

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS DOIS VIZINHOS
BACHARELADO EM AGRONOMIA

JANAÍNA BRUZAMARELLO

**POTENCIAL DE FOSFITOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA
SISTÊMICA ADQUIRIDA EM PLANTAS DE SOJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2016

JANAÍNA BRUZAMARELLO

**POTENCIAL DE FOSFITOS NA INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA
SISTÊMICA ADQUIRIDA EM PLANTAS DE SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

DOIS VIZINHOS

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Coordenação do Curso de Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

**POTENCIAL DE FOSFITOS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA SISTÊMICA
ADQUIRIDA EM PLANTAS DE SOJA**

por

JANAINA BRUZAMARELLO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 17 de Outubro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Orientador Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR – Dois vizinhos

Membro titular Edson Bertoldo
UTFPR – Dois Vizinhos

Membro titular Lilian de Souza Vismara
UTFPR – Dois Vizinhos

Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso
Angélica Signor Mendes

Coordenador do Curso Lucas da Silva
Domingues
UTFPR – Dois Vizinhos

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por me abençoar e me iluminar durante essa trajetória. Agradecer aos meus pais, Julceu e Sandra, por me proporcionar essa oportunidade de cursar o ensino superior, por me apoiarem em todas as minhas escolhas, acreditando e confiando no meu potencial. Agradecer por estarem ao meu lado acima de tudo, muito obrigada.

Ao professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro, por todos os ensinamentos passados, pelas orientações, pela paciência. És uma pessoa que admiro e respeito muito, desde o início da graduação.

Agradecer ao meu namorado, Thiago Augusto Peron, por total apoio e paciência em todos os momentos, comemorando nas vitórias e aconselhando nas dificuldades, por me ajudar e estar ao meu lado sempre.

Aos meus amigos, em especial a Landra e a Viviann, pelo companheirismo desde o início, pelas ajudas em momentos que precisei e por saber que serão pessoas em que posso confiar.

A todos que de uma maneira ou de outra, estiveram do meu lado ou contribuíram de alguma forma, fica aqui o meu muito obrigada.

EPÍGRAFE

“Que vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

BRUZAMARELLO, Janaína. **Potencial de Fosfitos na Indução da Resistência Sistêmica Adquirida em plantas de Soja**. 2016. 29f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

O uso dos fosfitos vem demonstrando potencial no controle de doenças em diversas culturas, tanto pelo seu efeito direto aos patógenos quanto pela ativação da indução de resistência em plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de produtos à base de fosfitos de potássio, cobre e manganês, como também o indutor comercial Acibenzolar-S-Metyl (ASM), na ativação da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) em plantas de soja, inoculadas com esporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi*, agente etiológico da ferrugem asiática. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial (5 tratamentos x 5 tempos de coleta de material), sendo os tratamentos, constituídos por fosfito de potássio 0,002% (Ultra K[®]), fosfito de manganês 0,002% (Ultra Mn[®]), fosfito de cobre 0,002% (Cubo[®]), Acibenzolar-S-Metil (0,005%) e a testemunha (água destilada), em quatro repetições. O experimento foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, em casa de vegetação. A cultivar de soja foi a Nidera 5909, semeada em vasos com capacidade de 10 litros. As plantas foram conduzidas até o estágio fenológico R1 (início do florescimento) momento em que receberam os tratamentos. Antes e após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas coletas de materiais vegetais para as análises bioquímicas, em intervalos de 24, 48, 96 e 192 horas. A inoculação dos esporos da ferrugem asiática foi realizada em 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Avaliou-se a atividade de três enzimas relacionadas à ativação da RSA, fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinase e β -1,3 glucanase.. Os resultados demonstraram que os fosfitos a base de potássio, cobre, manganês e o ASM, possuem capacidade de ativar enzimas relacionadas à patogenicidade, sensibilizando assim a ativação da Resistência Sistêmica Adquirida em plantas de soja. Tais ativações apresentam especificidade de ação, o que foi constatado em tempos distintos de ativação da defesa das plantas, bem como atuam em mecanismos distintos de defesa, seja na rota dos fenilpropanoides pela ativação da FAL, ou de enzimas hidrolíticas, demonstrado pela ativação da quitinase e β -1,3 glucanase.

Palavras-chave: *Glycine max*, resistência sistêmica adquirida, controle alternativo.

ABSTRACT

BRUZAMARELLO, Janaína. **Phosphites potential for induction of Systemic Acquired Resistance in Soybean plants**. 2016. 29f. Term Paper (Graduate in Agronomy) – Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

The use of phosphite has demonstrating potential in the control of diseases in different cultures, as much direct effect on pathogens as activation of induction resistance in plants. This present study had as objective to evaluate the potential of products based on potassium phosphite, copper and manganese, as well as a commercial inducer Acibenzolar-S-Metyl (ASM), the activation of the Systemic Acquired Resistance (SAR) in soybean plants, inoculated with spores of *Phakopsora pachyrhizi*, the etiologic agent of soybean rust. The used experimental design was completely randomized in a bifactorial scheme (5 treatments x 5 time of collection material), being treatments, was consisting of potassium phosphite 0.002% (Ultra K 10®), manganese phosphite 0.002% (Ultra Mn 10®), copper phosphite 0.002% (Cubo 700®), Acibenzolar-S-Methyl (0.005%) and untreated plants (distilled water), with four replications. The experiment was conducted at the Federal Technological University of Paraná (UTFPR), located in Dois Vizinhos – PR, in the greenhouse. The soybean cultivar used was Nidera 5909, seeded in 10 liter capacity vases. The plants was conducted up to the phenological stage R1 (beginning of flowering) moment of was receiving the treatments. Before and after the application of treatments, samples was taken of plant material for biochemical analysis, at intervals of 24, 48, 96 and 192 hours. The inoculation of the asiatic rust spores was carried out in 48 hours after treatment application. Assessed whether the activity of three enzymes related to activation SAR, phenylalanine ammonia-lyase (FAL), chitinase and β -1,3 glucanase. The results demonstrated that the base phosphite of potassium, copper, manganese and ASM, has capacity to activate enzymes related to pathogenicity, thereby sensitizing the activation of Systemic Acquired Resistance in soybean plants. Such activations present specificity of action, which was found at different activation time of the protection of plants and act in different defense mechanisms, both the route of phenylpropanoids by activating the FAL, or hydrolytic enzymes, demonstrated by activation of chitinase and β -1,3 glucanase.

Key words: *Glycine max*, systemic acquired resistance, alternative control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sintoma visual da ferrugem asiática	13
Figura 2 – Soja em V4, momento do raleio	20
Figura 3 – Análises bioquímicas: Maceração das amostras (A), material vegetal após a centrifugação (B), leitura da absorbância em espectrofotômetro (C e D)	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	A SOJA (<i>Glycine max</i>).....	11
2.2	FERRUGEM ASIÁTICA (<i>Phakopsora pachyrhizi</i>)	12
2.3	FOSFITOS.....	13
2.4	INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	14
2.5	RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA	15
2.6	FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (FAL).....	16
2.7	ENZIMAS HIDROLÍTICAS RELACIONADAS À PATOGENICIDADE	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1	LOCAL DE EXECUÇÃO.....	18
3.2	OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO DO PATÓGENO	18
3.3	CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	18
3.4	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	20
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5	CONCLUSÕES	27
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) se expandiu no Brasil a partir de 1970, pela indústria de óleo e a demanda do mercado internacional. Atualmente, o Brasil se encontra como segundo maior produtor mundial da cultura, havendo potencial para expansão territorial (CONAB, 2015).

