

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

JOSICLÉA HÜFFNER ARRUDA

**AÇÃO DE AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO EM
SOJA**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOSICLÉA HÜFFNER ARRUDA

AÇÃO DE AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO EM
SOJA

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2014

JOSICLÉA HÜFFNER ARRUDA

**AÇÃO DE AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO EM
SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos
Co-Orientadora: Prof. Dra. Marisa de Cacia
Oliveira

PATO BRANCO

2014

A779a Arruda, Josicléa Hüffner
Ação de agroquímicos no controle de mofo branco em soja/Josicléa Hüffner
Arruda. – Pato Branco: UTFPR, 2014.
58 f. il. 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos
Co-Orientador: Prof. Dra. Marisa de Cacia Oliveira

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Pato Branco, 2014.

Bibliografia p. 42-51

1. Soja. 2. Mofo branco-controle químico. 3. Fungicidas. I. Santos, Idalmir,
orient. II. Oliveira, Marisa de Cacia, co-orient. III. Universidade Tecnológica
Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22ª ed. 630



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 090

Ação de agroquímicos no controle de mofo branco em soja

por

Josicléa Hüffner Arruda

Dissertação apresentada às oito horas e trinta minutos do dia vinte e oito de janeiro de dois mil e quatorze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Otavio Machado Menten
ESALQ/USP

Prof^a. Dr^a. Marisa de Cacia Oliveira
UTFPR/PB

Prof^a. Dr^a. Rosangela Dallemole Giaretta
UTFPR/PB

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
UTFPR/PB
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
PPGAG

*O termo de aprovação assinado encontra-se na coordenação do PPGAG

A minha família e ao meu namorado que são fonte inesgotável de amor, força e compreensão, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela benção da vida, por me dar força para superar as dificuldades, e por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho.

Aos irmãos Pernlochner por ceder a área para realização do experimento de campo, por toda ajuda e suporte.

Ao meu orientador Idalmir dos Santos, por todos esses anos de orientação, convívio e amizade, pela confiança e paciência, pelos momentos de descontração e por todos os ensinamentos repassados.

A minha co-orientadora Marisa de Cacia Oliveira, pela amizade, pela compreensão, por sempre estar disposta a ajudar e apoiar nos momentos difíceis, sempre trazendo soluções e palavras de conforto.

Aos amigos Rubia Camochena, Kelly Pazolini, Andrei Kuhn, Danilo Sebin, Daniel Heck, Patrícia Piacentini, Driéli Reiner, Marielle Marcondes, Rosangela Giarretta, Aquélis Emer, Evandro Minato, Felipe Deifel, Alana Chiarani, e a todos que de alguma forma auxiliaram na condução do trabalho.

Aos meus amigos do laboratório de fitopatologia, pelas risadas e brincadeiras, pois, mesmo nos momentos mais complicados achamos motivos para sorrir e fazer piadinhas.

Em especial as minhas amigas Kelly, Mariana, Driéli, Aquélis e Marielle pelo carinho, agradável convivência e bons conselhos.

Aos professores do Programa de pós graduação em agronomia, pelo conhecimento transmitido, e aos funcionários da UTFPR que em vários momentos ajudaram na realização do trabalho.

Aos meus pais José e Simone, e meu irmão Rodrigo, pelo apoio, incentivo e amor incondicional.

Ao meu namorado Kassiano, por todo amor, compreensão, ajuda e companheirismo de sempre, obrigada por fazer parte da minha vida.

“Não basta ensinar ao homem uma especialidade porque ele se tornará assim, uma máquina utilizável, mas não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento, um senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto.”

Albert Einstein

RESUMO

ARRUDA, Josicléa Hüffner. Ação de agroquímicos no controle de mofo branco em soja. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

A soja é uma das principais *commodities* produzidas no mundo. Entretanto, tem sua produtividade reduzida, significativamente, devido às doenças, dentre estas o mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, com expressiva severidade em regiões de clima ameno e úmido. O controle da doença, incluindo o uso de fungicidas, é pouco eficiente. Assim, o trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de herbicidas e adubos foliares à base de fosfito de potássio no manejo do mofo branco em soja, bem como a ação dos produtos, indução da síntese de fitoalexinas e das enzimas peroxidases e superóxido dismutase, assim como a ação direta dos agroquímicos sobre o patógeno. Para isso, avaliou-se a ação *in vitro* dos produtos químicos sobre o crescimento micelial do fungo e germinação de escleródios. A indução foi testada em laboratório por meio da avaliação da síntese de fitoalexinas em cotilédones de soja, e das enzimas POX e SOD, submetidas aos mesmos tratamentos de campo. O experimento de campo foi implantado em Coronel Domingos Soares - PR, safra 2012/2013, em área com infestação natural do fitopatógeno. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com 4 repetições e 6 tratamentos: testemunha, lactofen (0,6 L ha⁻¹ em V4), bentazon (1,5 L ha⁻¹ em V4), fluazinam (1 L ha⁻¹ em R1) e dois adubos foliares denominados fosfito A (30 p/p % de P₂O₅ e 20 p/p % de K₂O) (3 L ha⁻¹ em V4 + R1) e fosfito B (26 p/p % de P₂O₅ e 19 p/p % de K₂O) (2 L ha⁻¹ em V4 + R1). O fungicida foi o único produto que inibiu totalmente o desenvolvimento do fungo *in vitro*. Em laboratório, o bentazon alcançou os maiores índices de produção de fitoalexinas, enquanto os adubos foliares não as induziram. Ambos os herbicidas e o fosfito A tiveram potencial para aumentar a atividade da enzima POX. No experimento de campo os herbicidas bentazon e lactofen destacaram-se no controle do mofo branco, sendo de 60,5% e 52,3%, respectivamente, e o tratamento com fosfito A com um controle de 37,9%, superiores ao tratamento com fungicida. Em relação aos componentes de rendimento houve incrementos utilizando os herbicidas, entretanto, não diferiram estatisticamente da testemunha pelo teste de Duncan a 5%.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*, controle químico, indução de resistência, bentazon, lactofen, fosfito de potássio.

ABSTRACT

ARRUDA, Josicléa Hüffner Arruda. Action of agrochemicals to control white mold in soybeans. 58 f. Dissertation (MSc in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Crop), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2014.

Soybean is one of the most important crops in the world. However, several times the yield is reduced due to diseases as the stem rot (white mold) caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, which is a several fungal, mainly in areas with low temperatures and high moisture. The disease control, including the use of fungicides, is difficult. Thus, the objective of this study was to verify the effect of herbicides and foliar fertilizers with potassium phosphite on control of white mold soybean, determining the action of this agrochemicals about the phytoalexin, superoxide dismutase and peroxidase synthesis, and the direct action on the pathogen. For this, the *in vitro* effect of agrochemicals on the pathogen was evaluated. Also, the induction was tested in the laboratory by evaluation of phytoalexin synthesis in soybean cotyledons, and POX and SOD enzymes, subjected to the same treatment field. The field trials were conducted in Coronel Domingos Soares – PR, evaluations were made in 2012/2013 crop. A randomized-complete blocks design with 6 treatments and 4 replicates was used. The treatments were: lactofen (0,6 L ha⁻¹ applied in V4), bentazon (1,5 L ha⁻¹ in V4), fluazinam (1 L ha⁻¹ in R1) and two foliar fertilizers called fosfito A (30 p/p % de P₂O₅ and 20 p/p % de K₂O) (3 L ha⁻¹ in V4 + R1) and fosfito B (26 p/p % de P₂O₅ and 19 p/p % de K₂O) (2 L ha⁻¹ in V4 + R1). . The fungicide was the only product that completely inhibited fungal growth *in vitro*. In the laboratory, the bentazon reached the highest levels of phytoalexin production, but the foliar fertilizers did not induce the production of the same. Both herbicides and phosphite A had the potential to elicit the production of peroxidase enzyme. In field experiments the herbicides bentazon and lactofen stood out in the control of white mold, being 60.5% and 52.3% respectively, and treatment with the fosfito A provided a control of 37.9%, being superior to the treatment with fungicide. Regarding the grain fields compounds had increase using the herbicides, but did not differed from the control by Duncan test at 5%.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*, chemical control, induction of resistance, bentazon, lactofen, potassium phosphite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Experimento 1 <i>in vitro</i> , avaliação dos agroquímicos sobre os escleródios de <i>S. sclerotiorum</i> aos 7 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.....	23
Figura 2 – Experimento 1 <i>in vitro</i> , avaliação dos agroquímicos sobre o micélio de <i>S. sclerotiorum</i> aos 21 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.....	25
Figura 3 – Experimento 2 <i>in vitro</i> , avaliação dos agroquímicos sobre o micélio de <i>S. sclerotiorum</i> aos 21 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.....	25
Figura 4 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Apolo. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.27	
Figura 5 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Energia. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.28	
Figura 6 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Ativa. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.29	
Figura 7 – Atividade de SOD em plantas de soja eliciadas com diferentes agroquímicos. UTFPR, Pato Branco, PR, 2013.	31
Figura 8 – Atividade de POX em plantas de soja eliciadas com diferentes agroquímicos. UTFPR, Pato Branco, PR, 2013.	32

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Efeito dos agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B sobre a germinação e formação de novos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* aos 7 dias de incubação do fungo em meio de cultivo BSA. Pato Branco, PR, 2013. 23
- Tabela 2 – Efeito dos agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A, fosfito B no diâmetro de colônia de *S. sclerotiorum* aos 7 e 21 dias de incubação do fungo, em meio de cultura BSA (Avaliações dos experimentos 1 e 2). Pato Branco, PR, 2013.. 26
- Tabela 3 – Valores de incidência, de percentual de controle da doença para os diferentes agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B, testados no controle do mofo branco no estádio R4 da cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013..... 34
- Tabela 4 – Valores de incidência, severidade e percentual de controle de mofo branco, após a aplicação de fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B, no estádio R5.1 da cultura da soja, cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013..... 35
- Tabela 5 – Valores de incidência, severidade e percentual de controle de mofo branco, após a aplicação de fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B, no estádio R5.5 da cultura da soja, cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013.... 35
- Tabela 6 – Médias de número de plantas mortas para os diferentes agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B, testados no controle do mofo branco no estádio R7 da cultivar BMX Ativa, rendimento de grãos, número de vagens planta⁻¹, número de grãos planta⁻¹, massa de mil grãos. Coronel Domingos Soares, PR, 2013... 37
- Tabela 7 – Correlação de Pearson para as variáveis número de plantas mortas, rendimento de grãos (RG), número de vagens planta⁻¹, número de grãos planta⁻¹, massa de mil grãos. Pato Branco, PR, 2013.39

LISTA DE SIGLAS

PR	Unidade da Federação – Paraná
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Conab	Companhia Nacional de Abastecimento

LISTA DE ABREVIATURAS

POX	Peroxidases
SOD	Superóxido Dismutase
DAE	Dias após a emergência

LISTA DE SÍMBOLOS

Abs	Absorbância
CV	Coefficiente de Variação
g	Gramma
ha	Hectare
m	Metro
mL	Mililitro
mg	Miligramma
mm	Milimetro
nm	Nanômetro
O	Oeste
S	Sul
UE	Unidade experimental
%	Percentual
L	Litro
cm	Centímetro
<i>g</i>	Giro
μL	Microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DA SOJA	7
2.2 MOFO BRANCO DA SOJA [<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (LIB.) De Bary.]	8
2.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS PLANTAS	11
2.4 HERBICIDAS E FOSFITOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>S. sclerotiorum</i>	16
3.1.1 Teste dos Produtos Químicos (bentazon, lactofen, fluazinam, fosfito A e fosfito B) Sobre os Escleródios de <i>S. sclerotiorum</i>	16
3.1.2 Teste dos Produtos Químicos (bentazon, lactofen, fluazinam, fosfito A e fosfito B) Sobre o Crescimento Micelial do Fungo <i>S. sclerotiorum</i>	17
3.2 AVALIAÇÃO DA SÍNTESE DE SUBSTÂNCIAS INDUZIDAS PELOS AGROQUÍMICOS	18
3.2.1 Avaliação em Laboratório da Indução de Fitoalexinas.....	18
3.2.2 Análise de Proteínas, Superóxido Dismutases e Peroxidases.....	19
3.3 UTILIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) NO CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 TESTE DOS PRODUTOS QUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) SOBRE OS ESCLERÓDIOS DE <i>S. sclerotiorum</i>	22
4.2 TESTE DOS PRODUTOS QUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO <i>S. sclerotiorum</i>	23
4.3 AVALIAÇÃO DA SÍNTESE DE SUBSTÂNCIAS INDUZIDAS PELOS AGROQUÍMICOS	26
4.3.1 Avaliação em laboratório da indução de fitoalexinas	26
4.3.2 Análise de Superóxido Dismutases e Peroxidases.....	30
4.4 UTILIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) NO CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	34
5 CONCLUSÕES.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
REFERÊNCIAS	42
APÊNDICES	54
ANEXOS	58

1 INTRODUÇÃO

A soja representa uma das principais *commodities* produzidas no mundo, sendo utilizada tanto na alimentação humana e animal como na produção de biodiesel.

Apesar da cultura não ser nativa do Brasil, foi possível, através do melhoramento genético, adaptá-la aos diversos climas predominantes no país, obtendo altos índices de produtividade.

Existem diversos fatores que podem ocasionar perdas na produção, dentre eles, pragas, doenças, condições climáticas e de manejo. O mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é uma das principais doenças da soja, ocasionando danos severos em condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento, ou seja, temperaturas amenas e umidade elevada.

As práticas utilizadas no controle desta doença, incluindo a rotação de culturas e o uso de fungicidas, não têm sido totalmente eficientes. A rotação de culturas é dificultada devido à extensa gama de hospedeiros que o patógeno possui, sendo mais de 400 já registrados, e a formação de estruturas de resistência denominadas escleródios que sobrevivem por vários anos no solo. A aplicação de fungicidas possui uma eficiência relativa, mas às vezes, comprometida, principalmente devido a pluviosidade que remove produtos protetores, pela dificuldade de atingir as estruturas do patógeno alvo e de proteger a planta no momento certo. Sendo assim, é imprescindível testar outros produtos, com mecanismos de ação adicionais aos dos fungicidas que possibilitem reduzir a doença a baixos níveis de incidência e severidade, bem como manter a produtividade elevada.

Em razão da maioria das práticas utilizadas no controle do mofo branco não satisfazerem o controle e custo benefício desejados, pesquisadores trabalham na busca de outros produtos, sem que haja queda na produtividade e aumento no custo de produção. Devido a esta dificuldade de controle por meio de ação direta sobre o patógeno, estudos têm sido realizados visando obter o controle da doença por meio de indução de resistência da planta, através da aplicação de substâncias bióticas e abióticas capazes de ativar o mecanismo de defesa vegetal, sem comprometer a produção e/ou provocar maiores danos ambientais.

Dann et al. (1999) verificaram que o herbicida lactofen aplicado em soja foi capaz de reduzir a ocorrência de mofo branco. O fato de haver controle da doença por meio da utilização deste agroquímico sugere ação de indução de mecanismos de defesa na planta. Alguns adubos foliares tais como o fosfito de K, têm sido estudados no controle de doenças em diversas culturas, sendo já relatados trabalhos utilizando fosfito de K visando o controle

de diversas doenças, como murcha-de-esclerócio em feijoeiro (PACHECO, 2012), mancha de phoma em cafeeiro (NOJOSA et al., 2009), míldio e ferrugem asiática da soja (MENEGHETTI, 2009; SILVA et al., 2011), oídio e míldio da videira (GOMES et al., 2009). No entanto, tais estudos ainda são escassos, e os mecanismos de ação ainda não foram totalmente elucidados. Especificamente na soja, usos de fosfito de K para controle do mofo branco, não foram encontrados na literatura.

Desta forma, este trabalho buscou testar diferentes agroquímicos no controle do mofo branco da soja, com ênfase na capacidade de desencadear reações químicas na planta que impeçam ou dificultem o desenvolvimento do patógeno no processo de infecção, como a síntese de enzimas e outros compostos envolvidos na defesa vegetal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DA SOJA

A cultura da soja (*Glycine max*) possui expressiva magnitude econômica em abrangência mundial. No Brasil, na safra de 2012/2013, a área plantada foi estimada em 27.721,5 mil hectares, com uma produção de 81.456,7 mil toneladas, perdendo apenas para os Estados Unidos no ranking mundial na produção de soja (CONAB, 2013 e EMBRAPA, 2013a).

Existe uma grande demanda em investir em novas tecnologias que objetivam maximizar o processo produtivo da cultura da soja, já que esta possui grande relevância no cenário mundial agrícola, devido ao seu uso diversificado. As empresas esmagadoras são destino de 87,99% da soja consumida, enquanto a alimentação humana, na forma *in natura* é estimada em 5,94% (HIRAKURI e LAZZAROTTO, 2011).

