

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - DOUTORADO

HAGATA SIQUEIRA HENNIPMAN

PRODUTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO NA  
CANOLA E MANCHA ANGULAR NO FEIJÃO

PONTA GROSSA – PR  
2017

HAGATA SIQUEIRA HENNIPMAN

PRODUTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO NA  
CANOLA E MANCHA ANGULAR NO FEIJÃO

Tese apresentada à Universidade Estadual  
de Ponta Grossa para a obtenção do título de  
Doutor em Agronomia – Área de  
Concentração: Agricultura.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maristella Dalla Pria.

PONTA GROSSA – PR  
2017

**Ficha Catalográfica**  
**Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG**

Hennipman, Hagata Siqueira  
H517      Produtos bióticos e abióticos no  
             controle de mofo branco na canola e mancha  
             angular no feijão/ Hagata Siqueira  
             Hennipman. Ponta Grossa, 2017.  
             171f.

             Tese (Doutorado em Agronomia - Área de  
             Concentração: Agricultura), Universidade  
             Estadual de Ponta Grossa.  
             Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maristella Dalla  
             Pria.

             1.Doença. 2.Severidade. 3.Controle.  
             I.Dalla Pria, Maristella. II.  
             Universidade Estadual de Ponta Grossa.  
             Doutorado em Agronomia. III. T.

CDD: 632.4



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

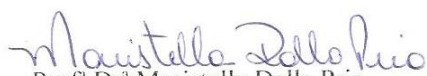
### **CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título da Tese: **“Produtos bióticos e abióticos no controle de mofo branco na canola e mancha angular no feijão”.**

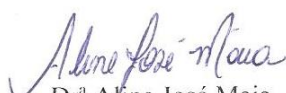
Nome: Hagata Siqueira Hennipman

Orientador: Maristella Dalla Pria

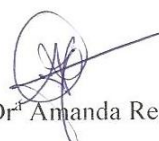
Aprovado pela Comissão Examinadora:

  
Profª Drª Maristella Dalla Pria

  
Profª Drª Cacilda Márcia Duarte Rios Faria

  
Drª Aline José Maia

  
Prof. Dr. Helio Antonio Wood Joris

  
Profª Drª Amanda Regina Godoy  
Baptista

Data da Realização: 28 de Julho de 2017.

Aos meus queridos e amados pais,  
Suzana Siqueira Hennipman e Ernesto Hennipman  
DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por todas as graças recebidas.

A Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em especial ao curso de Pós-Graduação em Agronomia pela estrutura, suporte e apoio prestado. Aos Professores desta Instituição, pela qualidade de ensino e contribuição à minha formação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Doutorado.

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Maristella Dalla Pria, pela orientação e por todo o apoio, paciência, excelência em seu profissionalismo, ensinamentos e amizade durante esses anos.

Aos meus pais, Ernesto Hennipman e Suzana Siqueira Hennipman, por me ensinarem os verdadeiros valores na vida, trabalhar com ética, de maneira digna, honesta e com respeito a todas as pessoas. Pelo amor, incentivo e compreensão em toda minha vida!

Aos meus irmãos Alex e Pamela por todo apoio e incentivo, em especial a minha irmã por toda ajuda aos fins de semana, dias de chuva e sol, toda paciência e dedicação.

Ao meu noivo Filipe Lemos Jacques, por todo amor e amizade. Por estar presente desde o início desse projeto e sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor. Não me deixar desistir nos dias de desânimo e por dar o presente mais especial na minha vida, nossa filha Bárbara.

A minha avó Learci Félix Siqueira, por todas as orações, amor e carinho.

Ao meu tio Arnaldo Hennipman e aos meus primos Fabricio Siqueira Hennipman e Felipe Siqueira Hennipman, por todo o incentivo e ajuda, pela concessão da área experimental e solicitude em contribuir para o máximo desempenho do experimento em campo.