A produtividade é afetada por inúmeros fatores, sendo as doenças, responsáveis pela redução de 15 a 20%, podendo chegar a 100% de perdas. A ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) é a doença mais danosa, causando desfolha precoce e comprometendo o enchimento de vagem e o peso de grãos (EMBRAPA, 2013).

Com o uso intensivo de fungicidas no controle de doenças, populações resistentes de fitopatógenos foram selecionadas no campo (XAVIER et al., 2013; SCHMITZ et al., 2014). Nesse sentido, a eficiência de fungicidas vem diminuindo, variando de 59 a 69%, de acordo com pesquisas realizadas na safra 2014/15 (GODOY, et al. 2015).

Assim, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos, associando aos fungicidas, indutores de resistência como o Acibenzolar-S-Metil (DEBONA et al., 2009; CARVALHO et al., 2013) ou ainda, mais recentemente, produtos como os fosfitos, na busca de melhorar a eficiência dos fungicidas no controle de doenças, seja pela ação direta sobre os patógenos ou de indução de resistência (CARMONA; SAUTUA, 2011; NEVES; BLUM, 2014).

O fosfito (P_2O_5 – pentóxido de fósforo) origina-se da reação de neutralização do ácido fosforoso (H_3PO_3) por uma base, onde a planta o absorve rapidamente. A base indicará o fosfito que será formado, como o hidróxido de potássio que forma o fosfito de potássio (MENEGETTI, 2009).

Inicialmente os fosfitos foram estudados como fertilizantes, baseados em fosfitos de Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Potássio (K), por serem fontes de nutrientes nos cultivos. Posteriormente, descobriu-se o controle de doenças radiculares, inibindo o fungo *Phytophthora* e ativando o sistema de defesa vegetal (LOVATT; MIKKELSEN, 2006).

As plantas possuem o poder de reagir às agressões das doenças, mediante as respostas de defesa, as quais são ativadas pela interação de uma molécula elicitadora ou indutora, e as proteínas da membrana da célula vegetal. Essas respostas estão associadas a reações bioquímicas e fisiológicas, as quais promovem a defesa vegetal, sendo denominada de indução de resistência (DIAS; RANGEL, 2007).

Dentre as enzimas que atuam na ativação, estão a fenilalanina amônia-liase, a qual atua na rota dos fenilpropanóides na síntese de compostos fenólicos, como as fitoalexinas, e a síntese de lignina. Ainda, a β -1,3 glucanase e a quitinase, enzimas hidrolíticas que atuam na degradação da parede celular do patógeno, dificultando ou impedindo sua ação patogênica, bem como estão diretamente relacionadas à ativação da RSA (DURRAN; DONG, 2004; LABANCA, 2002).

O efeito dos fosfitos na cultura da soja ainda é carente de informações, considerando seu potencial como indutor de resistência, havendo a necessidade de informações que permitam demonstrar a efetividade de sua capacidade de ativação de rotas de defesas vegetais.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial dos fosfitos a base de potássio, cobre, manganês e o ASM, no comportamento das enzimas relacionadas à patogenicidade, e com isso o processo de ativação da Resistência Sistêmica Adquirida em plantas de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A SOJA (*Glycine max*)

Planta melhorada por cientistas da antiga China, a soja hoje cultivada é diferente de seus ancestrais, a qual se desenvolvia ao longo do Rio Yangtse. A evolução foi permitida por cruzamentos naturais entre duas espécies selvagens que foram melhoradas e domesticadas. Introduzida no Brasil via Estados Unidos, em 1882, seus estudos eram considerados como uma planta forrageira, produzindo grãos eventualmente para a alimentação de animais. O primeiro registro do plantio no Brasil foi em 1914, no município de Santa Rosa – RS, porém, somente 40 anos depois que passou a destacar-se economicamente (EMBRAPA, 2002).

A exploração da oleaginosa se iniciou na região Sul do país, sendo encontrada atualmente nos mais variados ambientes, como o cultivo no Cerrado (FREITAS, 2011, p. 01). Por ser a principal *commodity* agrícola do país, possivelmente por alcançar quase 50% dos créditos financiados para lavouras de oleaginosas, a região Centro-Oeste é a maior produtora do país, seguida pela região Sul e Nordeste (CONAB, 2015). Além da contribuição com uma parcela significativa das exportações, inúmeras famílias das mais diversas classes econômicas dependem diretamente da sua produção, pela geração de empregos no complexo de produção, transporte e industrialização (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

As exportações totais foram estimadas em 50 milhões de toneladas para a safra 2014/2015, com a produção estimada de 96,27 milhões de toneladas, 3,44 milhões de toneladas foi o estoque de soja em grãos devido ao aumento das exportações. A região Sul do Brasil é a segunda maior produtora pelas condições de temperatura e regime de chuvas adequadas. No Paraná, com a melhora do clima ligado ao pacote tecnológico, a produção passou de 2.950Kg ha⁻¹ na safra 2014, para 3.294Kg ha⁻¹ na safra 2015 (CONAB, 2015).

Segundo uma estimativa do último levantamento da CONAB de 2016, a área plantada aumentou de 31 milhões de hectares na safra 2014/2015 para 33,2 milhões de hectares na safra 2015/2016. Quanto a produção da cultura, a safra 2015/2016 atingiu 95,43 milhões de toneladas, registrado em setembro de 2016 (CONAB, 2016).

A soja é conhecida pela extração do óleo vegetal, rico em ácidos graxos e poli-insaturados, e da formação do farelo, o qual possui alto teor proteico, variando de 44 a 48%, usado basicamente para suplementação na alimentação animal (MISSÃO, 2006, p. 10).

2.2 FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*)

Doença mais severa da cultura da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, identificada no Brasil em 2001, a ferrugem asiática causa desfolhamento precoce impedindo a completa formação dos grãos e afetando diretamente a produtividade da mesma (GODOY; MEYER, 2014).

Inicialmente, os sintomas da doença se apresentam como lesões foliares, com a presença de urédias que posteriormente irão se abrir e liberar os uredosporos (forma de disseminação), ocasionando desfolha precoce (GODOY, et al. 2016). Os uredosporos possuem coloração cristalina inicialmente, onde posteriormente tornam-se beges, sendo acumulados em torno dos poros ou são disseminados pelo vento, transmitindo a doença para lavouras próximas. As urédias que cessam a esporulação apresentam as pústulas, com poros abertos, onde permite a diferenciação de outras doenças que também formam alo amarelado, como a mancha parda (*Septoria Glycines*) (YORINORI; PAIVA, 2002).

As urédias, conhecidas também como pústulas, inicialmente possuem a coloração castanho-claro e avançam a uma coloração castanho-escuro, como mostra a figura 1, onde posteriormente abrem um microporo para a liberação dos uredosporos, que se acumulam em torno do poro e são carregados pelo vento, permitindo assim a disseminação da doença (VIDOR, C. et al, 2003).

A sintomatologia se faz presente desde os estádios vegetativos da soja, mesmo que mais frequente no período de florescimento até o final do período de enchimento de grãos, afetando diretamente o peso final do grão. Inicialmente as pústulas globosas são de tamanhos reduzidos e as lesões formadas classificam-se em TAN (sem a formação de necroses foliares ao redor da estrutura) e RB (*reddish brown*, necrose visível com formato angular delimitando as nervuras) (UGALDE, 2005, p. 06).