O aumento significativo ocorrente na produção de soja ao longo do tempo pode ser atribuído a diversos aspectos: ao elevado teor de proteínas (em torno de 40%) de excelente qualidade, tanto para ser utilizada na alimentação animal quanto humana. Possui considerável teor de óleo (em torno de 20%), podendo também ser utilizado na produção de biocombustíveis (HIRAKURI e LAZZAROTTO, 2011).

A cultura apresenta alta liquidez e demanda, e, principalmente, nas últimas décadas, houve expressivo aumento da oferta de tecnologias de produção, possibilitando ampliar consideravelmente a área e a produtividade da oleaginosa (HIRAKURI e LAZZAROTTO, 2011).

Como a cultura não é nativa do Brasil, foram necessárias diversas pesquisas, através de programas de melhoramento genético para que fosse possível produzir soja nos diversos climas predominantes no país, obtendo índices elevados de rendimento afim de que a cultura se estabelecesse e chegasse no patamar em que está hoje.

Conforme dados da Embrapa (2013b), existe uma perspectiva de aumento na produção de soja de 8,2% para a safra 2013/2014, estimando novo recorde com 88 milhões de toneladas. Entretanto, ressaltam que o Brasil tem potencial agrícola para atingir maiores rendimentos ainda, se forem corrigidas falhas no manejo sustentável da cultura. Também mostram que cultivar soja durante anos consecutivos acaba trazendo novos problemas de pragas e doenças, como por exemplo, o mofo branco, que era uma doença restrita a regiões frias do Sul do Brasil e agora está espalhada pelo Brasil Central.

Dessa maneira, a ocorrência de doenças na cultura, acarreta, muitas vezes, um aumento significativo no custo de produção, e ao mesmo tempo, maior contaminação do meio ambiente causada pelo uso excessivo e indiscriminado de insumos agrícolas visando controlar os patógenos.

Segundo Lazzarotto e Hirakuri (2009), para que a produção de soja mantenha-se no patamar produtivo em que está e com expectativas de crescimento, é importante considerar alguns aspectos como o manejo integrado de doenças, a utilização de cultivares resistentes ao maior número possível de doenças, o tratamento de sementes com fungicidas, realização de rotação de culturas e monitoramento das lavouras, tendo maior cautela em relação à ferrugem asiática e ao mofo branco.

No caso da ferrugem asiática da soja, nos dias de hoje, já existem cultivares resistentes, denominada soja “Inox” (SIQUERI et al., 2011), entretanto, para o mofo branco, ainda não foram encontradas fontes de resistência genética, consistindo em um grave problema, principalmente em regiões de clima mais ameno.

2.2 MOFO BRANCO DA SOJA [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.]

O interesse crescente em produzir soja em grande escala no Brasil fez com que as práticas culturais voltadas ao controle das doenças não fossem seguidas em sua totalidade, favorecendo, assim, o aparecimento de algumas doenças e/ou aumento da severidade das mesmas como, por exemplo, o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Conforme Grau (1989), o fungo foi detectado, primeiramente, na Hungria em 1924 e em 1946 nos Estados Unidos, ocorrendo, posteriormente, em diversos países. No Brasil, o patógeno foi detectado em 1975, no Estado do Paraná (FERREIRA et al., 1979). A doença encontra-se disseminada em todas as regiões de cultivo de soja no Brasil.

Estima-se que o fungo esteja presente em mais de seis milhões de hectares de soja no país (aproximadamente 12% da área cultivada) (JULIATTI e JULIATTI, 2010; MEYER, 2011). Em diversos países já foram relatadas reduções no rendimento de soja em função de epidemias ocasionadas pelo fungo, resultando em perdas que chegaram a 100%, quando as condições são favoráveis ao patógeno (SAHARAN e MEHTA, 2007; SILVA et al., 2008).

O mofo branco ocorre, principalmente, em locais de altitudes acima de 800 m, com clima ameno, variando de 18 a 25 °C, e umidade relativa acima de 70% (EMBRAPA, 2005; LEITE, 2005).

O fungo *S. sclerotiorum* é um patógeno necrotrófico e polífago, tem como hospedeiros 75 famílias de plantas, 278 gêneros, 408 espécies e 42 subespécies (BOLAND e HALL, 1994; BOLTON et al., 2006). Este fungo produz estruturas de resistência denominadas de escleródios, que a princípio apresentam coloração branca, e após ocorrer o emaranhado de hifas, tornam-se negras e duras, podendo sobreviver no solo por um período de 6 a 8 anos (BIANCHINI et al., 2005). Em função disso, é possível ressaltar que a rotação de culturas não permite promover o total controle do mofo branco, apesar de ser uma prática importante, juntamente com as demais táticas de controle, visando o controle desta doença.

Em condições de alta umidade e temperaturas variando de 10 a 21 °C, os escleródios presentes no solo germinam carpogênicamente e desenvolvem estruturas de reprodução sexuada chamadas apotécios. Estes produzem ascósporos que são liberados ao ar, sendo responsáveis pela infecção das plantas.

Conforme Napoleão et al. (2005), a germinação miceliogênica de escleródios é considerada de potencial endêmico reduzido. Já, a germinação carpogênica, representa a principal fonte de inóculo do patógeno (Sun e Yang, 2000), sendo que cada apotécio tem potencial para produzir de 2 a 30 milhões de ascósporos por até 10 dias (CLARKSON et al., 2003). A germinação carpogênica é estimulada por períodos contínuos de umidade no solo.

Existem diversos agentes disseminadores de ascósporos, tais como o vento e abelhas, mas, a principal forma de disseminação deste patógeno ocorre pela semente (YANG et al., 1998) podendo, a semente estar associado a micélio dormente (HENNING, 2004) ou escleródios presentes no lote de sementes. Os escleródios podem ser disseminados pela água de irrigação, transporte de solo contaminado, e por meio de fezes de animais, que se alimentam de plantas doentes (TU, 1998).

O patógeno infecta o hospedeiro, principalmente, por meio da germinação de ascósporos, entretanto, a mesma normalmente não ocorre diretamente nos tecidos saudáveis da planta, pois antes de formar as estruturas infectivas e de penetração para poder iniciar a infecção em tecidos saudáveis, os ascósporos precisam de um período de crescimento saprofítico utilizando como fontes de nutrientes tecidos necróticos, sobretudo pétalas de flores senescentes (HEGEDUS e RIMMER, 2005).

Na maioria das vezes, a penetração ocorre diretamente pela cutícula e não por estômatos (HEGEDUS e RIMMER, 2005). O patógeno produz diversas enzimas

degradadoras da parede celular do hospedeiro e o ácido oxálico, que permite atacar uma vasta gama de hospedeiros (RIOU et al., 1991; HEGEDUS e RIMMER, 2005), sendo este um fator essencial de patogenicidade (GODOY et al., 1990). Este composto acidifica o tecido da planta ao redor do sítio de infecção ocasionando danos no tecido (DUTTON e EVANS, 1996). A geminação miceliogênica pode também resultar em colonização de matéria orgânica com infecção subsequente de plantas vivas adjacentes. (HEGEDUS e RIMMER, 2005).

Apesar do patógeno infectar todas as partes da planta, os sintomas iniciais são visualizados nas inflorescências, nas axilas das folhas e nos ramos laterais, onde, normalmente, iniciam-se as infecções (ALMEIDA et al., 2005), uma vez que a flor representa a fonte primária de energia e alimento para o fungo iniciar novas infecções. Os sintomas são caracterizados por manchas de encharcamento que evoluem para uma coloração castanho-clara, com formação de micélio denso e branco. Este micélio, posteriormente, se transformará em escleródios, sendo estes de tamanhos e formas variados (SIQUERI et al., 2011).

Tendo as condições favoráveis ao seu desenvolvimento, o patógeno é capaz de colonizar os tecidos saudáveis do hospedeiro entre 16 e 24 horas após a infecção do tecido floral senescente. O progresso da doença pode ser retardado e até mesmo paralisado em períodos de estiagem, entretanto, quando as condições de alta umidade retornam, o patógeno continua seu desenvolvimento de onde parou. Mesmo quando as condições ambientais estão desfavoráveis ao fungo, este pode manter-se viável em forma de micélio em flores infectadas por até 144 horas até que as condições climáticas voltem a ser ideais para seu desenvolvimento (HARIKRISHNAN e DEL RÍO, 2006).

A cultura da soja torna-se mais vulnerável no estágio fenológico correspondente à floração plena (R2) ao início da formação dos grãos (R5) (DANIELSON et al., 2004; ALMEIDA et al., 2005). Neste momento, as condições tornam-se bastante favoráveis ao desenvolvimento da doença, já que o dossel da planta cobre as entrelinhas formando um microclima adequado com elevada umidade (cerca de 70%) e temperatura ideal (aproximadamente 20 °C) para que os escleródios, presentes no solo, germinem e produzam os apotécios (LEITE, 2005; CUNHA, 2010). Sendo assim, é recomendado que seja efetuada uma aplicação preventiva de fungicida na abertura das primeiras flores (estádio R1), quando se inicia o surgimento dos apotécios (FURLAN, 2009).

Muitas vezes, o uso de fungicidas torna-se pouco eficiente, pois quando o dossel das plantas cobre as entrelinhas dificultará que o agroquímico possa se atingir o patógeno, e principalmente se distribuir nas plantas de maneira uniforme visando proteger as partes mais suscetíveis das plantas, como as axilas e haste principal. Além disso, o custo de

aplicação destes produtos torna-se bastante dispendioso, reduzindo o lucro de produção em demasia.

A principal medida utilizada visando o controle de doenças é o uso de variedades resistentes, entretanto, ainda não houve relatos sobre descoberta de genótipos resistentes ao mofo branco da soja, já que a resistência genética em relação ao hospedeiro é complexa e de baixa herdabilidade, estando restrita a genótipos que apresentam apenas resistência parcial (KIM e DIERS, 2000; ARAHANA et al., 2001; GUO et al., 2008; VUONG et al., 2008). Esta resistência pode estar relacionada a características da planta que atuam como mecanismos de escape que propiciam condições menos favoráveis ao desenvolvimento do patógeno. Estes mecanismos fazem referência às características de acamamento, arquitetura do dossel, altura da planta, período de florescimento e maturação (KIM e DIERS, 2000).

As diversas práticas que vêm sendo utilizadas com o intuito de controlar o mofo branco da soja não têm sido totalmente eficientes. Neste sentido, é válido ressaltar que as plantas possuem mecanismos de defesa, os quais podem ser ativados através da aplicação de substâncias bióticas e abióticas, tais como, adubos foliares, como no caso dos fosfitos e, ainda, os herbicidas.

2.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS PLANTAS

As plantas desenvolveram vários mecanismos de defesa para que fosse possível sobreviver às situações adversas e, assim, perpetuar a espécie, os quais podem ser classificados como pré-formados (constitutivos) ou induzidos (HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000).

Os mecanismos constitutivos (pré-existent) estão presentes antes da infecção, representados por defesas estruturais como ceras, cutículas, parede celular espessa, tricomas e fibras vasculares, além de substâncias químicas pré-formadas, como fenóis, alcalóides, fototoxinas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Outros mecanismos de defesa das plantas podem ser induzidos quando resultantes da interação hospedeiro-parasita. Estes mecanismos, por sua vez, são responsáveis pela formação de halos, lignificação, formação de papilas, tiloses, camada de cortiça, além de síntese de compostos fenólicos e de espécies reativas de oxigênio (PASCHOLATI e LEITE, 1995; SILVA et al, 2008; TAIZ e ZEIGER, 2009) que resultam nas reações de

hipersensibilidade (HR), caracterizada pela morte rápida e localizada de células junto ao sítio de infecção, a produção de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs), como glucanases e quitinases, alterações estruturais na parede celular vegetal, com a deposição de lignina e proteínas ricas em hidroxiprolina, o desenvolvimento de resistência sistêmica adquirida (RSA), a qual confere resistência às infecções subsequentes; a síntese de metabólitos secundários antimicrobianos, denominados fitoalexinas (DIXON et al., 1994; HARBORNE, 1999).

O termo eliciador é utilizado para se referir, a qualquer substância capaz de induzir a produção de fitoalexinas ou sintetizar outras enzimas, que desencadearão respostas de defesa em vegetais (EBEL e COSIO, 1994; NÜRNBERGER, 1999).

Quando os eliciadores são derivados de tecidos do patógeno ou hospedeiro ou mesmo de organismos não patogênicos, como os β -glucanos de leveduras, são considerados bióticos. Os abióticos incluem o uso de compostos químicos, tais como fungicidas, sais de metais pesados, ou tratamentos que causam algum estresse nos tecidos da planta, como por exemplo, congelamento e exposição à luz ultravioleta (SMITH, 1996).

Os eliciadores são capazes de ativar diferentes respostas de defesa, as quais podem ser expressas de duas maneiras: localmente ou sistemicamente, com a primeira ocorrendo apenas no ponto onde foi aplicado o tratamento indutor, e o segundo em um local distante.

A resistência induzida (IR) pode ser expressa de duas formas: a resistência sistêmica adquirida (RSA) e a resistência sistêmica induzida (RSI) (WALTERS, 2009). Conforme Camargo (2011), a RSA, além de apresentar caráter sistêmico, tem efeito duradouro, podendo persistir até o final da vida da planta. De acordo com Sticher et al. (1997), a RSA envolve a expressão de genes como das PRPs, entre elas, β -1,3-glucanases e quitinases, onde a indução é dependente do ácido salicílico (AS). Entretanto, a RSI não envolve a síntese de PRPs e está associada ao ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (PIETERSE et al., 1998; PASCHOLATI et al., 2010).

A produção de fitoalexinas é considerada um dos principais mecanismos de defesa das plantas, estando diretamente associada à prevenção da infecção por muitos patógenos, como caracterizado para pisatina em ervilha, gliceolina em soja, faseolina em feijão e gossipol em algodão (LYDON e DUKE, 1989; TAIZ e ZEIGER, 2009).

As gliceolinas são fitoalexinas do grupo das isoflavonas (pterocarpanos) que podem ser induzidas em altas concentrações como uma mistura de três isômeros - gliceolinas

I, II e III, através da infecção por fungos, fermentos, luz UV, entre outros fatores bióticos ou abióticos (DARVILL e ALBERSHEIM, 1994; BOUÉ et al., 2000).

O modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na germinação e na alongação do tubo germinativo e na redução ou na inibição do crescimento micelial (BRAGA, 2008).

A indução, tanto de fitoalexinas, como de outros mecanismos de defesa na planta são disparados por fatores denominados de eliciadores, que inicialmente ativam a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), como por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH), as quais causam danos irreparáveis às membranas celulares. Para minimizar estes danos, a célula ativa mecanismos de detoxificação, com a síntese de enzimas, como a superóxido dismutase (SOD, E.C.1.15.1.1), que age como um catalisador da dismutação do O_2^- a O_2 e H_2O_2 (ALSCHER et al., 2002; MARCHESE et al., 2008). A SOD apresenta diversas isoformas que variam de acordo com seus cofatores, como o Mn-SOD, Fe-SOD e Cu/Zn-SOD, localizadas em diferentes compartimentos celulares (SCANDALIOS, 2005).

As enzimas do grupo das peroxidases (POX, E.C.1.11.1.7) aumentam sua atividade em função do estresse sofrido pela planta, e desempenha papel importante na proteção da célula vegetal (SIEGEL, 1993). Segundo Gaspar et al. (1982) e Kao (2003), estas enzimas estão envolvidas em diversas reações, como ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa contra patógenos e regulação da alongação de células. De acordo com Lima et al. (1997) e Sbalcheiro et al. (2009), as peroxidases catalisam a transferência do hidrogênio de um doador para H_2O_2 constituindo em uma proteção antioxidativa.

Diversos trabalhos já verificaram a relação positiva entre a atividade das peroxidases e a resistência de plantas a doenças, havendo, dessa maneira, correlação entre o aumento da atividade da peroxidase durante o desenvolvimento da doença com a expressão de resistência em diferentes interações patógeno-hospedeiro (HAMMERSCHMIDT e KUC, 1982; HAMMERSCHMIDT et al., 1982; COFFEY e CASSIDY, 1984).

2.4 HERBICIDAS E FOSFITOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

Alguns agroquímicos recomendados para as culturas, tais como os herbicidas, induzem diferentes efeitos fisiológicos secundários (LYDON e DUKE, 1989; DEVINE et al., 1993), podendo desencadear o acúmulo de fitoalexinas (TAMOGAMI et al., 1995).

O herbicida lactofen aplicado em soja foi capaz de reduzir a ocorrência de mofo branco em alta pressão de inóculo e aumentar a síntese de gliceolinas (NELSON e RENNER, 1999; DANN et al., 1999). Entretanto, em outro estudo não foi observada redução da doença ao utilizar o herbicida bentazon (DANN et al. 1999). Já, Nelson et al. (2002) verificaram redução de lesões em soja, ocasionadas pelo fungo *S. sclerotiorum*, quando tratadas com lactofen e sulfetrazone. Além disso, observaram um incremento na produção de fitoalexinas, com os mesmo tratamentos. Entretanto, os autores sugerem que além de fitoalexinas outros mecanismos de defesa podem estar sendo ativados. O fato de haver controle da doença por meio da utilização destes agroquímicos sugere ação de indução de mecanismos de defesa na planta.