Aos queridos amigos e colegas que fiz no laboratório F-26 José Leandro Peron, Camila Basso, Adriane Aguiar, Janaina da Silva, Rafaela Fernanda Oliveira, Luis Felipe Lourenço, que nunca mediram esforços para me ajudar durante todo meu projeto, independente do dia e hora, por toda a amizade e incentivo, meu muito obrigada!

As técnicas Luciane Henneberg e Zima Richter, por todo carinho, conselho, incentivo, abraço e amor dado à mim desde o primeiro dia que cheguei ao laboratório, vocês são parte da minha família e irão estar sempre em minhas orações e pensamento.

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação em Agronomia, em especial Marina Oliveira, Leticia Reis, Shively Los, Jucimare Romaniw, André Carlos Auler, Carlos Eduardo C. Truylio muito obrigada pela amizade, carinho e todo apoio.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Ponta Grossa, principalmente, à Nilcéia Alvez de Lara, Dirce Aparecida de Oliveira, Jaqueline Aparecida Gonçalves por todo apoio e amizade que fizemos nesses últimos anos.

Aos funcionários da Fazenda Escola, Capão da Onça, por toda ajuda, auxílio e paciência durante meus trabalhos no campo.

Ao agrônomo Germano Goltz, pelo auxílio e orientações na condução e colheita da canola.

A professora Carolina W. Galvão por contribuir para a realização das análises enzimáticas.

A todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”.

John F. Kennedy

## RESUMO

### PRODUTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE MOFO BRANCO NA CANOLA E MANCHA ANGULAR NO FEIJÃO

O objetivo principal desse trabalho foi avaliar o controle do mofo branco na cultura da canola e mancha angular, na cultura do feijão com o uso de produtos bióticos e abióticos. Os experimentos foram conduzidos em laboratório, casa de vegetação e campo. Os experimentos a campo, para a cultura do feijão, foram conduzidos na safra 2015/2016 na fazenda Capão da Onça, já a cultura da canola, os experimentos foram conduzidos no ano de 2016 em dois locais, Fazenda Capão da Onça (UEPG) e Fazenda Limeira, Distrito de Guaragi. Em laboratório foram avaliados IVCM (índice de velocidade de crescimento), teste da folha destacada e patologia de sementes para as duas culturas. Em casa de vegetação foi avaliado o controle da mancha angular pelo método de pulverização de esporos, já o mofo branco, foi avaliado através do método do palito, além da análise enzimática. *In vitro*, verificou-se 100% de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* nos tratamentos *B. subtilis* (autoclavado e não autoclavado), Wert Plus®, na concentração de 1000 ppm, e procimidona na concentração de 100 e 1000 ppm. Em folha destacada os tratamentos procimidona e *B. subtilis* inibiram 100% o crescimento do fungo no lado direito e esquerdo da folha. Em casa de vegetação os tratamentos com menores valores de severidade, representada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foram: procimidona, fosfito de cobre, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, fosfito de manganês, fosfito de potássio, fosfito de cobre, High Roots® e V6®. A maior atividade das enzimas peroxidase foi observada em plantas tratadas com acibenzolar-S-metílico, fosfito de cobre e fungicida 48 horas após inoculação do fungo. Em experimentos de campo, na área experimental do distrito Guaragi, os menores valores de severidade foram obtidos nas parcelas com fosfito de cobre e acinezolar S metílico já na área experimental da UEPG, os tratamentos com menor severidade foram fungicida procimidona, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, fosfito de manganês e V6®. Sementes colhidas na área experimental do Guaragi, apresentaram incidência de *Gonotobotrys* sp., *Alternaria alternata*, *Gliocladium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e *Trichoderma* sp. Sementes provenientes da área experimental da UEPG, apresentaram incidência de *A. alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. Para a cultura do feijão, o resultado *in vitro* mostrou que *B. subtilis* inibiu o crescimento micelial de *P. griseola*. Na avaliação em folha destacada, somente o *B. thuringiensis* apresentou diferença estatística entre os lados aplicados, sendo o lado direito com menor severidade. Em casa de vegetação foram observados na folha cotiledonar e no 1º trifólio maior severidade da doença; Na folha cotiledonar menor severidade foi observada nas plantas tratadas com fungicida, *A. nodosun*, *T. asperellum* e fosfito de cobre. No campo, na primeira época de avaliação, os tratamentos com melhor controle da doença foram o fungicida, *A. nodosum*, *B. thuringiensis* e o fertilizante V6®. Na segunda época não houve diferença estatística entre os tratamentos para produtividade, mas a maior média foi obtida com aplicação de fungicida. Sementes colhidas na primeira época de semadura apresentaram incidência de *Fusarium* sp., *Colletotrichum truncatum* e *Phomopsis* sp. Na segunda época de semeadura, a presença de *Alternaria alternata* e a ausência de *C. truncatum* diferiram da primeira.

