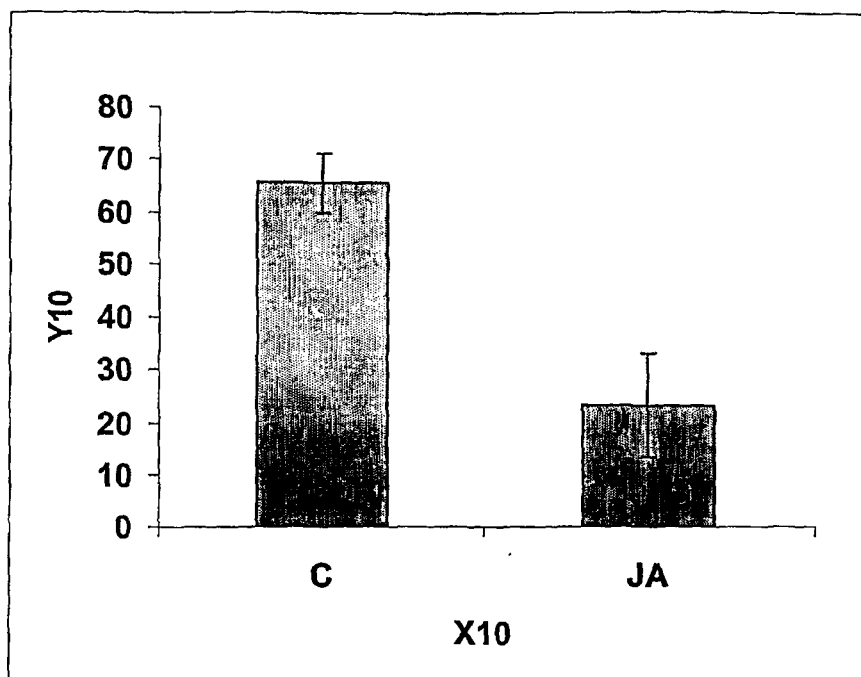
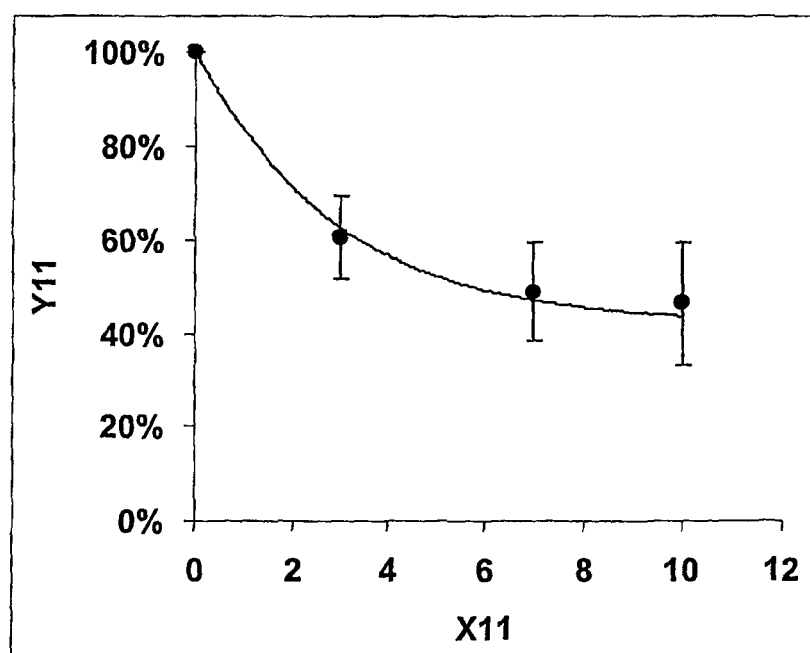
FIGURA 1