Além de herbicidas, há algum tempo estão sendo realizados estudos utilizando adubos foliares como os fosfitos, visando o controle de doenças, principalmente em frutíferas (MOREIRA et al., 2002; SÔNEGO et al., 2003). Nestes estudos mostrou-se eficiência no controle de podridão parda em pós-colheita, em frutíferas de caroço e em míldio da videira, tanto em folha quanto no cacho. Buffara et al. (2013) também ao testarem a atividade de fosfito de potássio sobre a infecção de *Phakopsora euvtis* em folhas de videira, verificaram redução da doença em até aproximadamente 50% quando comparado ao tratamento com tebuconazol.

Os fosfitos são compostos originados da neutralização do ácido fosforoso (H_3PO_3) por uma base (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio ou hidróxido de amônio). Por não serem fitotóxicos e possuírem elevada atividade fungicida (COHEN e COFFEY, 1986) e possível ação de ativação de mecanismos de defesa da planta, como o estímulo à produção de fitoalexinas (GUEST e GRANT, 1991; JACKSON et al., 2000), pode ser uma alternativa ao tratamento com fungicidas convencionais.

Existem, ainda, fosfitos comerciais, como o Reforce, um adubo foliar que contém 25,0% K_2O + 35,0% P_2O_5 (p/v). A ação deste produto está atribuída à capacidade de induzir a produção de substâncias como fitoalexinas e diversas proteínas, entre elas enzimas, conferindo à planta maior resistência às adversidades (AGRICHEM, 2013), porém, não há trabalhos específicos que comprovem sua eficácia em soja, contra o mofo branco.

Rebollar-Alviter et al. (2007) testando uma formulação de fosfito de potássio visando controlar a podridão no morangueiro causado por *Phytophthora cactorum* (Lebert e

Cohn) Schröt, constataram que quando aplicados em até 7 dias antes da inoculação, os sintomas de podridão reduziam significativamente, além do mais o fosfito utilizado teve ação curativa quando aplicado 36 horas após a inoculação do patógeno.

Trabalhos relacionados à indução de resistência utilizando herbicidas e fosfitos ainda são escassos, principalmente em relação à cultura da soja. Dessa forma, é importante buscar novos resultados neste sentido, já que a indução de resistência é um mecanismo importante visando conter o desenvolvimento de doenças de difícil controle, como é o caso do mofo branco.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *S. sclerotiorum*

Os escleródios de *S. sclerotiorum* utilizados nos ensaios *in vitro* foram coletados em uma lavoura de soja no município Coronel Domingos Soares PR. Conforme classificação do IAPAR (2013), o município apresenta clima temperado, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18 °C, e temperatura média no mês mais quente abaixo de 22 °C, sem estação seca definida.

Os escleródios do fungo foram desinfestados com etanol a 70%, por 2 minutos, e enxaguados com água destilada esterilizada, e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BSA (batata, sacarose e ágar). As placas foram armazenadas a 24 °C, em 12 horas de fotoperíodo, por sete dias.

Posteriormente, fez-se a repicagem do fungo para obter a quantidade necessária de inóculo para a realização dos ensaios *in vitro* utilizando o patógeno. Assim, o fungo permaneceu incubado nas mesmas condições citadas anteriormente, por sete dias, para então, testar a ação dos agroquímicos sobre o crescimento micelial, e sobre os escleródios de *S. sclerotiorum*.

Para efetuar a repetição de ambos os experimentos, foram coletados novos escleródios, advindos da mesma área, seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

3.1.1 Teste dos Produtos Químicos (bentazon, lactofen, fluazinam, fosfito A e fosfito B) Sobre os Escleródios de *S. sclerotiorum*

Para facilitar a discussão, não serão feitas referências a nomes comerciais dos agroquímicos utilizados nestes ensaios, e sim, serão denominados, conforme seu ingrediente ativo (i.a.).

A solução dos produtos químicos foi efetuada, utilizando as doses recomendadas pelos fabricantes, em 150 L ha⁻¹ de calda. Desta forma para lactofen (240 g/L i.a.) foi utilizada a dose 0,6 L ha⁻¹, bentazon (480 g/L i.a.) 1,5 L ha⁻¹, fluazinam (500 g/L i.a.) 1 L ha⁻¹, e dois adubos foliares denominados aqui como fosfito A (30 p/p% de P₂O₅ e 20 p/p% de K₂O) utilizando a dose de 3 L ha⁻¹ e fosfito B (26 p/p% de P₂O₅ e 19 p/p% de K₂O) 2 L ha⁻¹. Para esta etapa do experimento foram preparados 50 mL de solução para cada agroquímico.

Posteriormente, vinte e cinco escleródios, com sete dias de idade, foram imersos em cada uma das soluções dos produtos, incluindo a água (testemunha), por cinco segundos. Imediatamente à imersão, cinco escleródios de cada tratamento foram colocados em cada placa de Petri, contendo o meio de cultura BSA. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, contendo cinco repetições por tratamento.

Em seguida as placas foram acondicionadas em sala de crescimento a uma temperatura de 24 °C, com 12 horas de fotoperíodo. A avaliação da germinação dos escleródios e formação de escleródios, foi realizada aos sete dias após incubação. O experimento foi repetido por duas vezes.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

3.1.2 Teste dos Produtos Químicos (bentazon, lactofen, fluazinam, fosfito A e fosfito B) Sobre o Crescimento Micelial do Fungo *S. sclerotiorum*

Para a realização deste ensaio foi utilizado o meio de cultura BSA e os mesmos produtos químicos e doses citadas no item 3.1.1. Os produtos químicos foram adicionados diretamente em meio de cultura, após autoclavagem, a uma temperatura de aproximadamente 45 °C. Então, foram vertidos 25 mL de meio de cultura para placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As doses utilizadas em campo foram convertidas para ppm, sendo utilizados 120, 24, 84 ppm de bentazon, lactofen e fluazinam, respectivamente. Para fosfito A foram 150 ppm de P_2O_5 e 100 ppm de K_2O , e para o fosfito B foram 87 ppm de P_2O_5 e 63 ppm de K_2O .

Posteriormente, foi repicado, em cada placa de Petri, um disco de 0,5 cm de diâmetro de uma colônia de *S. sclerotiorum*, com sete dias de idade, previamente crescido em meio de cultivo BSA. As placas de Petri foram incubadas em sala de crescimento à 24 °C, com 12 horas de fotoperíodo.

As avaliações do crescimento micelial foram realizadas aos 7 e 21 dias após implantação do experimento, consistindo na medição do diâmetro de colônia, utilizando régua graduada. O experimento foi realizado duas vezes em delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições por tratamento.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

3.2 AVALIAÇÃO DA SÍNTESE DE SUBSTÂNCIAS INDUZIDAS PELOS AGROQUÍMICOS

3.2.1 Avaliação em Laboratório da Síntese de Fitoalexinas

Para a realização deste ensaio foram utilizadas as cultivares de soja: BMX Apolo, BMX Ativa e BMX Energia. Para isto, sementes de soja foram semeadas em copos plásticos (100 mL) contendo substrato para hortaliças e mantidas em casa de vegetação por 15 dias (Apêndice A).

Após este período, coletaram-se os cotilédones das plântulas de soja selecionando-se os mais uniformes e sem danos aparentes. Logo após a coleta estes foram colocados em recipiente contendo água de torneira e, posteriormente, lavados em água destilada esterilizada e desinfestados com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,25% de cloro ativo, por 10 minutos.

Em seguida, os cotilédones foram lavados por mais uma vez em água destilada esterilizada, e secos com papel toalha. Após, cada cotilédone foi raspado com uma lâmina esterilizada, em secção aproximada de 1 mm de espessura e 10 mm de diâmetro utilizando furador (Apêndice A).

Cinco cotilédones foram colocados em placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Em seguida, sobre cada cotilédone foi depositado uma alíquota de 50 μ L de cada tratamento (lactofen, bentazon, fluazinam, fosfito A e fosfito B), nas mesmas concentrações recomendadas pelos fabricantes, citadas no item 3.1.1 (Apêndice A). Também foi utilizado um controle negativo, ou seja, o ferimento contendo água destilada estéril.

E no controle positivo utilizou-se uma alíquota de extrato de leveduras (Saf-Instant®), sendo 1 g diluído em 100 mL de água destilada. Após autoclavagem, a 120 °C, por 15 minutos e 1 atm, a solução foi deixada esfriar e centrifugada, utilizando-se o sobrenadante para analisar o conteúdo de carboidratos pelo método do fenol sulfúrico (DUBOIS, 1956), com glucose como padrão. Para o ensaio aplicaram-se 10,19 μ g de equivalentes de glucose por cotilédone.

Após a aplicação dos tratamentos, as placas de Petri foram mantidas em câmara de crescimento, a 26 °C, por 20 h, no escuro. Após este período, as placas foram retiradas da câmara de crescimento, e os cotilédones que conservaram as gotas foram

transferidos para erlenmeyers, e para cada qual foi adicionado 1 mL de água destilada esterilizada.

Em seguida, os erlenmeyers, contendo os cotilédones de cada tratamento, foram agitados por uma hora, posteriormente efetuando-se a filtração em papel filtro qualitativo, sendo o filtrado analisado para a produção de gliceolina em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) em comprimento de onda de 285 nm de acordo com Ayers et al. (1976), Ziegler e Pontzen (1982).

Foram considerados eliciadores de síntese de fitoalexina os tratamentos que apresentaram absorvâncias acima da testemunha negativa (água). O experimento foi esquematizado em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. O ensaio foi repetido por três vezes, os dados foram submetidos a análise da variância, e teste de comparação de médias pelo teste Duncan a 5% de probabilidade de erro.

3.2.2 Análise de Proteínas, Superóxido Dismutases e Peroxidases

Para a montagem deste ensaio foram semeadas duas sementes da cultivar BMX Ativa em copos plásticos com capacidade de 100 mL contendo substrato, para hortaliças, autoclavado, os copos foram mantidos em casa de vegetação por vinte dias, com temperatura média de 24 °C. No estágio de desenvolvimento V3, as plântulas de soja foram pulverizadas com os tratamentos bentazon, lactofen, fluazinam, fosfito A, fosfito B, testemunha (apenas água) utilizando as mesmas doses do experimento em campo, cada copo representou uma repetição.

Foram coletadas as partes aéreas das plântulas decorridas 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação dos tratamentos, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido (-196 °C), sendo em seguida, armazenadas em ultrafreezer a - 45 °C para posterior realização das análises bioquímicas.

Para obtenção do extrato protéico maceraram-se 0,350 g de tecido de cada amostra em tampão fosfato 0,1 M, pH 6,7, contendo EDTA e PVPP. O extrato foi, então, centrifugado a 12.000 g, a 4 °C, por 15 minutos e o sobrenadante de cada amostra foi utilizado para a realização dos ensaios enzimáticos e análises de proteínas utilizando método de Bradford (1976), tendo soroalbumina bovina como padrão (leituras em espectrofotômetro em 595 nm).

As peroxidases foram analisadas pela metodologia proposta Lusso e Pascholatti (1999), que utiliza o aumento da absorvância (470 nm) para determinar a atividade

enzimática. As leituras foram iniciadas logo após a adição de 30 μL do extrato enzimático na cubeta. A atividade da POX foi determinada pela conversão de guaiacol a tetraguaiacol, neste intervalo. Os resultados foram expressos em variação de unidades de absorvância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteínas (atividade específica).

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada pelo método de Beauchamp e Fridovich (1971), Giannopolotis e Ries (1977); Del Longo et al. (1993). Para esta análise foram utilizados 50 μL do extrato enzimático. O ambiente foi mantido a 25 °C sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 w. A reação foi iniciada ao se ligar a luz e após 10 minutos, interrompida pelo desligamento da mesma. As leituras do composto azul (formazana) formado pela fotorredução do NBT foram realizadas em espectrofotômetro, a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% a fotorredução do NBT, sendo expressa em unidade de SOD g de proteína⁻¹.

O experimento foi esquematizado em um delineamento inteiramente casualizado, sendo um fatorial 4 x 6 (tempos de coleta x produtos) com 5 repetições. Foi efetuada análise de variância, seguido por análise de regressão.

3.3 UTILIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) NO CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO

O trabalho foi conduzido na fazenda Guarita no município de Coronel Domingos Soares PR, latitude: 26°18'00"S e longitude 51° 59'21"O, a 1110 m acima do nível do mar.

O clima local é do tipo Cfb (classificação de Köppen), temperado, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18 °C (mesotérmico), com verões frescos e temperatura média, no mês mais quente abaixo de 22 °C, sem estação seca definida (IAPAR, 2013).

A cultivar semeada na área do experimento foi a BMX Ativa. A semeadura foi efetuada no dia 9 novembro de 2012, em sistema de plantio direto, com espaçamento entre linhas de 0,5 m e 10,5 sementes por metro linear. Todos os tratos culturais efetuados durante a safra estão descritos no Apêndice B.

As unidades experimentais (UE) foram compostas por 5 metros de largura contendo 10 linhas de semeadura, por 5 metros de comprimento, totalizando 25 m².

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições e seis tratamentos. Os tratamentos testados foram: testemunha (sem aplicação de produto), fosfito A (30 p/p% de P_2O_5 e 20 p/p% de K_2O) e fosfito B (26 p/p% de P_2O_5 e 19 p/p% de K_2O), aplicados nos estádios V4 e R1, na dose de 3 e 2 $L ha^{-1}$, respectivamente, lactofen (240 g/L i.a.), bentazon (480 g/L i.a.), aplicados no estádio V4, nas doses de 0,6 e 1,5 $L ha^{-1}$ e fluazinam (500 g/L i.a.) aplicado quando as plantas atingiram o estádio R1 na dose de 1 $L ha^{-1}$. Todas as pulverizações foram efetuadas pro meio de um pulverizador pressurizador por CO_2 com pressão constante e vazão de 150 $L ha^{-1}$.

Considerando como área útil as 8 linhas centrais da UE, com um comprimento de 2,5 m, totalizando uma área de 10 m^2 , as avaliações de incidência e severidade foram realizadas nos estádios R4, R5.1, R5.5 e do número de plantas mortas em R7, para avaliação de incidência, cada planta que apresentou o sintoma visível de micélio branco do fungo, foi considerada doente.

Para avaliação de severidade foi utilizada a escala de pontuação proposta por Grau et al. (1982) de acordo com a intensidade da doença, em que 0= planta sem sintoma, 1= planta com sintoma somente no ramo lateral, 2= planta com sintoma na haste principal mas sem ocorrer a morte da mesma e 3= planta morta. Para essa avaliação foram contadas 50 plantas por UE em três pontos escolhidos aleatoriamente na área útil.

Após a maturação das plantas avaliou-se o número de vagens e número de grãos, a partir da contagem em 10 plantas escolhidas aleatoriamente na UE após o arranquio, calculando-se em número médio de vagens e grãos.

Para a determinação da massa de mil grãos foi realizada a contagem de quatro repetições de 100 grãos totalizando 400 grãos por parcela, com posterior pesagem e correção do peso para 13 % de umidade.

Para avaliação de rendimento, foi realizada a colheita da área útil de 10 m^2 cada UE. Foi efetuado o arranquio das plantas e posterior debulha com um batedor de cereais motorizado, sendo cada parcela debulhada individualmente. Após a debulha, a produção de cada parcela foi pesada, e a sua massa corrigida para 13 % de umidade.

Os dados foram submetidos a análise da variância e quando significativa, foi realizada a comparação de médias pelo teste Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTE DOS PRODUTOS QUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) SOBRE OS ESCLERÓDIOS DE *S. sclerotiorum*

De todos os tratamentos testados, apenas o fungicida fluazinam, inibiu totalmente a germinação de escleródios de *S. sclerotiorum* (Figura 1). No entanto, ao avaliar o número de escleródios formados em cada tratamento, foi possível observar diferença estatística, no experimento 1 (Tabela 1), entre os herbicidas e os demais tratamentos, sendo que o tratamento bentazon proporcionou maior formação de escleródios, sendo verificada menor formação de escleródios para o tratamento com lactofen. No experimento 2 (Tabela 1), apenas o tratamento com fluazinam diferiu estatisticamente dos demais.

Fernandes et al. (1994) comparando a ação *in vitro* do fungicida fluazinam sobre *S. sclerotiorum*, observaram que o produto foi capaz de inibir a germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios, quando imersos em suspensão do produto por 30 segundos, corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Assim como Costa e Costa (2004), testando a ação de fluazinam sobre *S. sclerotiorum*, verificaram que após trinta dias de incubação dos escleródios no solo, o fungicida foi eficiente na inibição da germinação miceliogênica do patógeno.

Tais resultados obtidos neste estudo comprovam que os agroquímicos testados, com exceção do fluazinam, não têm ação sobre os escleródios. Isto possivelmente indica que, em condições de campo, não é viável aplicar esses produtos visando inibir a germinação dos escleródios. Além disso, é possível que esses agroquímicos também não inibam a germinação carpogênica dos escleródios e iniciem novas infecções por meio da liberação de ascósporos em condições de campo.