Populações menos sensíveis ao grupo de fungicidas inibidores da biossíntese do ergosterol estão sendo observadas desde 2007/08, devendo priorizar estratégias antirresistência, preservando novas moléculas antifúngicas (GODOY; MEYER, 2014). Segundo o levantamento da safra 2015/2016, quanto a eficiência de fungicidas no controle da ferrugem asiática, recomenda-se a utilização de estratégias antirresistência do fitopatógeno, assim como não aplicar o mesmo fungicida mais que duas vezes em sequência (GODOY, et al. 2016). Outro meio alternativo de controle que vêm sendo estudado nos últimos anos é o uso de fosfitos no controle de doenças em diversas culturas, associados ou não a fungicidas, onde vêm promovendo maior eficiência, além de não possuírem efeito residual, ou seja, não afeta o meio ambiente.

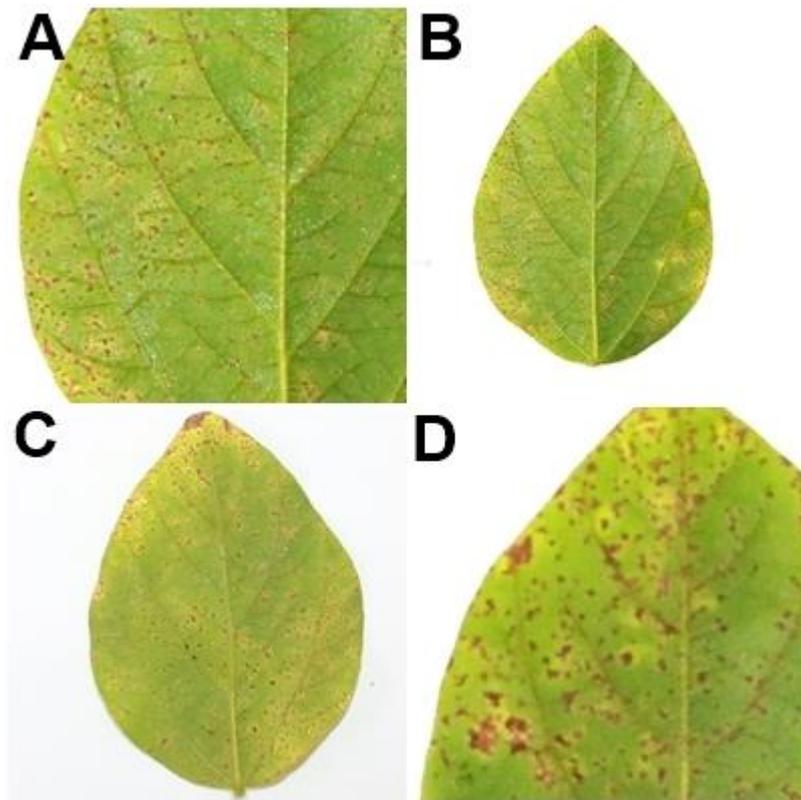


Figura 1 – Sintoma visual da ferrugem asiática

Fonte: O autor (2016).

2.3 FOSFITOS

Uma substância é classificada como fungicida quando apresenta toxicidade sobre o patógeno que se deseja controlar. Usualmente é realizada a associação da

palavra fungicida com a morte do fungo. Entretanto, há substâncias que exercem o controle do fungo inibindo o crescimento micelial ou a esporulação, sendo chamadas de substâncias fungistáticas ou antiesporulantes. Em 1970, na França, foi descoberto que os fosfitos possuem propriedades antifúngicas, por meio de estudos com Fosetyl-Al sobre a requeima da batata, pelo fungo *Phytophthora infestans* (CARMONA; SAUTUA, 2011).

Os fosfitos P_2O_5 (pentóxido de fósforo) são translocados na planta pelo xilema e posteriormente pelo floema, pela neutralização do ácido fosforoso H_3PO_3 por uma base (hidróxido de potássio, hidróxido de amônio ou hidróxido de sódio), formando fosfito de potássio, por exemplo. Devido ao alto grau de mobilidade e solubilidade, são rapidamente absorvidos pela planta com deslocamento pelas membranas, favorecendo uma diversidade de métodos de aplicação, de acordo com a estrutura da planta e o patógeno a ser controlado (MENEGHETTI, 2009, p. 20).

Segundo Neves (2006), os fosfitos possuem influência na severidade da ferrugem asiática a qual avança de forma mais lenta. O seu uso torna-se uma alternativa o seu uso para o controle de doenças, pela estimulação da defesa na planta, em virtude da rápida absorção, alta sistemicidade, aumento da qualidade nutricional, baixo custo e efetividade de controle, podendo ser uma ferramenta no controle da ferrugem asiática (MENEGUETTI, 2009, p. 22).

2.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

O significado da indução de resistência indica um fenômeno ativo que provoca resistência sistêmica em plantas suscetíveis. Podem envolver uma ou mais vias metabólicas. O termo “mecanismos de defesa ativados” pode ser usado se os indutores são organismos patogênicos ou produtos químicos não patogênicos (TUZUN; BENT, 2006). Como a resistência induzida aumenta essa atividade de determinadas rotas metabólicas específicas, pode ser confirmado o estado de indução de plantas expostas a agentes indutores por meio de enzimas-chaves que atuam na resistência de plantas contra patógenos (MACAGNAN et al., 2008, p. 34).

Para que se tenha uma resistência eficaz, as unidades devem possuir todos os genes necessários e que todos os tratamentos sejam capazes de ativar rotas de

defesa diretamente, sensibilizando a planta de tal maneira que permita a expressão rápida de um vasto conjunto de defesas após a infecção pelo patógeno (WALTERS; NEWTON; LYON, 2007, p. 01). Sua característica é a redução da taxa de epidemia devido à diminuição do número e tamanho das lesões, diminuição da produção de esporos e aumento do período latente. Como consequência, torna-se reduzida a quantidade de inóculo, subsequente têm-se a queda da intensidade da doença (WANG; SILVA, 1992 apud SILVA; JULIATTI; SILVA, 2007).

Dentro da indução de resistência, pode-se citar a indução de resistência sistêmica adquirida, sistêmico e manifesta-se em locais diferentes do inoculado, deixando a planta em estado de alerta. Outra forma é a resistência sistêmica induzida, a qual depende de um agente indutor, ocasionada por agentes necrotróficos e que provocam intensos danos celulares (CAMARGO, 2011).

2.5 RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) é um mecanismo de defesa induzido, que proporciona proteção de longa duração contra uma ampla diversidade de microrganismos. Sua ação é descrita pela expressão de genes que codificam respostas da planta ao ataque de patógenos (DURRAN; DONG, 2004).

Esse mecanismo é realizado por meio do sítio de infecção que promove a necrose o qual irá liberar um sinal, sendo manifestado ou produzido, que explica a resistência sistêmica adquirida, gerando a indução de reações de defesa na planta contra agressões subsequentes. Esse método diferencia-se da Indução de Resistência Induzida (RSI) em que o indutor não provoca sintomas, como a necrose, porém, ocorre a indução da planta sistemicamente (SILVA et al., 2008, p.10).

Para desencadear os processos de defesa a planta inicia com o reconhecimento do patógeno, liberando sinais exógenos, passando continuamente por mecanismos de transdução desses sinais, altera-se o metabolismo celular vegetal em consequência a uma extensa reprogramação, modificando a atividade gênica (WALTERS; NEWTON; LYON, 2007, p. 01). Posteriormente há um aumento dos sinalizadores responsáveis pela síntese de substâncias de defesa, como o ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno. Em seguida, ocorrem respostas de defesa,

divididas em barreiras bioquímicas e estruturais, ambas pré e/ou pós-formados quanto à chegada do patógeno (FILHO, 2003; SILVA et. al.; 2008, p. 19).