**FIGURA 2****FIGURA 3**

**FIGURA 4****FIGURA 5**

**FIGURA 6****FIGURA 7**

**FIGURA 8****FIGURA 9**

**FIGURA 10****FIGURA 11**

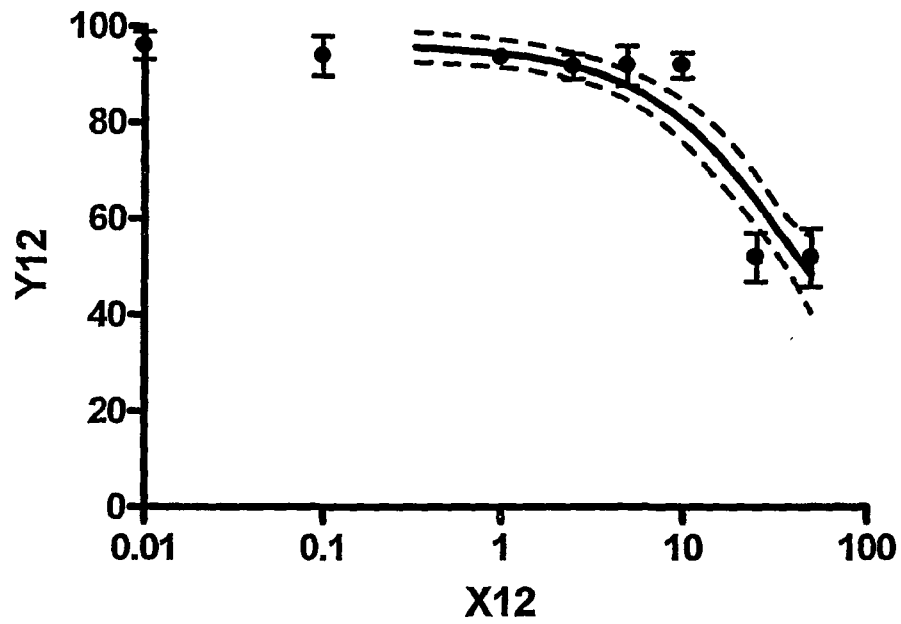


FIGURA 12