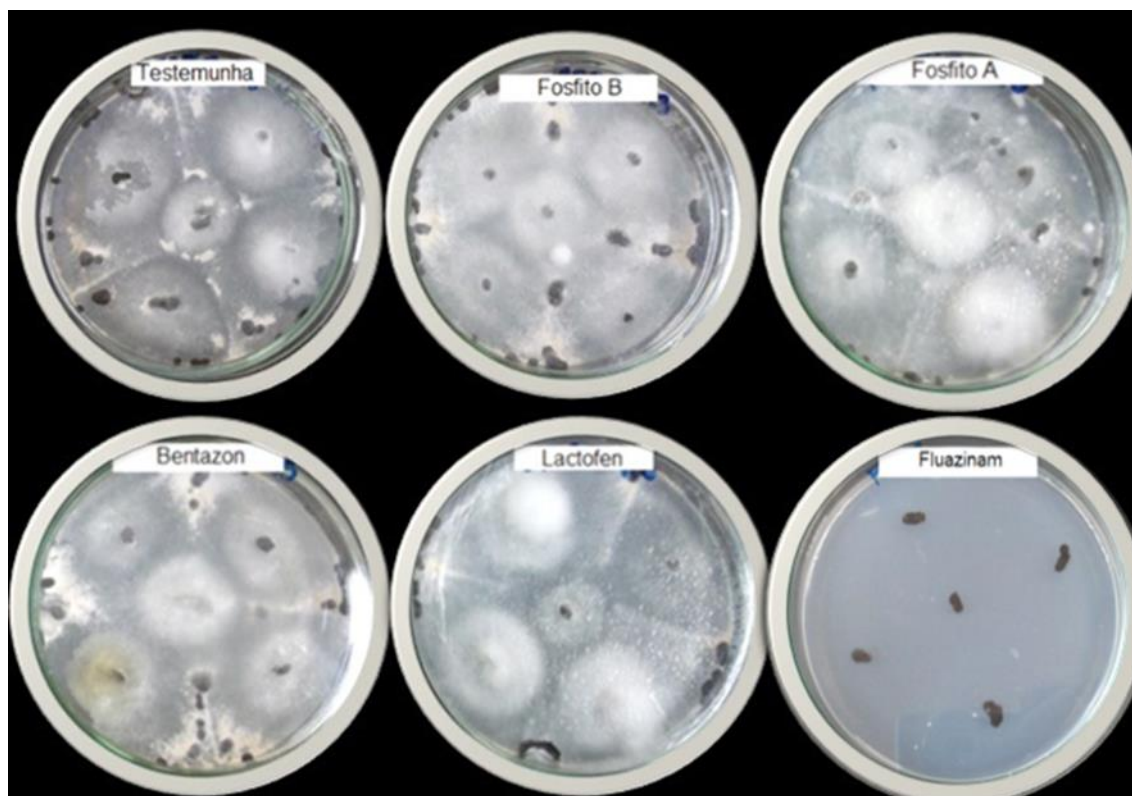


Figura 1 – Experimento 1 *in vitro*, avaliação dos agroquímicos sobre os escleródios de *S. sclerotiorum* aos 7 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.

Tabela 1 – Efeito dos agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B sobre a germinação e formação de novos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* aos 7 dias de incubação do fungo em meio de cultivo BSA. Pato Branco, PR, 2013.

Tratamentos	Experimento 1		Experimento 2	
	Número de escleródios	% de escleródios germinados	Número de escleródios	% de escleródios germinados
Testemunha	17,16 b	100	17,20 a	100
Bentazon	21,33 a	100	21,00 a	100
Fofito B	17,00 b	100	20,20 a	100
Fosfito A	16,83 b	100	15,60 a	100
Lactofen	12,33 c	100	16,40 a	100
Fluazinam	0,00 d	0	0,00 b	0
	CV 11,88%		CV 29,18%	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

4.2 TESTE DOS PRODUTOS QUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO *S. sclerotiorum*

Todos os tratamentos testados inibiram o crescimento micelial do fungo diferenciando do tratamento testemunha (Tabela 2).

No experimento 1, aos 7 dias de incubação do fungo, o tratamento contendo o fluazinam (84 ppm) e o lactofen (24 ppm) inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo.

Já, o bentazon, com 120 ppm, e os fosfitos A (150 ppm de P_2O_5 e 100 ppm K_2O) e B (87 ppm de P_2O_5 e 63 ppm K_2O) inibiram o crescimento micelial em 86%, 41% e 33%, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha (Tabela 2).

Aos 21 dias de incubação de *S. sclerotiorum* (experimento 1), apenas o fungicida fluazinam inibiu totalmente o crescimento do fungo (Tabela 2). Por outro lado, fosfitos A e B não tiveram ação direta sobre o patógeno, não diferindo estatisticamente do tratamento testemunha. Em relação ao fungicida fluazinam, Ferreira et al. (2009) e Garcia et al. (2013), assim como nos resultados obtidos neste trabalho, verificaram 100 % de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* utilizando este agroquímico.

O herbicida lactofen também diferiu significativamente do tratamento bentazon, tendo controle de 59,67% e 68,44%, respectivamente (Tabela 2). Garcia et al. (2013), testando quatro herbicidas obtiveram diferentes porcentagens de inibição de crescimento micelial sobre dois diferentes isolados de *S. sclerotiorum*, assim como neste trabalho, sendo que houve maior controle utilizando o herbicida clorimurrom-etílico com 84,1% e 79,4% para os isolados Jataí e Indianópolis, respectivamente.

No experimento 2 todos os tratamentos diferiram do tratamento testemunha, entretanto, os herbicidas tiveram menor porcentagem de controle sobre o crescimento micelial do fungo (Tabela 2). Isso pode ser explicado pelo fato desses dois experimentos terem sido realizados com isolados diferentes do fungo, e apesar de todos os escleródios serem derivados da mesma área, podem apresentar diferenças no crescimento micelial.

Em ambos os experimentos o fungicida foi o único tratamento que inibiu totalmente o desenvolvimento micelial até os 21 dias de incubação do fungo (Figuras 2 e 3). Conforme Zancan et al. (2012) o fluazinam inibiu totalmente o crescimento micelial de diferentes isolados de *S. sclerotiorum*, corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Ainda, Matheron e Porchas (2004) utilizando o fluazinam na concentração de 1,0 ppm sobre isolados de *S. sclerotiorum* e *S. minor*, verificaram que o agroquímico foi capaz de inibir 100% do crescimento micelial de ambas espécies.

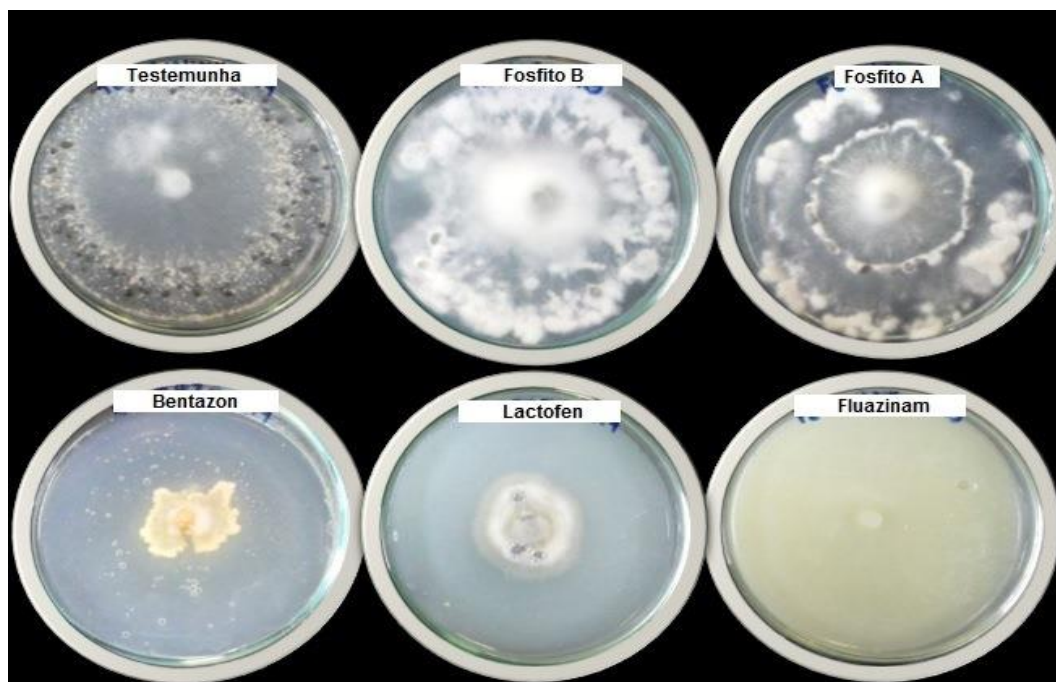


Figura 2 – Experimento 1 *in vitro*, avaliação dos agroquímicos sobre o micélio de *S. sclerotiorum* aos 21 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.

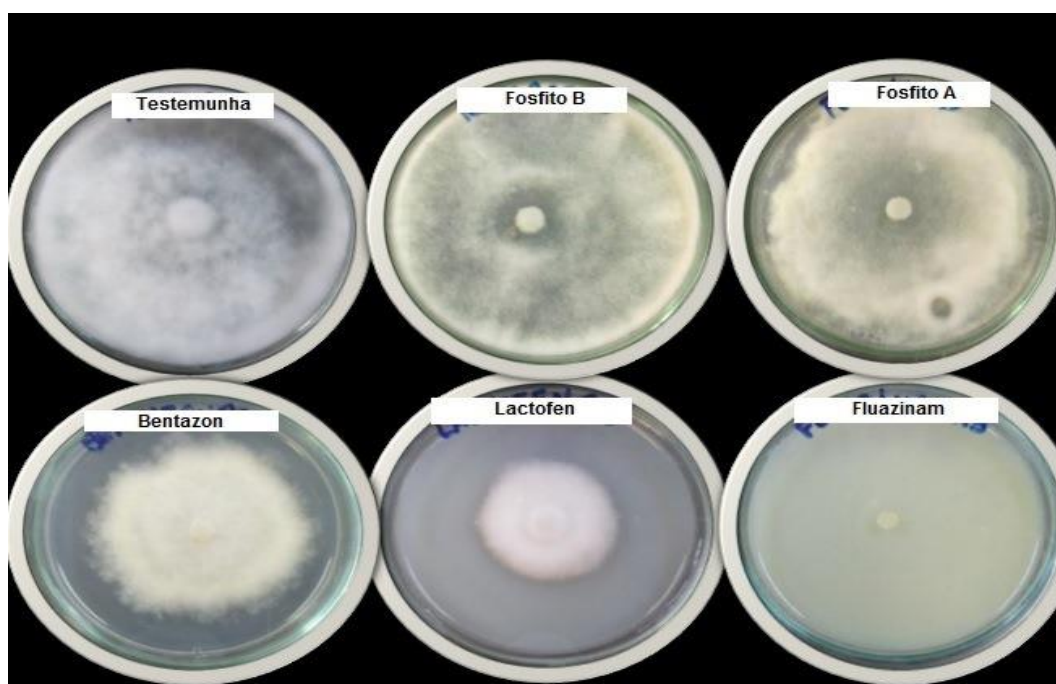


Figura 3 – Experimento 2 *in vitro*, avaliação dos agroquímicos sobre o micélio de *S. sclerotiorum* aos 21 dias de incubação do fungo. UTFPR, Pato Branco, 2013.

A inibição do crescimento micelial proporcionada pelos herbicidas e adubos foliares foi relativamente baixa na média dos dois experimentos considerando a condição de teste *in vitro*. O fungicida utilizado nos testes, mesmo inibindo 100% o crescimento micelial, normalmente, atinge controle médio de 60% da doença no campo. Desta forma podemos

inferir que a ação dos herbicidas sobre o patógeno, em campo, não deve ser significativa a ponto de influenciar o aspecto epidemiológico da doença.

Tabela 2 – Efeito dos agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A, fosfito B no diâmetro de colônia de *S. sclerotiorum* aos 7 e 21 dias de incubação do fungo, em meio de cultura BSA (Avaliações dos experimentos 1 e 2). Pato Branco, PR, 2013.

Experimento 1				
Tratamentos	7 dias	Controle (%)	21 dias	Controle (%)
Testemunha	9,00 a	-	9,00 a	-
Fosfito B	6,03 b	33,00	8,90 a	-
Fosfito A	5,24 c	41,71	9,00 a	-
Bentazon	1,25 d	86,11	2,84 c	68,44
Lactofen	0,00 e	100	3,63 b	59,67
Fluazinam	0,00 e	100	0,00 d	100
	CV 13,90%		CV 5,70%	
Experimento 2				
Tratamentos	7 dias	Controle (%)	21 dias	Controle (%)
Testemunha	9,00 a	-	9,00 a	-
Fosfito B	7,95 b	11,67	9,00 a	-
Fosfito A	7,25 c	19,45	8,90 a	-
Bentazon	5,20 d	42,22	6,62 b	26,44
Lactofen	1,11 e	87,67	4,54 c	49,55
Fluazinam	0,00 f	100	0,00 d	100
	CV 6,75%		CV 3,05%	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

4.3 AVALIAÇÃO DA SÍNTESE DE SUBSTÂNCIAS INDUZIDAS PELOS AGROQUÍMICOS

4.3.1 Avaliação em Laboratório da Indução de Fitoalexinas

Todas as cultivares de soja testadas, BMX Apolo, BMX Ativa e BMX Energia foram responsivas à indução de síntese de gliceolinas, sendo comprovada pelas elevadas leituras de absorvâncias, utilizando o controle positivo (extrato de leveduras). Vale esclarecer que *Saccharomyces cerevisiae* é um dos mais potentes indutores, contendo fragmentos de parede celular, obtidos pela autoclavagem, denominados β -glucanos, que induzem a síntese de gliceolinas em soja em concentrações nanomolares (HAHN e ALBERSHEIN, 1978), justificando seu uso como controle positivo. Os β -1,3 glucanos, juntamente com β -1,6

glucanos, são provenientes da quebra da parede celular pela ação das enzimas β -glucanases sobre fungos, plantas e bactérias. As leveduras apresentam grandes quantidades destes dois oligossacarídeos (KIM et al., 2004) e a importância destes oligos na sinalização biológica no sistema de defesa vegetal está relacionada à sua ocorrência nas interações entre planta-microrganismo (FRITIG et al., 1998). Segundo Cheong et al. (1991), a estrutura mínima requerida para que os β -glucanos ativem o sistema de defesa em soja, produzindo fitoalexinas, é uma sucessão de cinco unidades de glucosil ligados β -1,6 com duas ramificações laterais de β -1,3 glucano.

De todos os tratamentos na cultivar BMX Apolo, o tratamento bentazon mostrou elevado potencial como indutor da síntese de gliceolinas em cotilédones de soja, sendo superior ao tratamento utilizado como controle positivo (leveduras) e aos demais tratamentos (Figura 4). O herbicida lactofen e o fungicida fluazinam também foram considerados eliciadores, diferindo do tratamento testemunha (apenas água). Por outro lado, os fosfitos A e B não induziram a síntese de fitoalexinas, nesta cultivar, apresentando resultados inferiores aos obtidos no tratamento testemunha.

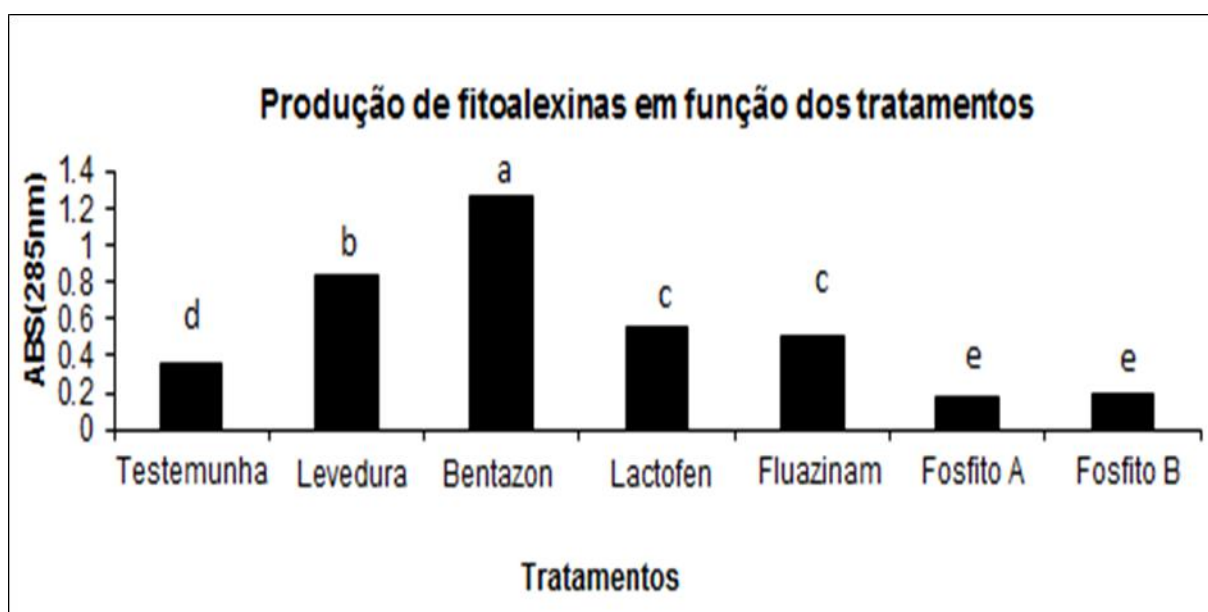


Figura 4 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Apolo. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

Quando a cultivar utilizada nos ensaios foi a BMX Energia ocorreu uma redução na indução de fitoalexinas, quando comparada com os resultados obtidos com BMX Apolo (Figura 4). No entanto, os tratamentos lactofen e bentazon ainda continuaram eficientes

na indução de gliceolinas comparáveis ao extrato de leveduras. Os fosfitos não diferiram significativamente da testemunha (água), mas o fluazinam foi superior a esta (Figura 5).