Palavras-chave: doença. severidade. controle.

## ABSTRACT

### BIOTIC AND ABIOTIC PRODUCTS ON WHITE MOFO CONTROL ON CANOLA AND ANGULAR STAIN ON BEANS

The main objective of this work was to evaluate the control of white mold in the culture of canola and angular spot in the common bean crop using biotic and abiotic products. The experiments were conducted in laboratory, greenhouse and field conditions. The field trials for common bean cultivation were conducted in the 2015/2016 season at Capão da Onça farm, and the canola crop was conducted in 2016 at two locations, Fazenda Capão da Onça (UEPG) and Fazenda Limeira, District of Guaragi. In the laboratory were evaluated IVCM (growth rate index), leaf test and seed pathology for the two cultures. In greenhouse the control of the angular spot by the method of spraying of spores was evaluated, and the white mold, was evaluated through the method of the stick, besides the enzymatic analysis. *In vitro*, 100% inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum* was observed in *B. subtilis* (autoclaved and non-autoclaved), Wert Plus®, at 1000 ppm concentration, and 100 and 1000 ppm procymidone. The procymidone and *B. subtilis* treatments inhibited 100% growth of the fungus on the direct and left side of the leaf. In the greenhouse, treatments with lower values of severity, represented by the area below the disease progress curve (AUDPC) were: procymidone, copper phosphite, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, manganese phosphite, potassium phosphite, High Roots® and V6®. The highest activity of the peroxidase enzymes was observed in plants treated with acibenzolar-S-methyl, copper phosphite and fungicide 48 hours after inoculation of the fungus. In field experiments in the Guaragi district experimental area, the lowest values of severity were obtained in the plots with copper phosphite and acinezolar-S-methyl already in the experimental area of the UEPG, the treatments with less severity were fungicide procymidone, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, manganese phosphite and V6®. Seeds harvested in the experimental area of Guaragi, showed incidence of *Gonatobotrys* sp., *Alternaria alternata*, *Gliocladium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. and *Trichoderma* sp. Seeds from the experimental area of the UEPG showed an incidence of *A. alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. For the bean culture, the *in vitro* result showed that *B. subtilis* inhibited the mycelial growth of *P. griseola*. In the evaluation in leaf, only *B. thuringiensis* showed statistical difference between the applied sides, being the right side with less severity. In greenhouse were observed in the leaf cotyledonar and in the 1st trefoil greater severity of the disease; In the cotyledon leaf smaller severity was observed in the plants treated with fungicide, *A. nodosun*, *T. asperellum* and copper phosphite. In the field, in the first evaluation period, the treatments with better control of the disease were the fungicide, *A. nodosum*, *B. thuringiensis* and V6® fertilizer. In the second season there was no statistical difference between treatments for yield, but the highest average was obtained with fungicide application. Seeds harvested in the first sowing season showed incidence of *Fusarium* sp, *Colletotrichum truncatum* and *Phomopsis* sp. In the second sowing season, the presence of *Alternaria alternata* and the absence of *C. truncatum* differed from the first one.

Keywords: Disease. severity. control.