Como barreiras estruturais pré-formadas pode-se citar cutículas, tricomas, vasos condutores e estômatos, e como pós-formadas a lignificação, formação de papilas e suberificação. As barreiras bioquímicas pré-formadas abrangem a produção de fenóis, glicosídeos cianogênicos e fenólicos, alcalóides, fototoxinas, inibidores proteicos e β -1,3 glucanases. Já pós-formadas, há o acúmulo de fitoalexinas e proteínas PR (relacionadas a patogênese), ou formação de radicais livres. A atuação desses mecanismos possuem o propósito de evitar ou atrasar a entrada de microrganismos na planta, assim como a criação de condições adversas à colonização do patógeno nos tecidos vegetais (SILVA et. al., 2008, p.19; PASCHOLATI; LEITE, 1995).

2.6 FENILALANINA AMÔNIA-LIASE (FAL)

A RSA possui proteínas relacionadas à patogenicidade, como a fenilalanina amônia-liase, responsáveis pelo acúmulo de lignina no tecido adjacente ao local de penetração do patógeno (DURRAN; DONG, 2004). A formação de lignina pode-se dar pela ligação de hidroxicinimatos, por meio da esterificação, servindo como apoio para a posterior formação da lignina, pela polimerização de radicais livres que irão se ligar (STRACK, 1997). Formando a lignina e em tecidos com resistência induzida, vai promover uma alteração qualitativa de fenóis formados, oferecendo maior qualidade nas reações de defesa (LABANCA, 2002, p.29).

O aumento da FAL promove um aumento da síntese de fenilalanina, provocando um aumento do coumarato. O coumarato pode permanecer na via dos fenilpropanóides ou incrementar a síntese de lignina, como pode desviar-se para produção de outros fenóis. Esse processo é possível porque a FAL alimenta outras vias metabólicas (LABANCA, 2002, p.29).

Segundo Silva, et al (2007), na indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos, enzimas de fenilalanina amônia-liase, polifenoloxidase e quitinase, diminuíram as atividades do patógeno (*Ralstonia solanacearum*), no controle da murcha bacteriana, em plantas tratadas com indutores e inoculadas com a bactéria.

2.7 ENZIMAS HIDROLÍTIICAS RELACIONADAS À PATOGENICIDADE

Dentre as inúmeras enzimas hidrolíticas relacionadas à patogenicidade as quitinases e as β -1,3 glucanases são as mais atuantes, possuindo envolvimento com a rota da síntese das fitoalexinas como a fenilalanina amônia-liase, citada anteriormente (DURRAN; DONG, 2004). Essas enzimas degradam as paredes celulares do patógeno pela ação hidrolítica que os mesmos possuem, quebrando polímeros estruturais, de quitina e glucana, respectivamente, restringindo o seu desenvolvimento, possivelmente pelo potencial antimicrobiano (LABANCA, 2002). O aumento da concentração de quitinases e β -1,3 glucanases possuem relação direta com a resistência local e sistêmica, sendo observada em diferentes interações patógeno-hospedeiro, indicando que as hidrolases podem atuar na limitação do patógeno (GUZZO, 2004, p. 160).

Conforme os resultados obtidos por Guzzo (2004), as proteínas-RP, especificamente quitinases e β -1,3 glucanases, podem reduzir a incidência do patógeno nas plantas de cafeeiro, supostamente pelo controle do desenvolvimento da *Hemileia vastatrix*, responsável pela ferrugem alaranjada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Dois Vizinhos, localizada na região Sudoeste do Paraná, a qual se encontra a 509 metros de altitude, pertencendo ao 3º Planalto Paranaense com clima Cfa (Subtropical úmido mesotérmico). As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia da instituição.

3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO DO PATÓGENO

A coleta do patógeno para posterior inoculação, foi proveniente de folhas infectadas presentes em lavouras do campus, em um estágio de desenvolvimento avançado, onde retirou-se folhas com sintomas visuais e alocou-se em caixas *gerbox* contendo papel filtro umedecido com água destilada, para o estabelecimento de câmara úmida, mantido a 26 °C em BOD (Biochemical Oxygen Demand) com fotoperíodo de 12 horas, promovendo ambiente favorável para a esporulação. Preparou-se a solução de esporos, de *P. pachyrhizi* na concentração de $0,9 \times 10^5$ uredinosporos mL⁻¹, dispersos em água destilada com Tween (0,5%) e aplicado 48 horas após a aplicação de todos os tratamentos.

3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

A cultivar de soja utilizada foi a NIDERA 5909 (convencional), com peso de mil grãos totalizando 179 gramas. A escolha baseou-se na cultivar mais utilizada na região. A soja foi semeada em vasos de 10 litros contendo solo classificado em latossolo vermelho, os quais foram acomodados em bancadas em casa de vegetação

automatizada, dispondo de irrigação por gotejamento do tipo espaguete. A taxa de semeadura foi de 10 sementes por vaso, com posterior raleio em estágio V5, passando para 6 plantas por vaso, como mostra a figura 2. As sementes não tiveram nenhum tratamento químico, para não haver efeito dos produtos na ativação de resistência das plantas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema bifatorial (5 tratamentos x 5 tempos de coleta de material), sendo os tratamentos, constituídos de fosfito de potássio 0,002% (Ultra K[®]), fosfito de manganês 0,002% (Ultra Mn[®]), fosfito de cobre 0,002% (Cubo[®]), Acibenzolar-S-Metil (0,005%) e a testemunha (água destilada), em quatro repetições. A aplicação foi via micro-aspersão na parte aérea da planta, sendo 2mL planta⁻¹, considerando uma na dose de 150L ha⁻¹.

Ao atingir o estágio fenológico R1 (início do florescimento), foi realizada a primeira coleta do material vegetal e subsequente, a aplicação de todos os tratamentos. Em intervalos de 24, 48, 96 e 192 foram realizadas as demais coletas do material, sendo que, em 48 horas antes da coleta, foi efetuada a inoculação dos esporos de *P. Pachyrhizi*, em todos os tratamentos.

Para retirada do material vegetal, priorizou-se a escolha de folhas saudas e não injuriadas no terço médio da planta, coletando 2 folhas por planta, sendo essas com o peso em torno de 0,1 grama, as quais foram acondicionadas em papel alumínio e armazenadas em freezer, para posterior análises bioquímicas.



Figura 2 – Soja em V4, momento do raleio
Fonte: O autor (2016).

3.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As amostras de tecido foliar coletadas na casa de vegetação, inicialmente congeladas, foram maceradas em almofariz com 5mL de solução tampão borato de sódio 0,1 M (pH 8,8), juntamente com 0,3 g de micropérolas de vidro, 0,2 g de resina Dowex 1-X8 e 0,3 g de Polivinilpolipirrolidona (PVPP). Posteriormente, o material foi centrifugado (20.000g / 30 min a 4 °C) e o sobrenadante coletado, para quantificação das proteínas totais, fenilalanina amônia-liase, quitinase e β -1,3-glucanase.