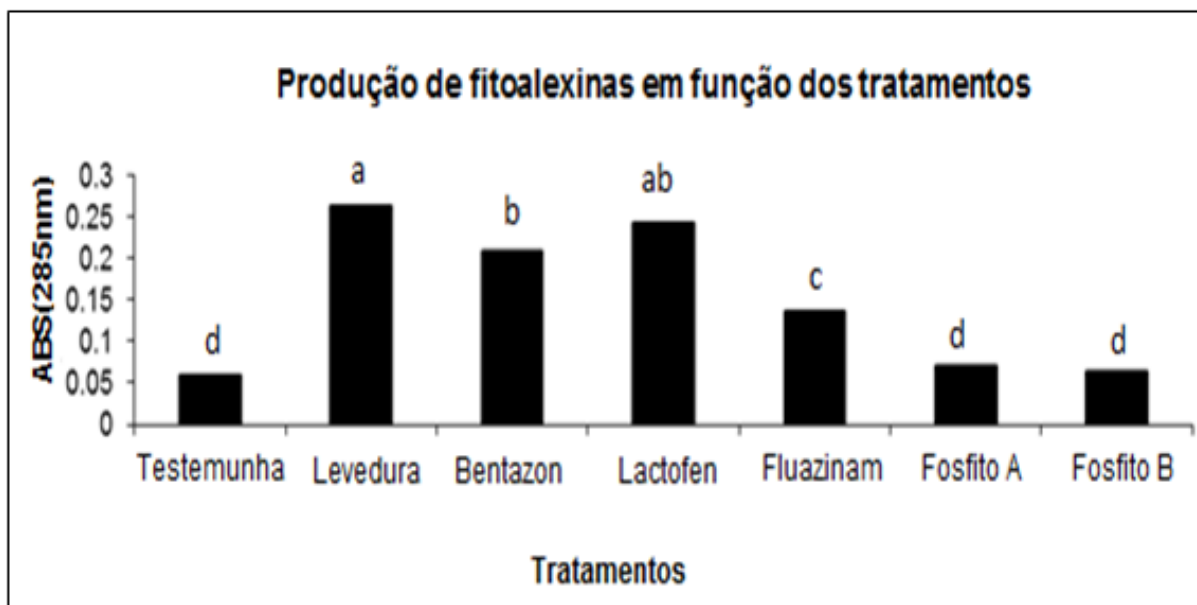


Figura 5 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Energia. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

Para a cultivar de soja BMX Ativa, os valores de absorvância para as gliceolinas foram próximos aos da BMX Apolo e, novamente, o herbicida bentazon foi mais eficiente na indução de gliceolinas, sendo estatisticamente inferior apenas ao controle positivo (levedura), como observado na Figura 6. Os fosfitos também não eliciaram a síntese de gliceolinas, diferindo significativamente da testemunha, com apenas água (Figura 6).

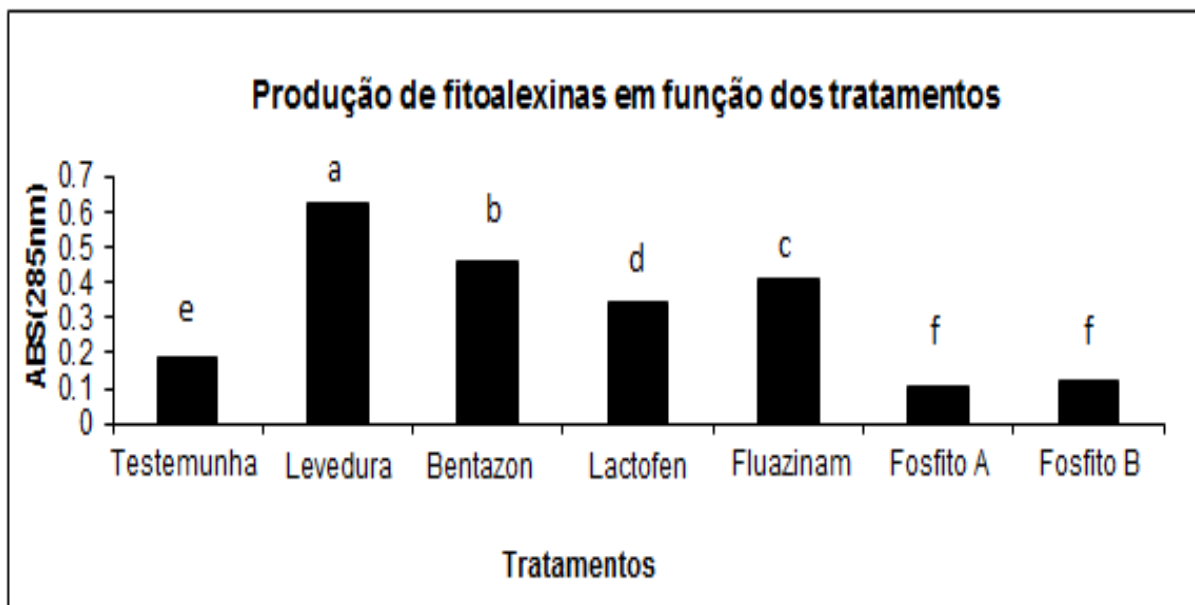


Figura 6 – Síntese de fitoalexinas utilizando a cultivar BMX Ativa. Pato Branco, 2013. Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de médias de Duncan, a 5% de probabilidade de erro.

Das cultivares testadas neste trabalho foram responsivas, a cultivar BMX Apolo mostrou-se mais responsiva à produção de fitoalexinas, por apresentar valores mais elevados de absorvância em comparação às demais.

Na média entre os agroquímicos testados, o herbicida bentazon foi o que apresentou melhor atividade eliciadora, nas cultivares BMX Apolo e BMX Ativa. Resultados de melhor controle do mofo branco a campo também foram observados para a cultivar BMX Ativa, com o uso do mesmo composto químico. Levene et al. (1998) verificaram que o uso do herbicida bentazon incrementou a produção de fitoalexinas em soja, quatro dias após a aplicação do mesmo, condizendo com os resultados obtidos neste trabalho.

No caso do herbicida lactofen, o qual também foi responsivo nas três cultivares, é possível comparar os resultados obtidos neste trabalho com os encontrados por Dann et al. (1999), que constataram que o uso do produto foi responsável pelo aumento na produção de fitoalexinas em soja e, desta forma, houve redução na incidência de mofo branco.

Outros trabalhos com o mesmo herbicida mostram sua ação sobre a indução de outras isoflavonas (LANDINI et al., 2003; GRAHAM, 2005; CHENG, et al., 2011). O uso de outros herbicidas, como o sulfentrazone, que assim como o lactofen, é um herbicida inibidor de PROTOX, foi testado por Nelson et al. (2002), sendo responsável pelo incremento na produção de fitoalexinas em soja.

É possível que o modo de ação destes herbicidas esteja relacionado à ativação de mecanismos de defesa em soja o que, porém, ressalta a importância do estudo de

herbicidas no controle do mofo branco através da ativação de diferentes mecanismos de defesa nas plantas. Além desta possibilidade, outras vias podem estar envolvidas, já que o fosfito A também mostrou resultados promissores no campo, entretanto, não pode ser considerado um eliciador da síntese de fitoalexinas em nenhuma das três cultivares testadas.

4.3.2 Análise de Superóxido Dismutases e Peroxidases

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são as primeiras respostas detectadas em muitas interações incompatíveis entre patógeno e hospedeiro, sendo que entre as diversas moléculas que fazem parte deste grupo, o O_2^- e o H_2O_2 são as principais (HAMMOND-KOSAK e JONES, 2000).

Na análise da atividade da superóxido dismutase (SOD) tanto o tratamento testemunha, quanto fosfito B e o bentazon apresentaram comportamento linear, sem alterações nas médias, durante o período avaliado, com diferenças de valores entre os tratamentos (Figura 7).

No entanto, não se pode descartar uma possível indução de síntese de SOD, tanto pelo fosfito B, quanto para o bentazon, mas é importante ressaltar que as enzimas deste grupo são produzidas constitutivamente. Além disso, apesar das diferenças nos valores de atividade de SOD, não se descarta a influência, também, de estresse mecânico, pois a retirada de material vegetal implica no rompimento de células e, conseqüentemente, na indução de mecanismos de defesa, entre eles o aumento da síntese de enzimas antioxidantes.

O herbicida lactofen apresentou valores iniciais elevados de atividade de SOD, com decréscimo a partir das 72 horas. Resultados semelhantes também foram obtidos no tratamento contendo fosfito A, com um efeito linear decrescente (Figura 7), diferentemente do tratamento com fluazinam, cujas plantas apresentaram atividade crescente até 48 horas, com redução posterior, mas se mantendo em patamar elevado, comparado aos demais tratamentos (Figura 7).

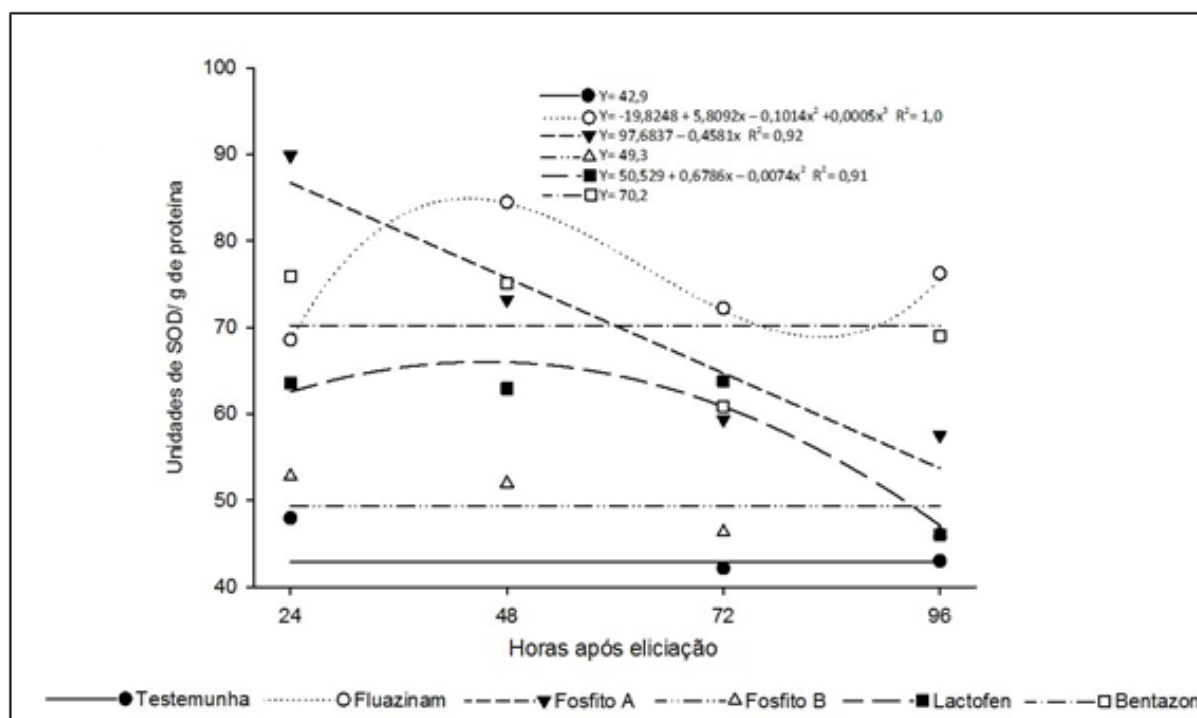


Figura 7 – Atividade de SOD em plantas de soja eliciadas com diferentes agroquímicos. UTFPR, Pato Branco, PR, 2013.

Os resultados obtidos indicam que lactofen, bentazon, fosfito A e também fluazinam foram capazes, em diferentes graus, de provocar o aumento da atividade da SOD. Infelizmente, não se pode afirmar que os mesmos sejam indutores de resistência com base apenas nestes resultados. Esta enzima é a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo, como Alscher et al. (2002) verificaram em plantas de *Arabidopsis thaliana* L. tratadas com metil viologênio (grupo dos herbicidas bipiridílios), o qual afeta o transporte de elétrons, formando O_2^- , aumento na atividade da SOD 5 horas após o tratamento, permanecendo após 41 h. Já em soja, a aplicação de oxyfluorfen, que também envolve a formação de EROs, verificou-se o aumento da atividade dessa enzima em três estádios avaliados, aos 16, 23 e 30 dias após a germinação (CATANEO et al., 2005).

Conforme Broetto et al. (2002) ocorre aumento de atividade das SOD, toda vez que as plantas são submetidas a um ambiente estressante, tais como salinidade, altas temperaturas, estresse hídrico, alta intensidade luminosa, ataque por fitopatógenos e/ou insetos, dentre outros fatores. As plantas possuem um sistema antioxidante para minimizar o efeito do estresse oxidativo, e a enzima superóxido dismutase é integrante desse sistema (MITTLER, 2002; SCANDALIOS, 2005; FELIPE et al., 2009), sendo responsável por catalisar a dismutação de um radical superóxido em peróxido de hidrogênio, podendo este ser tóxico ao patógeno (RESENDE et al., 2003; MAZARO, 2007).

Na avaliação da atividade de POX, a maior atividade foi obtida no tratamento contendo o lactofen, 72 horas após a aplicação do mesmo sobre as plantas (Figura 8), porém, os tratamentos com fosfito A e bentazon, também apresentaram aumentos lineares até às 96 horas, o mesmo ocorrendo, mas em menor magnitude, com o tratamento testemunha (Figura 8).

Rodrigues (2004) constatou aumento na atividade da peroxidase em plantas de alface tratadas com massa de gengibre, promovendo maior proteção contra a infecção de *S. sclerotiorum* em relação aos demais tratamentos testados. Araujo e Menezes (2009) também constataram aumento na atividade da POX e consequente redução de doenças foliares no tomateiro utilizando o fungicida azoxystrobin. Desta forma, neste estudo, assim como nos trabalhos citados, o incremento na atividade de peroxidases, pode estar promovendo o controle do mofo branco em soja.

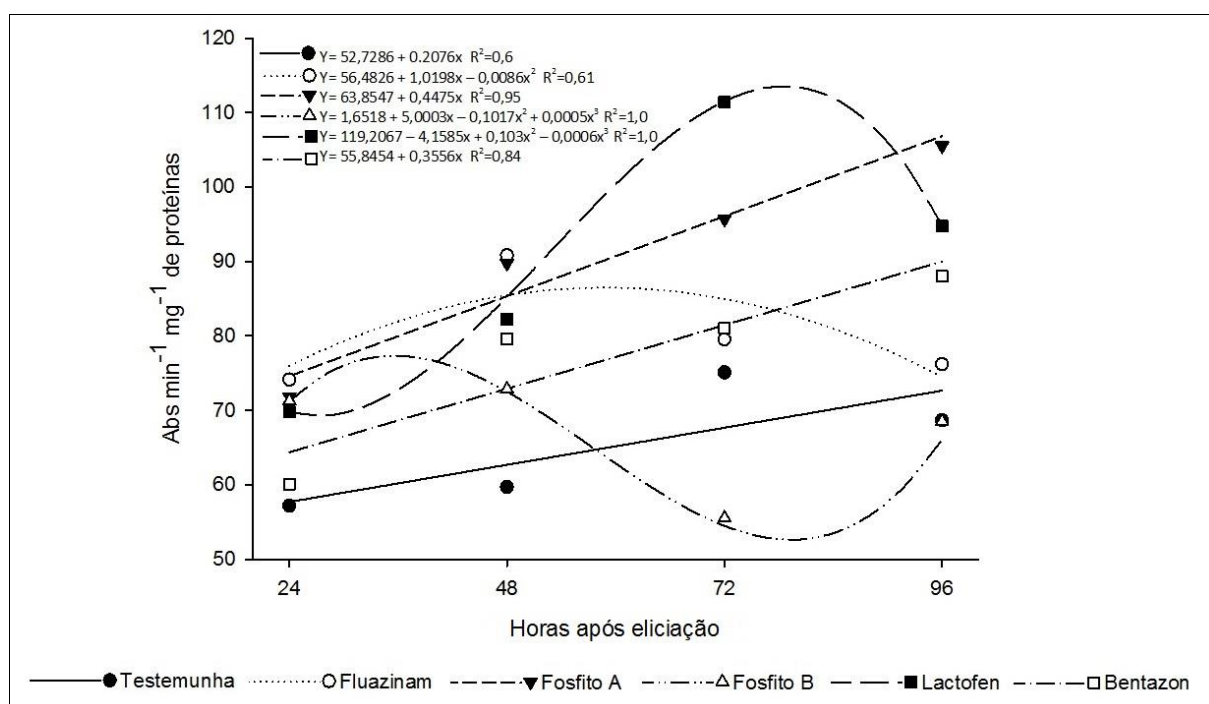


Figura 8 – Atividade de POX em plantas de soja eliciadas com diferentes agroquímicos. UTFPR, Pato Branco, PR, 2013.