## LISTA DE FIGURAS

### USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DA CANOLA .....

- Figura 1 - Escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum* na haste de canola (*Brassica napus*) em campo (A) e crescimento micelial em placa de Petri (B). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 53
- Figura 2 - Esquema representativo do método de diluição em série para a obtenção das concentrações dos produtos utilizados nos experimentos *in vitro* para controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ponta Grossa - PR, 2017. (JACQUES, 2015) ..... 54
- Figura 3 - Folha de canola (*Brassica napus*) utilizada na avaliação de folha destacada com aplicação dos tratamentos e inoculada com disco de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* e mantida em câmara BOD. Ponta Grossa - PR, 2017..... 56
- Figura 4 - Plantas de canola (*Brassica napus*) durante o processo de pulverização dos tratamentos no primeiro par de folhas verdadeiras (A) e momento de aplicação com o pulverizador manual (B). Ponta Grossa - PR, 2017..... 58
- Figura 5 - Placa de Petri com colônia do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* com seis dias de idade, completamente desenvolvida (A), haste da planta de canola (*Brassica napus*) perfurada com palito colonizado com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (B) e plantas de canola inoculadas e cobertas com saco plástico para formar câmara úmida (C). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 59
- Figura 6 - Área experimental na Fazenda Escola Capão da Onça (A) e Fazenda Limeira (B) onde foram semeados canola (*Brassica napus*). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 62
- Figura 7 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida procimidona (A) e *Ascophyllum nodosum* (B). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 68
- Figura 8 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos, *Bacillus thuringiensis* (não autoclavado) (A), *Bacillus subtilis* não autoclavado (B), *Bacillus subtilis* autoclavado (C), fosfito de cobre (D), Fosfito de manganês (E), fosfito de potássio (F), Managanês (G), V6® (H), Wert Plus® (I). Ponta Grossa - PR, 2017..... 69

- Figura 9 - Colônias de *Sclerotinia sclerotiorum* com três dias de idade com incorporação dos tratamentos no meio de cultura nas doses 0 (testemunha) e 1,000 ppm, fungicida (A); *Bacillus thuringiensis* autoclavado (B); *Bacillus subtilis* não autoclavado (C); *Bacillus subtilis* autoclavado (D); fosfito de cobre (E); fosfito de manganês (F); manganês (G); Wert Plus® (H); fosfito de potássio (I), Maxi Flor® (J); V6® (K); High Roots® (L); *Ascophyllum nodosum* (M); *Bacillus thuringiensis* (N) e testemunha (O). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 70
- Figura 10 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos *Ascophyllum nodosum* (A) e V6® (B). Ponta Grossa - PR, 2017..... 70
- Figura 11 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida procimidona (A), *Bacillus thuringiensis* (B), *Bacillus subtilis* (C), *Bacillus thuringiensis* autoclavado (D), *Bacillus subtilis* autoclavado (E), fosfito de Cobre (F), fosfito de manganês (G), Manganês (H), Wert Plus® (I), High Roots® (J) e Maxi Flor® (K). Ponta Grossa - PR, 2017..... 71
- Figura 12- Lesão em folha de canola (*Brassica napus*) após 3 dias de inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* (A) e após 5 dias de inoculação (B). Ponta Grossa - PR, 2017..... 73
- Figura 13 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com fungicida procimidona. Ponta Grossa - PR, 2017..... 75
- Figura 14 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com fosfito de cobre. Ponta Grossa-PR - 2017..... 75
- Figura 15 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017..... 77
- Figura 16 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com acibenzolar-S-metílico. Ponta Grossa - PR, 2017..... 78
- Figura 17 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com *Trichoderma asperellum*. Ponta Grossa - PR, 2017..... 78

Figura 18 - Atividade de peroxidase em plantas de canola (*Brassica napus*) tratadas e inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*, 24 horas (A) 48 horas (B) e 72 horas (C) após a inoculação do patógeno. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0.05$ ). Letras minúsculas comparam o mesmo tratamento entre os horários de coleta e que letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro do mesmo tempo de coleta. Ponta Grossa - PR, 2017..... 83