Utilizou-se o teste de BRADFORD (1976) para quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 595nm, com soro albumina bovina como padrão.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi de acordo com a metodologia descrita por Kuhn (2007, p.47), por meio da quantificação

colorimétrica do ácido trans-ciânico liberado do substrato fenilalanina. Utilizou-se 0,25g da amostra juntamente com 3,0mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0 acondicionados em tubos ependorfe e centrifugado por 10 min a 4 °C a 6000rpm, subsequente uma alíquota de 200µL foi repassada por tubo de ensaio, com mais 3,0mL do tampão de extração, onde a solução foi agitada em vortéx, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, transferiu-se 1,5mL para outro tubo de ensaio, com mais 1,0mL do tampão de extração e 0,5mL de fenilalanina. Agitou-se novamente em vórtex para homogeneização. Logo após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 min a 40 °C, ao retirar, colocou-se em banho-maria de gelo por 5 min para interromper a reação e assim realizar a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinase, seguiu-se os procedimentos descritos por Wirth e Wolf (1992), com o uso de 200 µL de “CM-chitin-RBV” (2,0 mg mL⁻¹), 200 µL do sobrenadante e 600 µL de tampão acetato. Posteriormente, incubado por 20 minutos em uma temperatura de 40 °C, onde em seguida paralisou-se a reação com a adição de 200 µL da solução de HCl 1,0 M. Avaliou-se a atividade através da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta 5R -RBV (Sigma Aldrich®), oriunda da quitina carboximetilada marcada pelo remazol brilhante violeta. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 595 nm.

Para determinação das atividades de β-1,3-glucanase nos extratos utilizou-se a metodologia de Wirth e Wolf (1992), utilizando como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - 4 mg.mL⁻¹), com o uso de 200 µL do sobrenadante, 600 µL de tampão acetato e 200 µL de CM-curdlan-RBB (4,0 mg mL⁻¹). Posteriormente incubou-se durante 20 minutos a 40 °C, adicionando 200 µL da solução de HCl 1,0 M para paralisação da reação. Em seguida, foi resfriado em gelo e centrifugado a 10.000 g por 5 minutos e realizada a leitura em espectrofotômetro a 550 nm.

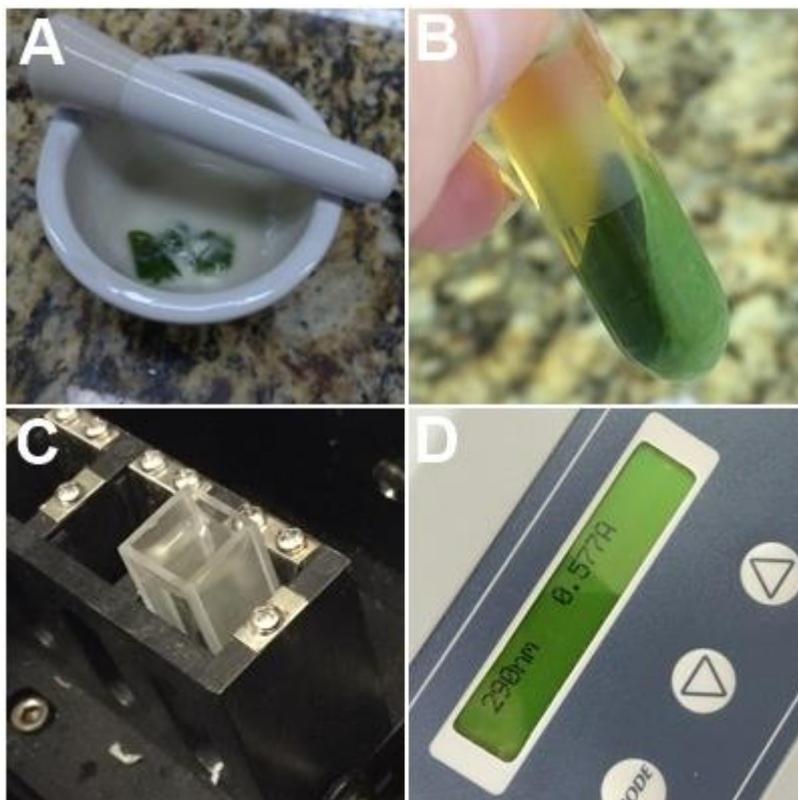


Figura 3 – Análises bioquímicas: Maceração das amostras (A), material vegetal após a centrifugação (B), leitura da absorbância em espectrofotômetro (C e D)

Fonte: O autor (2016).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados quanto à homogeneidade de variância, e posteriormente submetidos análise de variância e quando significativos agrupados pelo teste de médias, devido aos tratamentos serem qualitativos e aos tempos serem distintos, ou seja, definidos, onde não se avalia ao longo do tempo e sim em tempos fixos, tornando-se também qualitativos. O teste utilizado foi o Scott-knott a 5% de probabilidade de erro com uso do programa estatístico Assistat Versão 7.7 *beta*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram interação significativa entre os fatores avaliados. Em 24 horas os produtos já demonstraram interferência na atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL), sendo que o tratamento realizado com fosfito a base de cobre e manganês já demonstraram maiores níveis da enzima, diferindo da testemunha os fosfitos de potássio e o ASM (menor nível de ativação enzimática) (Gráfico 1). Com 48 horas ocorreu o pico de atividade de todos produtos, diferindo da testemunha o fosfito de cobre e manganês. Já com 96 e 192 horas, o único indutor que manteve níveis mais elevados da enzima foi o fosfito de cobre, estatisticamente diferente de todos os tratamentos.

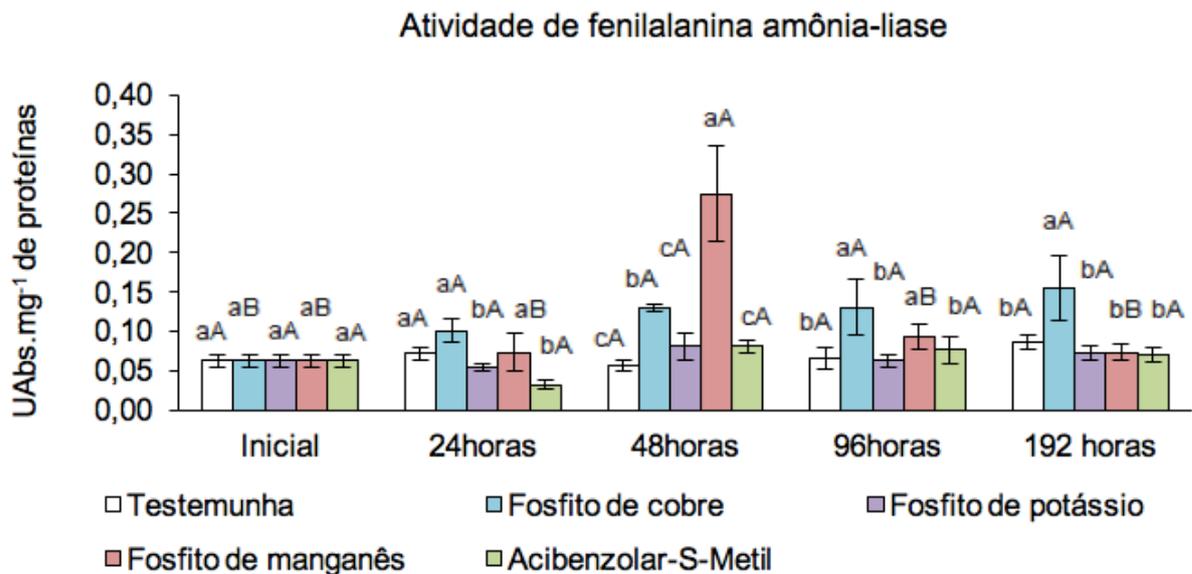


Gráfico 1 - Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) em plantas de soja submetidas a aplicações de diferentes tratamentos e coletadas em intervalos de 0 (tempo inicial), 24, 48, 96 e 192 horas após aplicação. Barras na vertical indicam erro padrão. Letras minúsculas distintas diferem entre si nos tratamentos, letras maiúsculas distintas diferem entre si nos tempos de coleta, pelo teste de Scott- Knott a 5% de probabilidade de erro. Dados foram transformados utilizando raiz quadrada ($\sqrt{\cdot}$). CV = 19,2%. UTFPR - Dois Vizinhos, 2016.