As peroxidases englobam um alto número de isoformas e, em função disso, estão envolvidas em diversos processos fisiológicos (PASSARDI et al., 2005), como no metabolismo de auxinas, na formação de ligninas e suberina, em ligações de compostos aos carboidratos das paredes celulares, além da síntese de fitoalexinas e metabolismo de EROs e espécies reativas de nitrogênio (ALMAGRO et al., 2009).

As EROs podem ser formadas em poucos minutos após o ataque do patógeno à

planta, o que resultará na morte das células (explosão oxidativa) próximas àquela(s) em que houve a penetração do microrganismo ou dano. Espera-se, desta forma, que a planta responda aumentando a síntese de enzimas, como a SOD e peroxidases para que as EROs não se acumulem e sejam mais danosas que o próprio patógeno. Este aumento de atividade é relativamente curto, pois após a ativação deste mecanismo inicial, outros serão disparados e, para isso, as células necessitarão desviar compostos e energia para formar estas outras barreiras.

No processo de defesa, a formação de H_2O_2 , além da morte celular, está relacionada a outras funções, como por exemplo, auxiliar no reforço das paredes celulares, através da ligação de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina e prolina à matriz polissacarídica ou aumentando a taxa de lignificação por meio da atividade de POX (HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000).

Tavares et al. (2009) constataram que na cultura do mamoeiro a utilização do fosfito de potássio ocasionou o aumento da atividade das enzimas beta-1,3-glucanase e da peroxidase, e Nojosa (2003) observou que o fosfito de potássio proporcionou maior lignificação da parede celular na cultura do cafeeiro. Se a lignificação ocorre como resultado da atividade de peroxidases, um bom eliciador deve ser capaz de induzir a síntese deste grupo de enzimas, o que parece ocorrer com alguns dos agroquímicos empregados no presente trabalho. Porém, não exatamente significa que o aumento das atividades enzimáticas resulte na resistência da planta, e/ou morte do patógeno.

Além disso, o H_2O_2 também induz a atividade do ácido benzoico 2-hidroxilase, que é uma enzima envolvida na biossíntese do ácido salicílico, um composto que está relacionado à sinalização no processo de resistência em plantas, além de envolvimento em outros mecanismos de defesa (HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000).

Analisando os resultados obtidos neste estudo, verificou-se que houve variações nas respostas em relação à síntese de gliceolinas, ativação da SOD e POX (Figura 7 e 8). Tanto lactofen, quanto bentazon e fosfito A, apresentaram respostas que podem indicar indução do sistema de defesa das plantas de soja. Isto não significa que há indução de resistência, mas pode resultar em diminuição ou retardamento no processo de desenvolvimento de doenças fúngicas. Dos três compostos utilizados, o bentazon apresentou um desempenho melhor, considerando as diferentes análises, porém, estudos com a inoculação de *S. sclerotiorum* após efetuar o tratamento com o herbicida devem ser realizados para se confirmar tal hipótese.

4.4 UTILIZAÇÃO DOS AGROQUÍMICOS (BENTAZON, LACTOFEN, FLUAZINAM, FOSFITO A E FOSFITO B) NO CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Na primeira avaliação do mofo branco realizada, no estágio R4 de desenvolvimento da soja, observou-se uma baixa incidência da doença, não havendo diferença entre os tratamentos testados em comparação ao tratamento testemunha (Tabela 3).

Esse fato pode ser decorrente do prolongado período de estiagem que ocorreu desde o início de desenvolvimento da cultura da soja até próximo ao florescimento (Anexo A), sendo que desde o pleno florescimento (R2) até o início da formação de vagens (R3/R4) a cultura da soja torna-se mais vulnerável a *S. sclerotiorum* (ALMEIDA et al., 2005). Desta forma, as condições pluviométricas não foram propícias para o desenvolvimento do fungo até este período.

Tabela 3 – Valores de incidência, de percentual de controle da doença para os diferentes agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fosfito B, testados no controle do mofo branco no estágio R4 da cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013.

Tratamentos	Médias	Controle (%)
Testemunha	5,75 ^{ns}	0,00
Bentazon	2,75 ^{ns}	52,17
Lactofen	2,75 ^{ns}	52,17
Fosfito A	4,25 ^{ns}	26,00
Fosfito B	6,50 ^{ns}	0,00
Fluazinam	4,75 ^{ns}	17,39
CV(%) 5,8		

ns: não significativo pelo teste F.

Na segunda avaliação efetuada no estágio fenológico R5.1 da cultura da soja, houve diferença significativa para incidência (Tabela 4). Os tratamentos bentazon, lactofen e fosfito A (30 p/p% de P₂O₅ e 20 p/p% de K₂O) foram mais eficientes no controle da doença em relação aos demais tratamentos. Os resultados de severidade foram semelhantes aos obtidos na avaliação da incidência (Tabela 4). A maior porcentagem de controle da severidade da doença foi obtida com o herbicida bentazon com 59,27%, seguido pelo fosfito A com 54,67% e lactofen com 47,88%. Por outro lado, não se observou diferença entre os tratamentos fluazinam e fosfito B (26 p/p% de P₂O₅ e 19 p/p% de K₂O) quando comparados ao tratamento testemunha (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de incidência, severidade e percentual de controle de mofo branco, após a aplicação de fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fostifo B, no estágio R5.1 da cultura da soja, cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013.

Tratamentos	Incidência (%)		Severidade (%)	
	R5.1	% de controle	R5.1	% de controle
Testemunha	25,00 a	0,00	29,34 a	0,00
Fluazinam	21,25 a	15,00	25,31 a	13,73
Fosfito A	13,75 b	45,00	13,30 b	54,67
Fosfito B	26,00 a	0,00	29,50 a	0,00
Lactofen	13,75 b	45,00	15,29 b	47,88
Bentazon	10,50 b	58,00	11,95 b	59,27
	CV (%) 23,29		CV(%) 22,09	

* severidade calculada conforme a escala de Grau et al. (1982).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

Na última avaliação de incidência e severidade, efetuada no estágio de desenvolvimento R5.5 da cultura da soja, tanto para incidência quanto para severidade, os tratamentos bentazon e lactofen foram mais eficientes que os demais tratamentos, promovendo uma redução de 60,51 e 52,29 %, respectivamente, porém não diferiram do fosfito A, o qual reduziu 37,95 % da severidade da doença (Tabela 5).

Pattis (2010) testando os mesmos agroquímicos deste trabalho, mas utilizando a cultivar BMX Energia, obteve resultados promissores no controle do mofo branco em soja, principalmente com a aplicação do herbicida bentazon e de fosfito A, com 79% e 84% de controle sobre a severidade de mofo branco, respectivamente. Já os tratamentos contendo fluazinam, fosfito B e lactofen não diferiram estatisticamente, tendo controles de 52%, 49% e 39%, respectivamente.

Tabela 5 - Valores de incidência, severidade e percentual de controle de mofo branco, após a aplicação de fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fostifo B, no estágio R5.5 da cultura da soja, cultivar BMX Ativa. Coronel Domingos Soares, PR, 2013.

Tratamentos	Incidência (%)		Severidade (%)	
	R5.5	% de controle	R5.5	% de controle
Testemunha	27,25 ab	0,00	32,49 ab	0,00
Fluazinam	23,75 bc	12,84	27,08 bc	16,65
Fosfito A	19,00 cd	30,27	20,16 cd	37,95
Fosfito B	30,50 a	0,00	37,50 a	0,00
Lactofen	15,50 d	43,11	15,50 d	52,29
Bentazon	13,25 d	51,37	12,83 d	60,51
	CV (%) 19,18		CV(%) 22,42	

* severidade calculada conforme a escala de Grau et al. (1982).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

Comparando os resultados obtidos por Pattis (2010) aos deste trabalho, pode-se

inferir que o herbicida bentazon, mesmo em diferentes cultivares, promoveu controle do mofo branco, bastante expressivo, entretanto este resultado não foi obtido por Dann et al. (1999) que também testaram o herbicida bentazon no controle do mofo branco em soja. Já, Levene et al. (1998) comparando o herbicida bentazon no controle de nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) obtiveram de 50% a 60% de redução sobre a produção de ovos deste fitoparasita, verificando que houve incremento na síntese de fitoalexinas aos quatro dias após a aplicação do tratamento com o herbicida. Neste sentido, é possível inferir que as diferenças encontradas entre cultivares, com o uso de um único eliciador, pode ser resultado da concentração das moléculas indutoras, assim como receptores e mecanismos ativados no processo de defesa.

Em relação à utilização do tratamento com lactofen, ocorreu redução expressiva da incidência e severidade de mofo branco até a última avaliação em R5.5., corroborando os resultados obtidos por Nelson e Renner (1999), Dann et al. (1999) e Nelson et al. (2002), que além de verificarem redução da doença também obtiveram aumento da síntese de fitoalexinas aplicando este herbicida. Entretanto, os autores sugerem que além de fitoalexinas outros mecanismos de defesa podem estar sendo ativados, o que parece ocorrer neste trabalho, com alguns dos agroquímicos utilizados.

O tratamento com o fosfito B teve os maiores índices de incidência e severidade, sendo inferior aos demais tratamentos, incluindo o tratamento testemunha. Tais resultados foram similares aos obtidos por Tavares et al. (2009), ao avaliarem o uso de eliciadores no controle de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro, verificaram que o adubo foliar reforce aliado ao ácido salicílico conferiram baixa capacidade protetora nas plantas de mamoeiro.

Neste trabalho o fungicida fluazinam proporcionou controle de 16,65% sobre a severidade de mofo branco, com apenas uma aplicação. Henning et al. (2009) também com uma aplicação do fungicida fluazinam obtiveram 39,48% de controle sobre a incidência do mofo branco em soja, e concluíram que os fungicidas apresentaram eficiência na redução da doença, mesmo com apenas uma aplicação.

Pattis (2010) efetuando somente uma aplicação de fluazinam obteve 52% de controle sobre a severidade de mofo branco em soja. Já, Vieira et al. (2001) conseguiram reduzir a incidência de mofo branco em feijoeiro de 46% na testemunha para 18% por meio da utilização de fluazinam em duas aplicações. No entanto, neste trabalho, foi possível obter um controle de 51,3% sobre a incidência e 60,5% sobre a severidade da doença utilizando o herbicida bentazon em apenas uma aplicação realizada no estágio V4 da cultura da soja. Normalmente, em condições de campo, obtém-se um controle médio de 60% com duas

aplicações de fluazinam, o que pode onerar muito o custo de produção de soja, pensando nisso, torna-se vantajoso utilizar os herbicidas, que demonstraram a mesma porcentagem média de controle.

Quanto à avaliação de plantas mortas, os maiores valores foram obtidos nos tratamentos que apresentaram uma maior incidência e severidade (Tabelas 5 e 6). O fato destes agroquímicos terem sido promissores no controle do mofo branco reforça a teoria da indução de resistência, já que estes produtos não tiveram ação sobre os escleródios, como mostra a Tabela 1, não impedindo a germinação miceliogênica e tendo a possibilidade de não inibirem a germinação carpogênica, que por meio da liberação de ascósporos representa a principal forma de infecção e, ainda, pelo fato de terem sido aplicados no estágio de desenvolvimento V4, o que impossibilita estarem agindo sobre os apotécios, pois o surgimento dessas estruturas, normalmente, ocorre durante o período de florescimento da soja (FURLAN, 2009).

Tabela 6 – Médias de número de plantas mortas para os diferentes agroquímicos, fluazinam, bentazon, lactofen, fosfito A e fostifo B, testados no controle do mofo branco no estágio R7 da cultivar BMX Ativa, rendimento de grãos, número de vagens planta⁻¹, número de grãos planta⁻¹, massa de mil grãos. Coronel Domingos Soares, PR, 2013.

Tratamentos	Nº plantas mortas	Rendimento de grãos (kg/ha)	Nº vagens planta ⁻¹	Nº grãos planta ⁻¹	Massa de 1000 grãos (g)
Testemunha	45,25 b	3.344,7 ab	35,45 c	92,45 c	150,84 ^{ns}
Fosfito B	71,25 a	3.068,2 b	35,70 c	96,47 c	152,92 ^{ns}
Fluazinam	40,25 b	3.347,5 ab	45,90 bc	119,97 bc	157,64 ^{ns}
Fosfito A	33,75 bc	3.444,7 ab	46,67 bc	124,20 abc	167,24 ^{ns}
Bentazon	25,00 c	3.577,7 a	56,15 ab	148,16 ab	155,45 ^{ns}
Lactofen	23,00 c	3.741,5 a	58,57 a	154,85 a	151,74 ^{ns}
CV (%)	24,07	7,82	15,33	14,99	5,04

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

ns: não significativo pelo Teste F.

A hipótese da indução de resistência como modo de ação no controle no campo é reforçada pelas análises bioquímicas efetuadas neste trabalho. O herbicida bentazon se destacou como um potente indutor da síntese de fitoalexinas (Figuras 4, 5 e 6), bem como demonstrou estar envolvido no desencadeamento das atividades enzimáticas da SOD e POX (Figuras 7 e 8), podendo estar atuando em processos de lignificação e formação de compostos tóxicos ao fungo. Tal fato é sugerido uma vez que o herbicida lactofen, o qual teve o menor índice de plantas mortas nas parcelas, atua na síntese de fitoalexinas e também na ativação da

enzima POX (Figura 8).

O uso de fosfito A também foi no controle do mofo branco em condições de campo, não diferindo dos tratamentos com os herbicidas. Pereira et al. (2012) constataram que um adubo foliar denominado Phi A ($2,1 \text{ g L}^{-1}$ de P_2O_5), na dose de 5 mL L^{-1} foi capaz de reduzir 61,8 % de míldio na videira. Tavares et al. (2009) constataram que na cultura do mamoeiro, a utilização do fosfito de potássio ocasionou o aumento da atividade das enzimas beta-1,3-glucanase e da peroxidase, e Nojosa (2003) observou que o uso do produto proporcionou maior lignificação da parede celular na cultura do cafeeiro. Estes dados podem ser relacionados com o que ocorreu neste trabalho, já que com a aplicação do fosfito A foi obtida eficiência no controle da doença (Tabelas 4 e 5) e menores índices de plantas mortas (Tabela 6) em relação ao tratamento testemunha e ao fungicida fluazinam.

O fato do fosfito A ter sido relativamente eficiente, pode ser atribuído à ativação da enzima POX (Figura 8), visto que este adubo foliar obteve maior atividade desta enzima em comparação com os demais tratamentos, entretanto, a ativação de outras rotas metabólicas não pode ser descartada.

Em relação ao rendimento de grãos, não houve diferença estatística entre o tratamento testemunha e os demais tratamentos. Entretanto, é importante destacar o incremento em sacas ha^{-1} , sendo que o lactofen, bentazon e fosfito A tiveram uma diferença de 6,61 sacas ha^{-1} , 3,88 sacas ha^{-1} e 1,67 sacas ha^{-1} em comparação com a testemunha.

No parâmetro número de vagens por planta, apenas os tratamentos contendo os herbicidas diferiram do tratamento testemunha (Tabela 6). Para número de grãos por planta (Tabela 6), ambos os herbicidas diferiram estatisticamente do tratamento testemunha e do fosfito B. Em relação à massa de mil grãos (Tabela 6) não houve significância pelo teste F.

Pode ser verificado que em relação aos componentes de rendimento, os herbicidas foram superiores em valores, porém, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, isso pode estar relacionado com o índice de plantas mortas, pois, neste quesito ambos os herbicidas tiveram menor proporção, sendo assim é possível considerar que a ocorrência de mofo branco pode ter reduzido o rendimento de grãos. Esta teoria é reforçada quando analisado o tratamento com fosfito B, o qual teve maior número de plantas mortas, proporcionando o menor índice de rendimento de grãos (Tabela 6).

Houve correlação negativa entre plantas mortas e número de grãos por planta, ou seja, quanto maior o número de plantas mortas na parcela, menor foi o número de grãos, o mesmo ocorreu para número de vagens por planta o que era esperado, comprovando a teoria de que a doença afetou negativamente nos componentes de rendimento (Tabela 7).