Figura 19 - Planta de canola (*Brassica napus*) com infecção do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* nas folhas (A), início da lesão na haste (B) lesão já formada na haste (C) desenvolvimento do fungo em toda a haste da planta com posterior seca da mesma (D) síliqua com micélio do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (E). Ponta Grossa-PR, 2017..... 85

#### USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Pseudocercospora griseola* NA CULTURA DO FEIJÃO .....

Figura 1 - Esquema representativo do método de diluição em série para a obtenção das concentrações dos produtos utilizados nos experimentos *in vitro* com *Pseudocercospora griseola* (JACQUES, 2015). Ponta Grossa - PR, 2017.....136

Figura 2 - Colônia de *Pseudocercospora griseola* completamente desenvolvida e esporulada, com idade de 45 dias, repicada a partir de solução de esporos (A); disco de micélio do mesmo fungo repicado em placa de Petri com meio de cultura de suco de tomate - MSTO com incorporação dos produtos (B). Ponta Grossa - PR, 2017. .... 136

Figura 3 - Aplicação dos tratamentos em metade do limbo foliar de folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) para experimento de indução de resistência pelo método da folha destacada, lado esquerdo da folha protegido durante o momento da aplicação do tratamento (A) e somente lado direito da folha com aplicação do tratamento (B), para controle de *Pseudocercospora griseola*. Ponta Grossa - PR, 2017..... 138

Figura 4 - Plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) no momento da aplicação dos tratamentos para verificar a indução de resistência e controle de *Pseudocercospora griseola* (A), planta de feijão com o trifólio protegido com copo plástico no momento da aplicação (B). Ponta Grossa - PR, 2017..... 140

Figura 5 - Colônia de *Pseudocercospora griseola* com 45 dias completamente desenvolvida e esporulada (A), suspensão de conídios (B) e pulverização da suspensão de conídios na planta de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em casa de vegetação (C). Ponta Grossa - PR, 2017..... 140

Figura 6 - Câmara úmida para viabilização de infecção de *Pseudocercospora griseola* inoculado em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em casa de vegetação (A e B). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... 140

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 7 - Área experimental da cultura do feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), localizada na Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa - PR, 2017 .....                                                                                                                                                                                                       | 143 |
| Figura 8 - Sementes de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) dispostas em caixa gerbox para avaliação da qualidade sanitária pelo método <i>Blotter Test</i> . Ponta Gossa - PR, 2017.....                                                                                                                                                                        | 144 |
| Figura 9 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Pseudocercospora griseola</i> nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos <i>Bacillus thuringiensis</i> (A), fungicida (hidróxido de fentina) (B), fosfito de cobre (C), fosfito de manganês (D) e fosfito de potássio (E). Ponta Grossa - PR, 2017 .....                | 148 |
| Figura 10 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Pseudocercospora griseola</i> nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida (hidróxido de fentina) (A), <i>Bacillus thuringiensis</i> (B), fosfito de cobre (C), fosfito de manganês (D), fosfito de potássio (E) e manganês (F). Ponta Grossa - PR, 2017 ..... | 149 |
| Figura 11 - Folha de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) tratada com <i>Bacillus subtilis</i> , com sintomas de mancha angular ( <i>Pseudocercospora griseola</i> ) (A) lesão de mancha angular com formação de sinêmios (B). Ponta Grossa - PR, 2017.....                                                                                                      | 158 |