Fonte: O autor (2016).

Tais resultados demonstram que os indutores possuem capacidade de ativar a rota de defesa vegetal dos fenilpropanóides para produção de compostos de defesa. Possivelmente, no caso do fosfito a base de cobre, ocorreu uma potencialização da ativação dessa rota, pois no produto comercial (Cubo[®]), além da presença de fosfito

de cobre na composição, existem aminoácidos, que são cofatores, os quais podem ter ação na rota dos fenilpropanóides, ou até mesmo possam servir de substrato para a constituição de aminoácidos necessários para a ativação da rota.

Em um estudo realizado por Meneghetti, et al. (2010), verificou-se a ineficiência do uso de fosfitos quanto a ativação de mecanismos de defesa da soja contra a ferrugem asiática (*P. pachyrhizi*), por não possuírem interação significativa dos tratamentos com a severidade da doença, número de pústulas.cm⁻² e pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD).

A literatura é carente de informações que permitam comparar os resultados, quando se faz o uso de fosfitos em soja e o comportamento enzimático da FAL, o que nos remete a comparação em outras culturas.

Estudos conduzidos por Monteiro et al. (2014) demonstraram que o fosfito de manganês possui a capacidade de redução da intensidade da ferrugem no cafeeiro, pela indução da transcrição de genes de defesa, como a FAL e o β -1,3 glucanase. No entanto, para o controle da podridão olho de boi em maçã, a FAL não foi induzida pelo uso de fosfito de potássio, segundo um estudo realizado por Spolti et al. (2015).

A atividade da quitinase com 24 horas, o tratamento contendo ASM, ativou a enzima hidrolítica quitinase, mantendo-se elevado até 48 horas. Na coleta em 48 horas todos os tratamentos apresentaram os maiores valores de atividade enzimática de quitinase (Gráfico 2). Para o fosfito de cobre, a maior atividade ocorreu com 48 horas mantendo-se ativado até 192 horas. Esses resultados demonstram que todos os produtos possuem o potencial de ativar a enzima hidrolítica quitinase, tal fato constata que as respostas ocorreram como processo de defesa ao patógeno inoculado, no caso a ferrugem rica em quitina em sua parede celular.

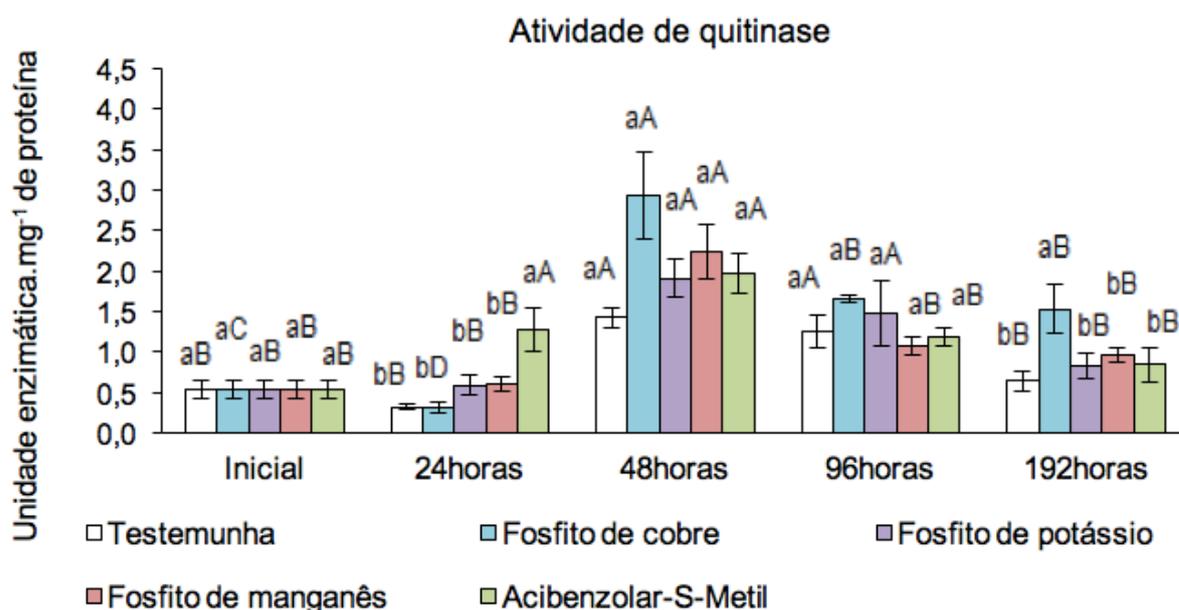


Gráfico 2 - Atividade da enzima quitinase em plantas de soja submetidas a aplicações de diferentes tratamentos e coletadas em intervalos de 0 (tempo inicial), 24, 48, 96 e 192 horas após aplicação. Barras na vertical indicam erro padrão. Letras minúsculas distintas diferem entre si nos tratamentos, letras maiúsculas distintas diferem entre si nos tempos de coleta, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Dados foram transformados utilizando raiz quadrada ($\sqrt{}$). CV = 20,6%. UTFPR - Dois Vizinhos, 2016.
Fonte: O autor (2016).

Da mesma forma que na enzima FAL, a literatura não permite comparações da atividade da quitinase na cultura da soja, o que demonstra a necessidade de investigações como tal. De acordo com Nascimento et. al (2016), a atividade da quitinase possui maior ativação pelo ASM, quando comparada ao fosfito de potássio e o sílcio, no controle da mancha marrom em arroz. Entretanto, para Pereira (2009), houve um aumento da atividade da quitinase com o uso de diferentes doses de fosfito de potássio, no controle do míldio na videira. Para Roma (2013), houve redução da quitinase no uso de fosfito em diferentes concentrações, para o controle do micélio do patógeno (*Rhizopus stolonifer*) em bagas de uva, como hospedeira.

Para enzima β -1,3 glucanase, o fosfito a base de manganês demonstrou maior atividade com 48 horas, já para o ASM com 96 horas, e o fosfito a base de cobre com 192 horas (Gráfico 3). Esses resultados demonstram que todos os produtos apresentam capacidade de ativar a β -1,3 glucanase, sendo que o comportamento é distinto em relação ao tempo de indução, fato característico considerando as diferentes composições dos produtos.