A correlação foi positiva entre número de plantas mortas e peso de mil grãos, isso pode ser explicado devido ao fato de que as plantas que permaneceram vivas, provavelmente tiveram maior incidência de luz, e puderam produzir, até mesmo, em alguns casos, compensar as plantas que morreram em relação a massa de grãos, porém, não sendo possível manter índices elevados de rendimento de grãos.

O número de grãos por planta teve correlação positiva significativa com número de vagens por planta, dessa forma, quanto maior o número de vagens, maior foi o número de grãos (Tabela 7).

Tabela 7 – Correlação de Pearson para as variáveis número de plantas mortas, rendimento de grãos (RG), número de vagens planta⁻¹, número de grãos planta⁻¹, massa de mil grãos. Pato Branco, PR, 2013.

Variáveis	Nº plantas mortas	RG Kg ha ⁻¹	Nº de grãos planta ⁻¹	Nº de vagens planta ⁻¹	Massa de 1000 grãos
Nº plantas mortas	1	-0.25735 ^{ns}	-0.73781**	-0.744817**	0.58343**
RG Kg ha ⁻¹		1	0.316355 ^{ns}	0.298596 ^{ns}	-0.20946 ^{ns}
Nº grãos planta ⁻¹			1	0.992705**	-0.36447 ^{ns}
Nº vagens planta ⁻¹				1	-0.36447 ^{ns}
Massa de 1000 grãos					1

** houve correlação significativa

ns: não significativo

É importante salientar que os tratamentos que proporcionaram melhor controle da doença no campo, possivelmente, também contribuirão com a redução de inóculo para a próxima safra, diminuindo a quantidade de escleródios formados na planta, já que uma vez desencadeada as defesas do hospedeiro o patógeno não conseguirá se desenvolver e formar novas estruturas de resistência.

Também, este estudo aponta como uma nova prática de manejo do mofo branco em soja, com resultados promissores, que além de reduzir a doença em condições de campo, foi capaz de minimizar as perdas ocasionadas pelo fungo *S. sclerotiorum*.

5 CONCLUSÕES

Os herbicidas bentazon e lactofen, assim como o adubo foliar fosfito A, controlaram o mofo branco no campo e atuaram com potentes eliciadores de mecanismos de defesa da soja, sendo promissores no controle do mofo branco.

O fosfito B e o fungicida fluazinam não foram eficientes no controle do mofo branco em campo.

Ambos os herbicidas testados são eliciadores da síntese de fitoalexinas.

Ambos os herbicidas e o fosfito A foram considerados eliciadores da síntese de POX.

O fungicida fluazinam foi o único tratamento a inibir 100% a germinação dos escleródios e o crescimento micelial do fungo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo utilizando diferentes agroquímicos no controle do mofo branco da soja demonstrou ser uma nova e importante ferramenta a ser utilizada no controle esta doença, aliando as demais práticas de manejo que já vêm sendo efetuadas, visando reduzir a quantidade de inoculo de uma área, além de minimizar as perdas de rendimento ocasionadas pelo fungo *S. sclerotiorum*.

O controle obtido através do uso dos herbicidas bentazon e lacofen e do adubo foliar fosfito A é atribuído a mecanismos de indução de resistência, entretanto, ainda são necessários mais estudos para verificar se além das enzimas SOD e POX e da síntese de gliceolinas outros mecanismos estão sendo desencadeados.

Também é importante salientar que muitas vezes o controle do mofo branco por meio de fungicidas eleva em demasia o custo de produção, podendo não ser compensatório. Esta é uma das vantagens em se utilizar os herbicidas ou o adubo foliar, pois para obter o controle foi necessário apenas uma aplicação, sendo que o custo desses produtos são menores comparados ao fungicida.

A questão ambiental é outro aspecto importante a se considerar, pois o uso de fungicidas causa contaminação do ambiente, o que não ocorre com o uso de adubos foliares.

REFERÊNCIAS

AGRICHEM. Produtos. Disponível em: <http://www.agrichem.com.br/produtos/22>. Acesso em 25/11/2013.

ALMAGRO, L.; ROS, L.V.G.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; BARCELÓ, A.R.; PEDREÑO, M.A. Class III peroxidases in plant defense reactions. *Journal of Experimental botany*, v. 60. n.2. 2009.

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A & Camargo, L.E.A. Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas, São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2. p. 596-617. 2005.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*. v. 53. p. 1331-1341. 2002.

ARAHANA, V. S.; GRAEF, G. L.; SPECHT, J. E.; STEADMAN, J. R.; ESKRIDGE, K. M. Identification of QTLs for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Crop Science*. v.41. p. 180-188. 2001.

ARAÚJO, F. F.; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e Abiótico (Acibenzolar-S-Metil). *Summa Phytopathologica*. Botucatu, v. 35. n. 3. p. 169-172. 2009.

AYERS, A. R.; EBEL, J.; FINELLI, F.; BERGER, N.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions. IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Plant Physiology*. v. 57. p. 751-759. 1976.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. v.44. p. 276-287. 1971.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2. p. 333-349. 2005.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. v.16. p. 93-108. 1994.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*. v. 7. p. 1-16. 2006.

BOUÉ, S. M.; CARTER, C. H.; EHRLICH, K.; CLEVELAND, T. E. Induction of the soybean phytoalexins coumestrol and glyceollin by *Aspergillus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 48. p. 2167-2172. 2000.

BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. v. 72. p. 248-254. 1976.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno – Fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ. p.305-346. 2008.

BROETTO, F.; LUTTGE, U.; RATAJCZAK, R.; Influence of light intensity and salt treatment on mode of photosynthesis and enzymes of the antioxidative response system of mesembry anthemum crystallinum. *Functional Plant Biology*. v. 29. p. 13-23. 2002.

BUFFARA, C. R. S.; ANGELOTTI, F.; TESSMANN, D. J.; SOUZA, C. D. de; VIDA, J. B. Atividade de fosfito de potássio na pré e pós-infecção de *Phakopsora euvtis* em folhas de videira. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 34. n. 6. p. 3333-3340. 2013.

CAMARGO, L. E. A. Genética da Interação Patógeno-Hospedeiro. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. *Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres. v.1. 4 ed. p. 119-132. 2011.

CATANEO, A. C.; CHAMMA, K. L.; FERREIRA, L. C.; DESTRO, G. F. G.; SOUZA, D. C. F. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycinemax* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. *Revista Brasileira de Herbicidas*. v. 4. n. 2. 2005.

CHENG, J.; YUAN, C.; GRAHAM, T. L. Potential defense-related prenylated isoflavones in lactofen induced soybean. *Phytochemistry*. v. 72. n. 9. p. 875-881. 2011.

CHEONG, J. J.; BIRBERG, W.; FU“ GEDI, P.; PILOTTI, A.; GAREGG, P. J.; HONG, N.; OGAWA, T.; HAHN, M. G. Structure-activity relationships of oligo-b-glucoside elicitors of phytoalexin accumulation in soybean. *Plant Cell*. v. 3. p. 127-136. 1991.

CLARKSON, J. P.; STAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C. S.; WHIPPS, J. M. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycological Research*. v. 107. p. 213-222. 2003.

COFFEY, M. D.; CASSIDY, D. S. M. Peroxidase activity and induced lignification in rusted flax interactions varying in their degree of incompatibility. *Canadian Journal of Botany*. v. 62. p. 134-141. 1984.

COHEN, Y.; COFFEY, M. D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annual Review of Phytopathology*. v. 24. p.311-338. 1986.

CONAB. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, safra 2012/2013. Décimo levantamento. Companhia Nacional de Abastecimento. p. 23. Brasília, 2013.

COSTA, G. R.; COSTA, J. L. da S. Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Pesquisa Agropecuária Tropical. v. 34. p. 133-138. 2004.

CUNHA, W. G. Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene da oxalato descarboxilase de *Flammulina velutipes*. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. p.4. 2010.

DANIELSON, G. A.; NELSON, B. D.; HELMS, T. C. Effect of Sclerotinia stem rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. Plant Disease. v. 88. p.297-300. 2004.

DANN, E. K.; DIERS, B. W.; HAMMERSCHMIDT, R. Suppression of sclerotinia stem rot of soybean by lactofen herbicide treatment. Phytopathology. v. 89. p. 598-602. 1999.

DARVILL, A. G., ALBERSHEIM, P. Phytoalexins and their elicitors- a defense against microbial infection in plants. Annual Review of Plant Physiology. v. 35. 1994.

Del LONGO, O. T.; GONZÁLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. Plant and Cell Physiology. v. 34. p. 1023-1028. 1993.

DEVINE, M.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. Oxygen toxicity and herbicidal action; Secondary physiological effects of herbicides. Physiology of herbicide action. p. 177-188. 1993.

DIXON, R. A., HARRISON M. J.; LAMB, C. J. Early events in the activation of plant defense responses. Annual Review of Phytopathology. v. 32. p. 479-501. 1994.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. v. 28. p. 350-356. 1956.

DUTTON M. V.; EVANS C. S. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. Canadian Journal of Microbiology. v. 42. p. 881-895. 1996.

EBEL, J.; COSIO, E. G. Elicitors of plant defense responses. International Review of Cytology. v. 148. p. 1-36. 1994.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Documentos 256. Manual de Identificação de Doenças de Soja. Londrina - PR. 2005.

EMBRAPA. Soja em números (safra 2012/2013). Disponível em:
http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod_pai=69&op_page=294. Acesso em:
05/12/2013a.

EMBRAPA. Como potencializar rendimentos na soja. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/noticias/2013/not1340.htm>. Acesso em: 17/12/2013b.

FELIPE, R. T. A.; OLIVEIRA, J. A.; LEÃO, G. A. Potencial de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. Revista *Árvore*. v. 33. n. 2. p. 245-254. 2009.

FERNANDES, N. T.; PAULA, J. T. J.; ZAMBOLIN, L.; SILVA, A. A.; CHAVES, G. M. Efeito de Herbicidas e Fungicidas sobre a germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27. Resumos, Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia. p. 375. 1994.

FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. Doenças da Soja no Brasil. Embrapa-CNPSO. Londrina – PR. p. 42. 1979.

FERREIRA, L. C.; MEYER, M. C.; TERAMOTO, A. Efeito de fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* isolado de soja. Embrapa Soja. Documentos, 312. IV Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. 2009.

FRITIG, B.; HEITZ, T.; LEGRAND, M. Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Current Opinion in Immunology*. v. 10. p.16-22. 1998.

FURLAN, S. H. Manejo do Mofo Branco na Cultura da Soja. Instituto Biológico. São Paulo. 2009. Disponível em: http://www.biologicalo.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=111. Acesso em: 28/11/2013.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. Efeito de fungicidas e herbicidas no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bioscience Journal*. Uberlândia. v. 29. n. 6. p. 1989-1996. 2013.

GASPAR, T.; PENEL, C.; THORPE, T.; GREPPIN, H. Peroxidases: A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. University of Geneva. Switzerland. 1982.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*. v. 59. p. 309- 314. 1977.

GODOY, G.; STEADMAN, J. R.; DICKMAN, M. B.; DAM, R. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. v. 37. p. 179-191. 1990.

GOMES, E. C. de S.; PEREZ, J. O.; BARBOSA, J. Resistência induzida como componente do manejo de doenças da videira. *Engenharia Ambiental*. Espírito Santo do Pinhal. v. 6. n. 2. p. 114-120. 2009.

GRAHAM, M. Y. The diphenylether herbicide lactofen inducess cell death and expression of defense-related genes in soybean. *Plant Physiology*. v. 139. n. 4. 2005.

GRAU, C. R.; RADKE, V. L.; GILLESPIE, F. L. Resistance of soybean cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*. v. 66. p. 506-508. 1982.

GRAU, D. R. Sclerotinia Stem Rot. In SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. *Compendium of Soybean Diseases*. 3.ed. p. 47-48. 1989.

GUEST, D. I.; GRANT, B. R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Reviews*. v. 66. p.159-187. 1991.

GUO, X.; WANG, D.; GORDON, S. G.; HELLIWELL, E.; SMITH, T.; BERRY, S. A.; MARTIN, S. K.; DORRANCE, A. E. Genetic mapping of QTLs underlying partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean PI 391589A and PI 391589. *Crop Science*. v. 48. p. 1129-11-39. 2008.

HAHN, M. G.; ALBERSHEIN, P. Isolation and partial characterization of an elicitor from yeast extract. *Plant Physiology*. v. 62. p. 107-111. 1978.

HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. *Physiology Plant Pathology*. v. 20. p. 61-71. 1982.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E.; KUC, J. Association of enhance peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiology Plant Pathology*. v. 20. p. 73-82. 1982.

HAMMOND-KOSACK, K.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville : American Society of Plant Physiologists. p.1102-1156. 2000.

HARBORNE, J. B. The comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants. *Biochemical Systematics Ecology*. v. 27. p. 335-367. 1999.

HARIKRISHNAN, R.; DEL RÍO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. *Plant Disease*. v. 90. p. 946-950. 2006.

HEGEDUS, D. D.; RIMMER, S. R. *Sclerotinia sclerotiorum*: when "to be or not to be" a pathogen? *FEMS Microbiology Letters*. v. 251. p. 177-184. 2005.

HENNING, A. A. *Patologia e tratamento de sementes: noções gerais*. Londrina: Embrapa Soja. 52 p. 2004.

HENNING, A. A.; PAULA, F. Y. H. de; MONTEMEZZO, C. A. O.; BOSSE, E. J.; BERGONSI, J. S. S. Avaliação de princípios ativos para o controle químico de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja– safra2008/2009. *Informativo ABRATES*. v. 19. n.1, 2009.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. Evolução e Perspectivas de Desempenho Econômico Associadas com a Produção de Soja nos Contextos Mundial e Brasileiro. Embrapa Soja. Documentos 319. Londrina, Pr. 2011.

IAPAR. Instituto Agrônomo do Paraná. Classificação Climática. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>. Acesso em: 22/11/2013.

JACKSON, T. J. ; BURGESSA, T; COLGUHOUNB I.; HARDYA, G. E. Action of the fungicide phosphite on *Eucaliptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathology. v. 49. p. 147-154. 2000.

JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C. Podridão branca da haste da soja: Manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção. Uberlândia-MG, Composer, 33 p. 2010.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. Plant Growth Regulation. v. 39. p. 83-89. 2003.

KIM, H. S.; DIERS, B. W. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* stem rot in soybean. Crop Science. v. 40. p. 55-61. 2000.

KIM, K. S.; CHANG, J. E.; YUN, H. S. Estimation of a soluble β -glucan content of yeast cell wall by the sensitivity to Glucanex 200G treatment. Enzyme and Microbial Technology. v. 35. n. 6. p. 672. 2004.

LANDINI, S.; GRAHAM, M.Y.; GRAHAM, T.L. Lactofen induces isoflavone accumulation and glyceollin elicitation competency in soybean. Phytochemistry. v. 62. n. 6. p. 865-874. 2003.

LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H. Evolução e Perspectivas de Desempenho Econômico Associadas com a Produção de Soja nos Contextos Mundial e Brasileiro. Embrapa Soja. Documentos 319. Londrina, Pr. Dezembro. 2009.

LEITE, R. M. V. B. de C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. Comunicado Técnico. Londrina – PR. 2005.

LEVENE, B. C.; OWEN, M. D. K.; TYLKA, G. L. Response of soybean cyst nematodes and soybean (*Glycine max*) to herbicides. Weed Science. v. 46. p. 264-270. 1998.

LIMA, G. P. P.; ROSSI, C.; HAKVOORT, D. M. R. Atividade de peroxidases (E.C 1.11.1.7) e teor de prolina no embrião e cotilédones de feijoeiro *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em condições de salinidade. Scientia Agricola. v. 54. n. 3. 1997.

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

LYDON, J.; DUKE, S. O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. *Pesticide Science*. v. 25. p. 361-373. 1989.

MARCHESE, J. A.; MATTANA, R. S.; MING, L. C.; BROETTO, F.; VENDRAMINI, P. F.; MORAES, R. M. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] plants. *Photosynthetica*. v. 46. p. 501-505. 2008.

MATHERON, M. E.; PORCHAS, M. Activity of Boscalid, Fenhexamid, Fluazinam, Fludioxonil, and Vinclozolin on growth of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* and development of lettuce drop. *Plant Disease*. v. 88. n. 6. p. 665-668. 2004.

MAZARO, S. M. Indução de resistência a doenças em morangueiro pelo uso de elicitores. Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 105 p. 2007.

MENEGHETTI, R. C. Avaliação do fosfito de potássio sobre o progresso de *Phakopsora pachyrhizi* em soja. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Maria. 2009.

MEYER, M. C. Manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* para a sustentabilidade da produção. XI Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. Informativo Abrates. v. 21. n.3. 2011.

MITLER, R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. v. 7. p. 405-410. 2002.

MOREIRA, L. M.; MAY-DE MIO, L. L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; LIMA, M. L. R. Z. C.; POSSAMAI, J. C. Controle em pós-colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. *Fitopatologia Brasileira*. v. 27. p. 395-398. 2002.