## LISTA DE TABELA

### USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DA CANOLA .....

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Produtos testados no método folha destacada, em canola ( <i>Brassica napus</i> ) e suas respectivas dosagens no controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Ponta Grossa - PR, 2017 .....                                                                                                    | 57 |
| Tabela 2 - Produtos testados no campo, na cultura da canola ( <i>Brassica napus</i> ), e suas respectivas dosagens para avaliação do controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Ponta Grossa - PR, 2017 .....                                                                                          | 63 |
| Tabela 3 - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> submetido ao efeito de produtos alternativos em diferentes concentrações <i>in vitro</i> . Ponta Grossa - PR, 2017.....                                                                                 | 65 |
| Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da doença de mofo branco ( <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ), no teste da folha destacada, em folhas de canola ( <i>Brassica napus</i> ) sem aplicação do tratamento (lado esquerdo) e com aplicação do tratamento (lado direito). Ponta Grossa - PR, 2017.. | 72 |
| Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em plantas de canola ( <i>Brassica napus</i> ) em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2017 .....                                                                                                      | 74 |
| Tabela 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em plantas de canola ( <i>Brassica napus</i> ) em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017 .....                                                                                                      | 80 |
| Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função dos tratamentos realizados em canola ( <i>Brassica napus</i> ) na área experimental Fazenda Limeira – Guaragi, safra 2016. Ponta Grossa-PR, 2017.....                                            | 86 |
| Tabela 8 - Produtividade (Kg ha <sup>-1</sup> ) em função dos tratamentos realizados em canola ( <i>Brassica napus</i> ), área experimental Fazenda Limeira – Guaragi, safra 2016. Ponta Grossa - PR, 2017.....                                                                                           | 89 |
| Tabela 9 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função dos tratamentos realizados em canola ( <i>Brassica napus</i> ) na área experimental do Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa, PR .....                                                      | 91 |
| Tabela 10 - Produtividade (Kg ha <sup>-1</sup> ) em função dos tratamentos realizados em canola ( <i>Brassica napus</i> ), área experimental Fazenda Escola Capão da Onça - UEPG, safra 2017. Ponta Grossa – PR, 2017. ....                                                                               | 95 |
| Tabela 11 - Incidência (%) de fungos em sementes de canola ( <i>Brassica napus</i> ) colhidas em função dos tratamentos realizados em campo na área experimental Fazenda Limeira-Guaragi, safra 2017. Ponta Grossa-PR, 2017 .....                                                                         | 99 |

|                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 12 - Incidência (%) de fungos em sementes de canola ( <i>Brassica napus</i> ) colhidas em função dos tratamentos realizados em campo na área experimental Fazenda Escola Capão da Onça, safra 2017. Ponta Grossa - PR, 2017 ..... | 101 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Pseudocercospora griseola* NA CULTURA DO FEIJÃO .....

|                                                                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 - Tratamentos do experimento de indução de resistência pelo método da folha destacada, em feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), e suas respectivas dosagens acrescentados em 200 mL de água. Ponta Grossa - PR, 2017.....                                              | 138 |
| Tabela 2 - Tratamentos do experimento de indução de resistência à campo, em feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), e suas respectivas dosagens acrescentados em 1900 mL de água, Ponta Grossa – PR, 2017.....                                                                    | 143 |
| Tabela 3 - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de <i>Pseudocercospora griseola</i> submetido ao efeito de tratamentos alternativos em diferentes concentrações <i>in vitro</i> . Ponta Grossa - PR, 2017.....                                                   | 146 |
| Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da doença mancha angular ( <i>Pseudocercospora griseola</i> ) em folhas destacadas de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) sem aplicação, com aplicação em função dos tratamentos realizados. Ponta Grossa - PR, 2017.....         | 152 |
| Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença de <i>Pseudocercospora griseola</i> em plantas de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) na folha cotiledonar, primeiro trifólio, segundo trifólio e terceiro trifólio, em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017..... | 153 |
| Tabela 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença de <i>Pseudocercospora griseola</i> em plantas de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) na folha cotiledonar, primeiro trifólio, segundo trifólio e terceiro trifólio, em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017..... | 156 |
| Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença de mancha angular ( <i>Pseudocercospora griseola</i> ) média na planta inteira em função dos tratamentos realizados em feijão, cultivar Uirapuru. Épocas 1 e 2, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.....            | 159 |
| Tabela 8 - Componentes de rendimento: plantas por m, vagens por planta, grão por vagem e produtividade (Kg ha <sup>-1</sup> ) em função dos tratamentos realizados em feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), cultivar Uirapuru, época 1 e 2, Ponta Grossa-PR – 2017 .....        | 163 |
| Tabela 9 - Incidência (%) de patógenos em sementes em função dos tratamentos realizados em campo no feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) na área experimental Fazenda Capão da Onça, época 1, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.....                                     | 169 |