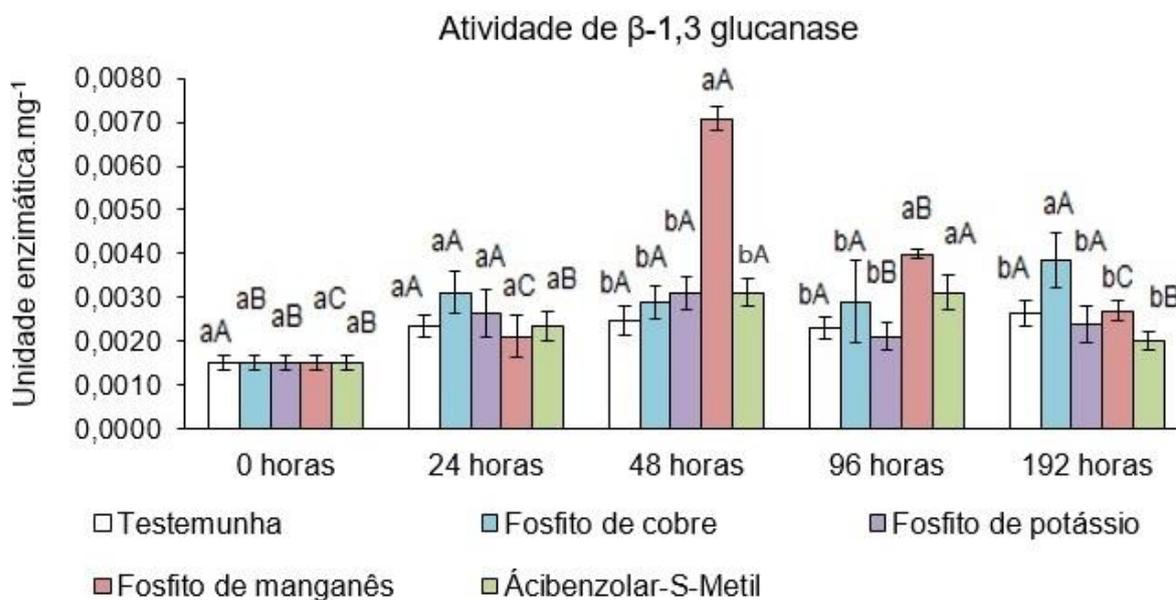


Gráfico 3 - Atividade da enzima β -1,3 glucanase em plantas de soja submetidas a aplicações de diferentes tratamentos e coletadas em intervalos de 0 (tempo inicial), 24, 48, 96 e 192 horas após aplicação. Barras na vertical indicam erro padrão. Letras minúsculas distintas diferem entre si nos tratamentos, letras maiúsculas distintas diferem entre si nos tempos de coleta, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Dados foram transformados utilizando raiz quadrada ($\sqrt{\quad}$). CV = 13,6%. UTFPR - Dois Vizinhos, 2016.

Fonte: Autor (2016).

Importante também ressaltar que os produtos não priorizam somente uma rota de defesa, pois além de ocorrer a atividade da quitinase ocorreu a da β -1,3 glucanase, ambos mecanismos importantes na degradação da quitina e glucana presentes na parede celular do patógeno. Segundo Nascimento et. al (2016), a ativação da β -1,3 glucanase foi significativamente maior utilizando ASM, quando comparado ao fosfito de potássio e ao silício, no controle da mancha marrom (*Bipolaris oryzae*) em arroz. Já para Monteiro (2011), o fosfito de manganês induziu maior atividade da β -1,3 glucanase a partir da inoculação de *Hemileia vastatrix*, aos 8 e 9 DAP, havendo maior atividade antes da inoculação.

Os resultados nos permite afirmar que os mecanismos de defesa estudados foram eficientemente ativados, seja a rota dos fenilpropanoides ou a ativação de enzimas hidrolíticas.

Dessa forma, os resultados nos remetem para novos estudos, considerando o potencial desses produtos na ativação de mecanismos de defesa, se efetivamente constituem mecanismos de que permitam a redução da incidência ou severidade da doença.

5 CONCLUSÕES

O fosfito a base de manganês possuiu maior interferência na atividade da fenilalanina amônia-liase e enzima hidrolítica β -1,3 glucanase, com um pico de ativação em 48 horas, para ambas. Quanto a enzima hidrolítica quitinase, o fosfito a base de cobre possuiu maior potencial de ativação, com pico de atividade em 48 horas. Portanto, os fosfitos possuem capacidade de ativar enzimas relacionadas à patogenicidade, sendo que com isso demonstram ativação da Resistência Sistêmica Adquirida em plantas de soja.

Tais ativações, demonstram que os fosfitos apresentam especificidade de ação, o que foi constatado em tempos distintos de ativação da defesa das plantas, bem como atuam em mecanismos distintos de defesa, seja a rota dos fenilpropanoides pela ativação da FAL, ou de enzimas hidrolíticas, demonstrado pela ativação da quitinase e β -1,3 glucanase.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOAVA, L. P; KUHN, O. J; PASCHOLATI, S. F; PIERO, R. M. Di; FURTADO, E. L. Efeito de indutores bióticos e abióticos na atividade de quitinase e peroxidase e no controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em eucalipto. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v.36, n.2, p. 168-172, 2010.

CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L; REZENDE, J. A. M; FILHO, A. B. (Ed). **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 2011. p. 119-132.

CARMONA, M.; SAUTUA, F. Os fosfitos no manejo de doenças nas culturas extensivas. **Revista Plantio Direto**. nov.-dez. 2011. Disponível em: <<http://wp.ufpel.edu.br/consagro/files/2012/02/Os-fosfitos-no-manejo-de-doen%C3%A7as-nas-culturas-extensivas.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2016.

CARMONA, M; SAUTUA, F. Os fosfitos no manejo de doenças nas culturas extensivas. **Revista Plantio Direto**, Buenos Aires, p. 19-22, nov/dez, 2011.

CARVALHO, B. O; OLIVEIRA, J. A; CARVALHO, E. R; ANDRADE, V. De; FERREIRA, T. F; REIS, L. V. Action of defense activator and foliar fungicide on the control of asiatic rust and on yield and quality of soybean seeds. **Journal of Seed Science**. v. 35, n. 2, p.198-206, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira: GRÃOS**. Brasília: CONAB, p. 1-134, 2015.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. V. 3, N. 12, set. 2016.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Soja: Análise da conjuntura agropecuária**. Paraná: CONAB, nov. 2015.

DEBONA, D; FIGUEIRÓ, G. G; CORTE, G. D; NAVARINI, L; DOMINGUES, L. Da S; BALARDIN, R. S. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja. **Summa Phytopathol**. Botucatu, v. 35, n. 1, p.26-31, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v35n1/v35n1a04.pdf>>. Acesso em: 23 abr. 2016.

DIAS, G. B; RANGEL, T. B. A. Indução de resistência em plantas: o papel do óxido nítrico. **Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia**, Natal, n.3, p.1-8, 2. sem. 2007. Disponível em: <http://recitec.cefetes.br/artigo/documentos/RECITEC_III_Artigo04.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2016.

DURRAN, W. E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185-209, 2004.

EMBRAPA – Embrapa Soja. **Tecnologias de produção de soja - Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Sistemas de Produção, 16; Londrina: Embrapa Soja, 2013, 265p.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de Produção de Soja: Região Central do Brasil 2003**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 199p. (Sistemas de Produção 1).
FARIAS, J. R. B; NEPOMUCENO, A. L; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da Soja**. Circular Técnica – Embrapa, Comunicado Técnico 48, ISSN 1516-7860. Londrina, 2007.

FILHO, J. A. C; **Efeito de extratos de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) e dos indutores de resistência ácido salicílico, acilbenzolar-s-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (Telemorfo: *Guignardia citricarpa*)**. 2003. 145f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

FREITAS, M. de C. M. de. A cultura da soja no Brasil: O crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-12, 2011.