NAPOLEÃO, R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; NASSER, L. C. B.; LOPES, C. A.; SILVA, H. R. Intensidade do mofo branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. *Fitopatologia Brasileira*. v. 30. n. 4. p. 374-379. 2005.

NELSON, K. A.; RENNER, K. A.. Postemergence herbicides affect soybean development and incidence of white mold. *North Central Weed Science Society Proc.* v. 54. 1999.

NELSON, K. A.; RENNER, K. A.; HAMMERSCHMIDT, R. Effects of Protoporphyrinogen Oxidase Inhibitors on Soybean (*Glycine max* L.) Response, *Sclerotinia sclerotiorum* Disease Development, and Phytoalexin Production by Soybean. *Weed Technology*. v. 16. p. 353-359. 2002.

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDI. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras. 2003.

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

NÜRNBERGER, T. Signal perception in plant pathogen defense. Cellular and Molecular. Life Science. v. 55. p. 167-182. 1999.

PASCHOLATI, S. F.; BLUMER, S.; REZENDE, D.C.; BRAND, S. C. Indução De Resistência Novos Conceitos e Aplicações. Anais do X Simpósio de Controle de Doenças de Plantas e V Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas. Lavras, MG. 2010.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. v.1. p.417-454. 1995.

PACHECO, K. R. Avaliação de Trichoderma e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da murcha-de-esclerócio em feijoeiro. Dissertação (mestrado em agronomia). Universidade de Brasília. 2012.

PASSARDI, F.; COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. Plant Cell Reports. v. 24. p. 255-265. 2005.

PATTIS, C. A. Produtos Químicos no Controle do Mofo Branco na Cultura da Soja. 40 f. Monografia (Trabalho de conclusão de curso). Curso de Agronomia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2010.

PEREIRA, V. F.; RESENDE, M. L. V. de; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; REGINA, M. de A.; MOTA, R. V. da; VITORINO, L. R. R. Fosfito de potássio no controle do míldio da videira e características físico químicas de uvas Merlot. Pesquisa agropecuária brasileira. Brasília. v. 47. n.11. p.1581-1588. 2012.

PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M.; VAN PELT, J. A.; KNOESTER, M.; LAAN, R.; GERRITS, H.; WEISBEEK, P. J.; VAN LOON, L.C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. Plant Cell. v. 10. p.1571-80. 1998.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. Fitopatologia Brasileira. v. 28. n. 2. p. 123-130. 2003.

REBOLLAR-ALVITER, A.; MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A. Pre- and post-infection activity of azoxystrobin, pyraclostrobin, mefenoxam, and phosphite against leather rot of strawberry, caused by *Phytophthora cactorum*. Plant Disease. v. 91. n. 5. p. 559-564. 2007.

RIOU, C.; FREYSSINET, G.; FEVRE, M. Production of cell wall-degrading enzymes by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. Applied and Environmental Microbiology. v. 57. p. 1478-1484. 1991.

RODRIGUES, E. Atividade antimicrobiana *in vitro*, indução de peroxidase e controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface cultivado organicamente pelo uso de extrato de gengibre. Dissertação de mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Maringá. 2004.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. Economic importance. In: SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. Hisar: Springer. p. 41-45. 2007.

SBALCHEIRO, C. C.; DENARDIN, N. D.; BRAMMER, S. P. Alterações de isoenzimas peroxidases em plantas de feijoeiro tratadas com biocontrolador do crestamento bacteriano comum. Tropical Plant Pathology. v. 34. n.1. p.29-37. 2009.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. v. 38. p. 995-1014. 2005.

SIEGEL, B. Z. Plant peroxidases - an organismic perspective. Plant Growth Regulation. v. 12. p. 303-312. 1993.

SILVA, G. C.; GOMES, D. P.; KRONKA, A. Z.; MORAES, M. H. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do Estado de Goiás. Semina: Ciências Agrárias. v.29. p.29-34. 2008.

SILVA, O. C.; SANTOS, H. A. A.; PRIA, M. D.; MAY-DE MIO, L. L. Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. Crop Protection. 2011.

SIQUERI, F. V.; YORINORI, J. T.; YUYAMA, M. M. Boletim de Pesquisa de Soja. Número 15. Doenças da soja. Fundação MT. Mato Grosso 2011.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. The New Phytologist. v. 132. p. 1-45. 1996.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology. v. 35. p. 235-270. 1997.

SÔNIGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. Avaliação do fosfito de potássio no controle do míldio da videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11. 16 p. 2003

SUN, P.; YANG, X. B. Light, temperature, and moisture effects on apothecium production of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease. v. 84. n. 12. p. 1287-1293. 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre: Editora ARTMED. 848p. 2009.

TAMOGAMI, S.; KODAMA, O.; HIROSE, K.; AKATSUKA, T. Pretilachlor [2-Chloro-N(2,6-diethylphenyl)-N(2-propoxyethyl)acetamide]- and Butachlor [N-(Butoxymethyl)-2-chloro-N(2,6-diethylphenyl)acetamide]-Induced Accumulation of Phytoalexin in Rice (*Oryza sativa*) Plants. American Chemical Society. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 43. n. 6. 1995.

TAVARES, G.; LARANJEIRA, D.; LUZ, E.; SILVA, T., PIROVANI, C.; RESENDE, M.; RIBEIRO JUNIOR, P. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. *Pesquisa agropecuária brasileira*. v. 44. n. 11. p. 1416-1423. 2009.

TU, C. The role of mold-infected White bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds in the dissemination of *Sclerotinia sclerotiorum* de Bary. *Journal of Phytopathology*. Berlin. v. 121. n. 1. p. 40-50. 1998.

VIEIRA, R. F., PAULA JÚNIOR, T. J. de, PERES, A.P. & MACHADO, J. da C. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. *Fitopatologia Brasileira*. v. 26. p. 770-773. 2001.

VUONG, T. D.; DIERS, B. W.; HARTMAN, G. L.; Identification of QTL for resistance to sclerotinia stem rot in soybean plant introduction 194639. *Crop Science*. v. 48. 2008.

WALTERS, D. R. Are plants in the field already induced? Implications for practical disease control. *Crop Protection*. v. 28. p. 459-465. 2009.

YANG, X.B.; WORKENEH, F.; LUNDEEN, P. First report of sclerotium production by *Sclerotinia sclerotiorum* in soil on infected soybean seeds. *Plant Disease*. v. 82. p. 264. 1998.

ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. da C.; SOUSA, B. F. M. de; MATOS, C. S. M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. *Bioscience Journal*. Uberlândia. v. 28. n. 5. p.782-789. 2012.

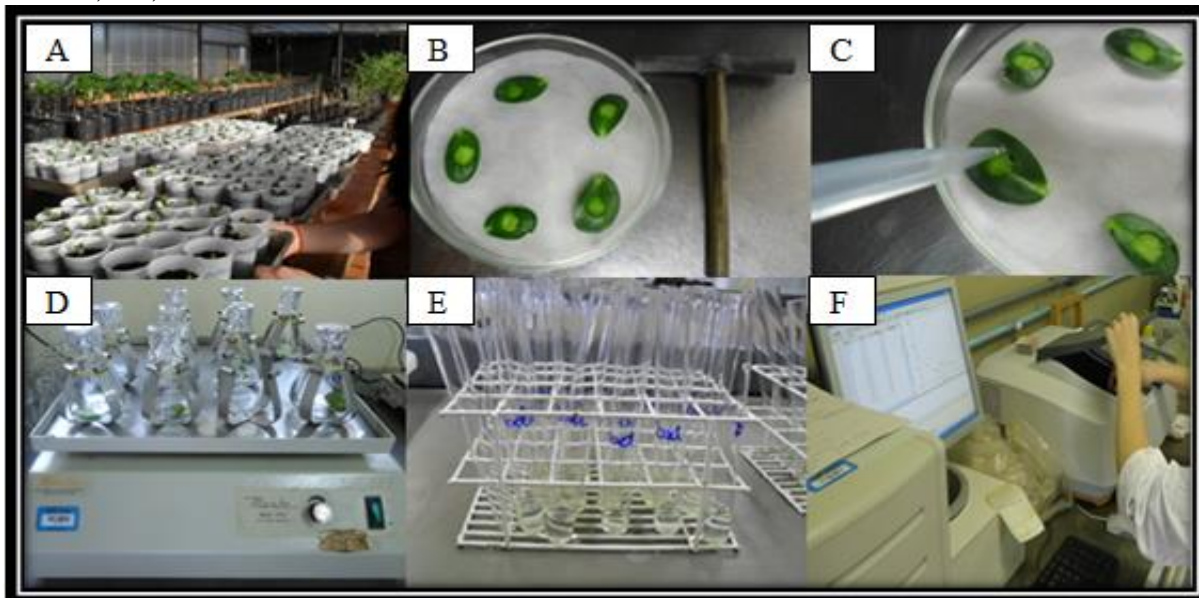
ZIEGLER, E.; PONTZEN, R. Specific inhibition of glucan-elicited glyceolin accumulation in soybeans by extracellular mannan-glycoprotein of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. *Physiological Plant Pathology*. v. 20. p. 321-331. 1982.

ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A - A) Cultivares de soja dispostas em copos plásticos; B) Cotilédones de soja raspados secção em de 1cm efetuada com furador; C) Deposição dos tratamentos sobre os cotilédones; D) Agitação por uma hora dos cotilédones para extração de gliceolina; E) Filtrado dos cotilédones de soja; F) Leitura da absorbância em espectrofotômetro. Pato Branco, PR, 2013.....	54
APÊNDICE B - Tratos culturais efetuados na soja cultivar BMX Ativa, safra 2012/2013 em Coronel Domingos Soares – PR.....	54
APÊNDICE C - Desenvolvimento do experimento de campo. A) Demarcação de parcelas; B) Aplicação dos tratamentos; C) Avaliação do experimento; D) Colheita e trilhagem.....	55
APÊNDICE D - Quadrados médios das variáveis germinação de escleródios experimento 1 (GE1), germinação de escleródios experimento 2, crescimento micelial experimento 1 avaliação 1 (CM1-1), crescimento micelial experimento 1 avaliação 2 (CM1-2), crescimento micelial experimento 2 avaliação 1 (CM2-1), crescimento micelial experimento 2 avaliação 2 (CM2-2). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.....	55
APÊNDICE E - Quadrados médios das variáveis síntese de fitoalexinas para a cultivar BMX Energia (FE), síntese de fitoalexinas para BMX Ativa (FA), síntese de fitoalexinas para BMX Apolo (FAp) em função do uso de eliciadores. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.....	56
APÊNDICE F - Quadrados médios das variáveis síntese de peroxidases (POX) e síntese de superóxido-dismutase (SOD) em função de quatro tempos de coleta e seis produtos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013... ..	56
APÊNDICE G - Quadrados médios das variáveis incidência em R4 (IR4), incidência em R5.1 (IR5.1), incidência em R5.5 (IR5.5), severidade em R5.1 (SR5.1), severidade em R5.5 (SR5.5), índice de plantas mortas (IPM), rendimento de grãos (RG), peso de mil grãos (PMG), número de vagens (NV), número de grãos por vagem (NGV), em função dos tratamentos com os agroquímicos.UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013... ..	56
ANEXO A - Dados de pluviosidade coletados da estação de Palmas-PR, disponibilizados pelo IAPAR (2013), referentes aos meses de novembro e dezembro de 2012, janeiro, fevereiro e março de 2013. UTFPR, Pato Branco, 2013.	58

APÊNDICES

APÊNDICE A - A) Cultivares de soja dispostas em copos plásticos; B) Cotilédones de soja raspados secção em de 1cm efetuada com furador; C) Deposição dos tratamentos sobre os cotilédones; D) Agitação por uma hora dos cotilédones para extração de gliceolina; E) Filtrado dos cotilédones de soja; F) Leitura da absorbância em espectrofotômetro. Pato Branco, PR, 2013.



APÊNDICE B - Tratos culturais efetuados na soja cultivar BMX Ativa, safra 2012/2013 em Coronel Domingos Soares – PR.

05/12/2012	19/12/2012	11/01/2013	01/02/2013
ROUNDUP TRANSORB = 2 L ha ⁻¹	ROUNDUP READY = 1,6 L ha ⁻¹	PRIORI = 0,25 L/ha ⁻¹	APROACH PRIMA = 0,3 L ha ⁻¹
Co-Mo PLATINUM = 100 mL ha ⁻¹	BENDAZOL = 0,6 L ha ⁻¹	ALTERNE = 0,5 L ha ⁻¹	DEROSAL 500 = 0,7 L ha ⁻¹
ENGEO PLENO = 80 mL ha ⁻¹	NOMOLT = 120 mL ha ⁻¹	MATCH = 150 mL ha ⁻¹	NOMOLT = 120 mL ha ⁻¹
CLASSIC = 30 g ha ⁻¹	-----	DIPEL = 400 mL ha ⁻¹	-----
-----	-----	BENDAZOL = 0,6 L ha ⁻¹	-----

APÊNDICE C - Desenvolvimento do experimento de campo. A) Demarcação de parcelas; B) Aplicação dos tratamentos; C) Avaliação do experimento; D) Colheita e trilhagem.



APÊNDICE D - Quadrados médios das variáveis germinação de escleródios experimento 1 (GE1), germinação de escleródios experimento 2, crescimento micelial experimento 1 avaliação 1 (CM1-1), crescimento micelial experimento 1 avaliação 2 (CM1-2), crescimento micelial experimento 2 avaliação 1 (CM2-1), crescimento micelial experimento 2 avaliação 2 (CM2-2). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.

Variável	Tratamento (Agroquímicos)	ERRO	Média Geral	CV %	GL(T)	GL(E)
GE1	335.44*	2.81	14.11	11.88	5	30
GE2	295.17*	19.33	15.06	29.18	5	24
CM1-1	69.21*	0.24	3.58	13.9	5	24
CM1-2	76.85*	0.1	5.56	5.7	5	24
CM2-1	69.89*	0.11	5.08	6.74	5	24
CM2-2	64.21*	0.03	6.34	3.05	5	24

* São valores significativos a 5% ($p < 0,05$) de probabilidade de erro pelo teste F.
ns: Não significativo ($p > 0,05$).

APÊNDICE E - Quadrados médios das variáveis síntese de fitoalexinas para a cultivar BMX Energia (FE), síntese de fitoalexinas para BMX Ativa (FA), síntese de fitoalexinas para BMX Apolo (FAp) em função do uso de eliciadores. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.

Variável	Tratamento (Agroquímicos)	ERRO	Média Geral	CV%	GL(T)	GL(E)
FE	0.03*	0.0007	0.14	18.27	6	21
FA	0.18*	0.01	0.32	9.84	6	28
FAp	0.751*	0.002	0.55	8.6	6	28

* São valores significativos a 5% ($p < 0,05$) de probabilidade de erro pelo teste F.

ns: Não significativo ($p > 0,05$).

APÊNDICE F - Quadrados médios das variáveis síntese de peroxidases (POX) e síntese de superóxido-dismutase (SOD) em função de quatro tempos de coleta e seis produtos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.

Caractere	Tempos de coleta	Produtos	A x D	ERRO	Média Geral	CV%
GL	3	4	15	96	-	-
POX	1208.7*	2042.6*	1069.1*	254.95	80.3	19.8
SOD	2109.2*	876.07*	1825.7*	307.9	62.7	27.9

* São valores significativos a 5% ($p < 0,05$) de probabilidade de erro pelo teste F.

ns: Não significativo ($p > 0,05$).

APÊNDICE G - Quadrados médios das variáveis incidência em R4 (IR4), incidência em R5.1 (IR5.1), incidência em R5.5 (IR5.5), severidade em R5.1 (SR5.1), severidade em R5.5 (SR5.5), índice de plantas mortas (IPM), rendimento de grãos (RG), massa de mil grãos (MMG), número de vagens (NV), número de grãos por vagem (NGV), em função dos tratamentos com os agroquímicos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2013.

Variável	Bloco	Tratamento (Agroquímicos)	ERRO	Média Geral	CV%
GL	3	5	15	-	-
IR4	7.93	9.44 ^{ns}	5.13	4.45	50.8
IR5.1	28.81	172.07*	18.31	18.37	23.29
IR5.5	22.7	183.54*	17.07	21.54	19.18
SR5.1	54.35	267.01*	21.08	20.78	22.09
SR5.5	31.4	380.21*	29.59	24.26	22.42
IPM	142.27	1245.5*	91.61	39.75	24.07
RG	229124.5	210802.7*	71651.9	3420.75	7.82
MMG	80.27	146.91 ^{ns}	61.93	155.97	5.04
NV	87.04	382.40*	50.67	46.4	15.33
NGV	663.77	2635.76*	338.62	122.68	14.99

* São valores significativos a 5% ($p < 0,05$) de probabilidade de erro pelo teste F.

ns: Não significativo ($p > 0,05$).

ANEXOS

ANEXO A - Dados de pluviosidade coletados da estação de Palmas-PR, disponibilizados pelo IAPAR (2013), referentes aos meses de novembro e dezembro de 2012, janeiro, fevereiro e março de 2013.