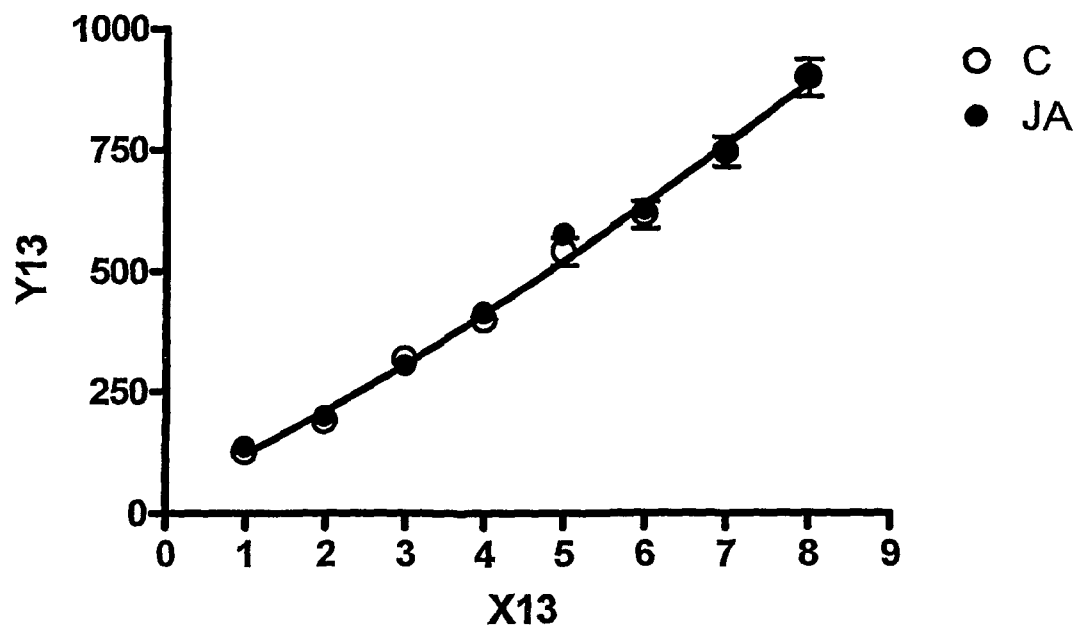


FIGURA 13

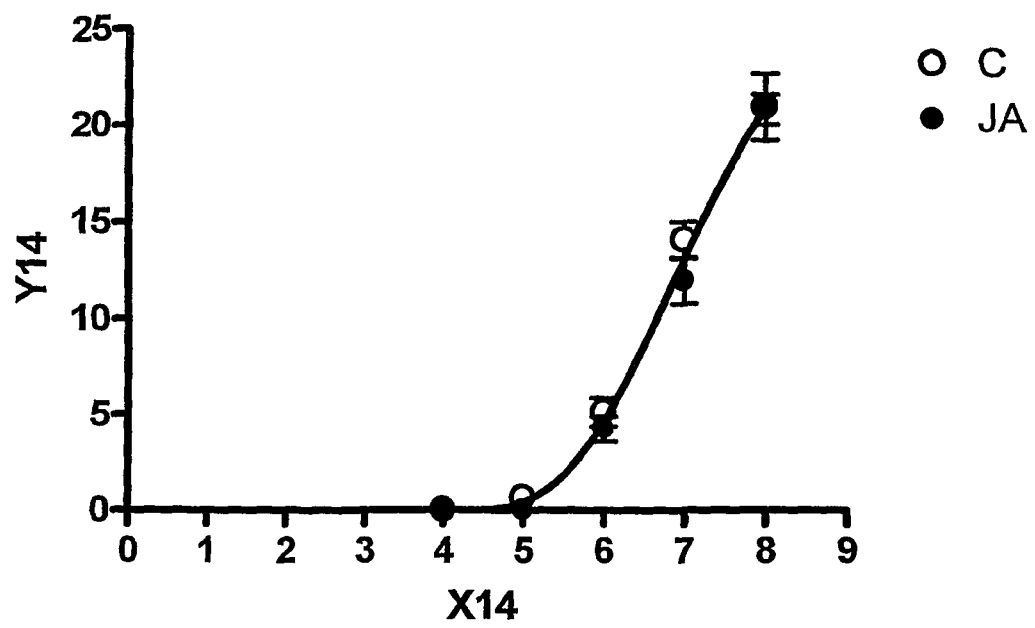


FIGURA 14

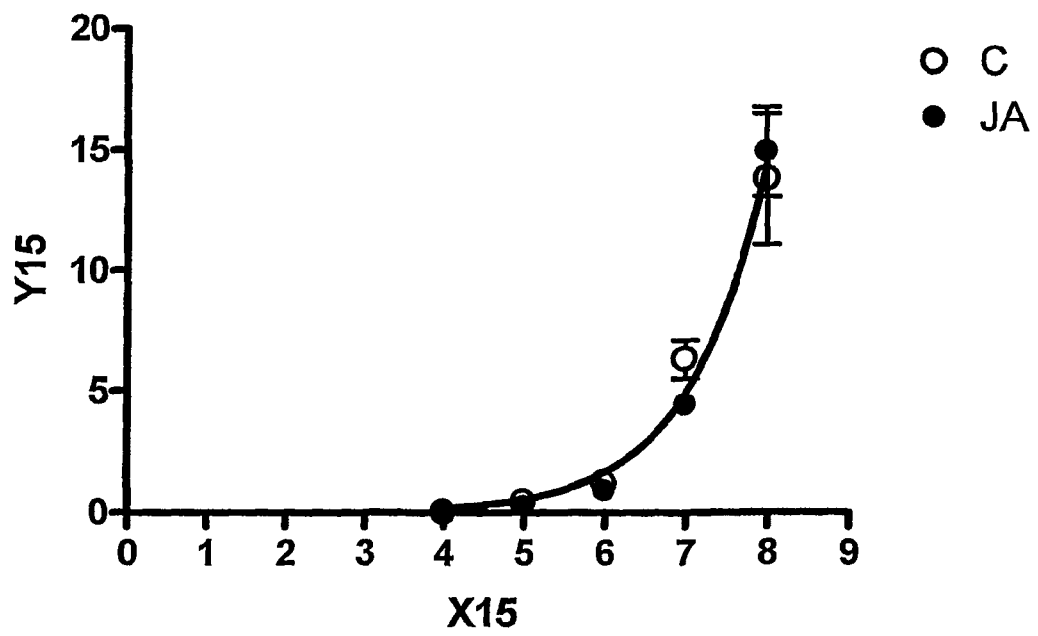
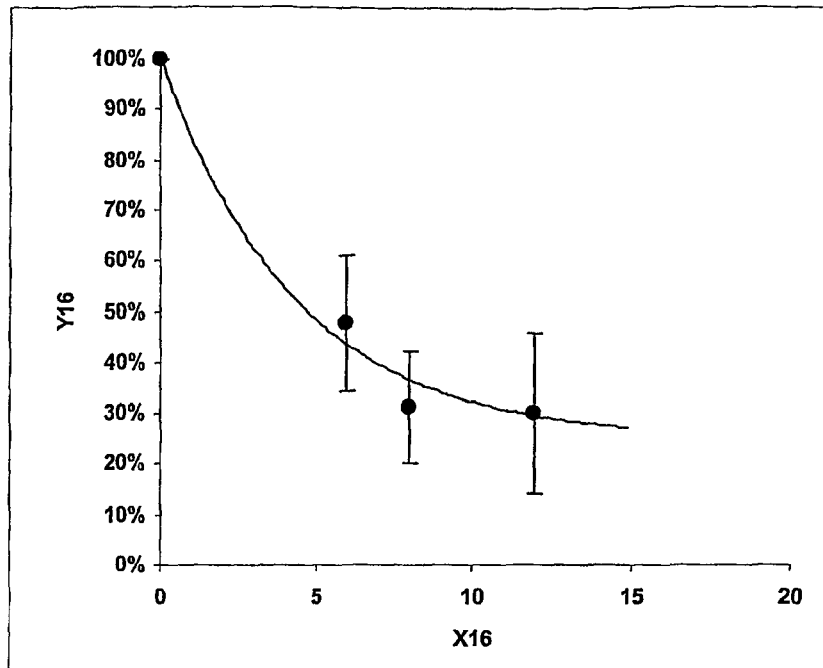


FIGURA 15

**FIGURA 16**