GODOY, C. V; MEYER, M. C. **Resistência a fungicidas na cultura da soja**. EMBRAPA, In: Fundação Meridional. 2014.
GODOY, C. V; UTIAMADA, C. M; MEYER, M. C; CAMPOS, H. D; FORCELINI, C. A; PIMENTA, C. B. **Eficiência dos fungicidas multissítios e fertilizantes no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2015. (Circular Técnica, n. 113). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1027879/1/CT113.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2016.

GODOY, C. V; UTIAMADA, C. M; MEYER, M. C; CAMPOS, H. D; FORCELINI, C. A; PIMENTA, C. B; BORGES, E. P; JUNIOR, E. R. de A; SIQUERI, F. V; JULIATTI, F. C; FAVERO, F; FESKA, H. R; GRIGOLLI, J. F. J; JUNIOR, J. N; CARNEIRO, L. C; SILVA, L. H. C. P. da; SATO, L. N; CANTERI, M. G; VOLF, M. R; DEBORTOLI, M. P;

GOUSSAIN, M; MARTINS, M. C; BALARDIN, R. S; FURLAN, S. H; MADALOSSO, T; CARLIN, V. J; VENANCIO, W. S. **Eficiência dos fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/2016: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos.** Londrina-PR. Embrapa Soja, 2016. (Circular Técnica, n. 119). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1050910/1/CT119OL.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2016.

GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemeleia vastatrix*.** 2004. 236f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).** 2002. 118f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).** 2002. 118f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

LOVATT, C. J; MIKKELSEN, R. L. Fosfitos: Qué es? Se puede usar? Qué puede hacer?. **Better Crops With Plant Food.** p. 12-14. Disponível em: <[https://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/\\$webindex/F42BE8104FD8DE5305257348005CB9B9/\\$file/Fosfito.pdf](https://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/$webindex/F42BE8104FD8DE5305257348005CB9B9/$file/Fosfito.pdf)>. Acesso em: 21 abr. 2016.

MACAGNAN, D; ROMEIRO, R. da S; BARACAT-PEREIRA, M. C; LANNA-FILHO, R; BATISTA, G. S; POMELLA, A. W. V. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacauete expostas a dois actinomicetos residentes do filoplano. ***Summa Phytopathol.***, Botucatu, v. 34, n.1, p. 34-37, 2008.

MENEGHETTI, R. C. **Avaliação do fosfito de potássio sobre o progresso de *Phakopsora pachyrhizi* em soja.** 2009. 65f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

MENEGUETTI, R. C; BALARDIN, R. S; CORTE, G. D; FAVERA, D. D; DEBONA, D. Avaliação da ativação de defesa em soja contra *Phakopsora pachyrhizi* em condições

controladas. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 34, n. 4, p. 823-829, jul./ago., 2010.

MISSÃO, M. R. Soja: Origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. Maringá Management: **Revista de Ciências Empresariais**. v.3, n.1, p. 7-15, 2006.

MONTEIRO, A. C. A. **Associação de indutores de resistência para o manejo de ferrugem do cafeeiro e análise bioquímica da resposta de defesa induzida**. 2011. 86f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2011.

MONTEIRO, A. C. A. **Indutores de resistência no manejo da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro (*Coffea arabica*): Análises bioquímicas e moleculares**. 2014. 132f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MUNDSTOCK, C. M; THOMAS, A. L. SOJA: Fatores que afetam o crescimento e rendimento de grãos. **Departamento de Plantas de Lavoura**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. p. 06.

NASCIMENTO, K. J. T.; ARAUJO, L; RESENDE, R. S; SCHURT, D. A; WASHINGTON L. Da S; RODRIGUES, F. De A. Silicon, acidobenzolar-S-methyl and potassium phosphite in the control of brown spot in rice. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 2, p.212-221, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v75n2/0006-8705-brag-1678-4499281.pdf>>. Acesso em: 21 abr. 2016.

NEVES, J. Da S; BLUM, L. E. B. Influência de fungicidas e fosfito de potássio no controle da ferrugem asiática e na produtividade da soja. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 1, p.75-82, jan. – mar. 2014. Disponível em: <http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema/article/view/2720/pdf_88> . Acesso em: 30 mai. 2016.

PASCHOLATI, S. F; LEITE, B. Hospedeiros: Mecanismos de Resistência. In: FILHO, B. A; KIMATI, H; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Ceres, v.1, p.417-453, 1995.

PEREIRA, V. F. **Fosfitos no manejo do míldio da videira: Eficácia e modo de ação**. 2009. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

ROMA, R. C. C. **Fosfito de potássio no controle de doenças pós-colheita em bagas de uva 'Itália' e possíveis mecanismos de ação à *Rhizopus stolonifer***. 2013. 117f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SCHMITZ, H. K; MEDEIROS, C. A; CRAIG, I. R; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p.378-388, jul 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3562/abstract;jsessionid=7C61B070237DD0ACD58E8FD8F3B4A82D.f01t04?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=>>>. Acesso em: 12 abr. 2016.

SILVA, F.A.S. ASSISTAT: Versão 7.7 beta. DEAG-CTRN-UFCG. Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 10 set. 2016.

SILVA, R. F; PASCHOLATI, S. F; BEDENDO, I. P. Indução de Resistência em Tomateiro por Extratos Aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatol. Bras.** 32 (3), maio – jun, 2007.

SILVA, R. A. da; REIS, V. M; BALDANI, J. I; OLIVARES, F. L. Defesa de Plantas contra o Ataque de Fitopatógenos. **Documentos / Embrapa**. Documentos, 250; ISSN 1517-8498. Embrapa Agrobiologia, Seropédica 2008, 49.

SILVA, V. A. S; JULIATTI, F. C; SILVA, L. A. S. Interação entre resistência genética parcial e fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.42, n.9, p.1261-1268, set. 2007.

SPOLTI, P; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M; CAMPOS, A. D; PONTE, E. M. D. Modo de ação de fosfitos de potássio no controle da podridão de olho de boi em maçã. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 41, n. 1, p.42-48, 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v41n1/0100-5405-sp-41-01-00042.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2016.

STRACK, D. Phenolic Metabolism. In: DEY, P. M; HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant biochemistry**. London: Academic Press, 1997. cap.10, p. 387-416.

TUZUN, S; BENT, E. **Multigenic and Induced Systemic Resistance in plants**. 2006. 477p. Bibliografia: p. 04-06. ISBN-10: 0-387-23265-6.

UGALDE, M. G. **Controle de Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da Soja.** 2005. 66f.

VIDOR, C; FONTOURA, J. U. C; ROCHA, C. M. C. da; FILHO, J. M. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2003.** Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 1. 2003. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/index.htm>>. Acesso em 10 out. 2016.

WALTERS, D; NEWTON, A; LYON, G. **Introduction: definitions and some history.** Ed. Blackwell. Oxford, 2007. 258p. (Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection). Bibliografia: p. 01-02. ISBN 978-1-4051-3447-7.

XAVIER, S. A.; CANTERI, M. G.; BARROS, D. C. M.; GODOY, C. V. Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. **Tropical Plant Pathology**, v.38, p. 431-435. set. – out. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/tpp/v38n5/tpp_2013-0020.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2016.

YORINORI, J. T; PAIVA, W. M. **Ferrugem da soja: *Phakopsora pachyrhizi* Sydow.** Londrina-PR. Embrapa Soja, 2002. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/463002/ferrugem-da-soja-phakopsora-pachyrhizi-sydow>>. Acesso em: 15 out. 2016.