|                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 10 - Incidência (%) de patógenos em sementes em função dos tratamentos realizados em campo no feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) na área experimental Fazenda Capão da Onça, época 2, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017..... | 170 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1. USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DA CANOLA.**

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....                                                                     | 21 |
| 2 OBJETIVO .....                                                                      | 23 |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                                        | 23 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                                          | 24 |
| 3.1 A CULTURA DA CANOLA.....                                                          | 24 |
| 3.2 MOFO BRANCO.....                                                                  | 27 |
| 3.2.1 Etiologia.....                                                                  | 28 |
| 3.2.2 Sintomatologia.....                                                             | 28 |
| 3.2.3 Epidemiologia.....                                                              | 30 |
| 3.2.4 Manejo do mofo branco.....                                                      | 31 |
| 3.3 USO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ..... | 33 |
| 3.3.1 Indução de Resistência .....                                                    | 33 |
| 3.3.2 Resistência Local ou Hipersensível .....                                        | 34 |
| 3.3.3 Resistência Sistêmica Adquirida .....                                           | 35 |
| 3.3.4 Resistência Sistêmica Induzida .....                                            | 36 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                             | 38 |
| 4.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS.....                         | 38 |
| 4.2 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DO INÓCULO.....                                             | 38 |
| 4.3 CRESCIMENTO MICELIAL .....                                                        | 39 |
| 4.4 AVALIAÇÃO DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM CANOLA PELO MÉTODO DE FOLHA DESTACADA..... | 40 |
| 4.5 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....                                             | 42 |
| 4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....                                                         | 45 |
| 4.6.1 Obtenção dos extratos proteicos.....                                            | 45 |
| 4.6.1.1 Teor de proteínas .....                                                       | 45 |
| 4.6.1.2 Atividade enzimática .....                                                    | 45 |
| 4.7 EXPERIMENTO A CAMPO.....                                                          | 46 |

|                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.7.1 Avaliações.....                                                                                                           | 48  |
| 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                                                   | 49  |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                                   | 50  |
| 5.1 EXPERIMENTOS <i>in vitro</i> .....                                                                                          | 50  |
| 5.2 MÉTODO DA FOLHA DESTACADA.....                                                                                              | 57  |
| 5.3 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....                                                                                       | 58  |
| 5.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....                                                                                                   | 66  |
| 5.4.1 Peroxidase.....                                                                                                           | 66  |
| 5.4.2 Polifenoloxidase.....                                                                                                     | 69  |
| 5.5 EXPERIMENTO CAMPO.....                                                                                                      | 69  |
| 5.5.1 Área experimental Fazenda Limeira – Guaragi.....                                                                          | 70  |
| 5.5.2 Área experimental Fazenda Escola Capão da Onça .....                                                                      | 76  |
| 5.6 QUALIDADE SANITÁRIA.....                                                                                                    | 81  |
| 5.6.1 Área experimental Guaragi.....                                                                                            | 82  |
| 5.6.2 Área experimental Fazenda Escola Capão da Onça.....                                                                       | 85  |
| 6 CONCLUSÃO.....                                                                                                                | 87  |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                                                                               | 88  |
| 8 ANEXOS .....                                                                                                                  | 106 |
| <b>CAPÍTULO 2. USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE <i>Pseudocercospora griseola</i> NA CULTURA DO FEIJÃO</b> |     |
| 1 INTRODUÇÃO.....                                                                                                               | 109 |
| 2 OBJETIVO.....                                                                                                                 | 111 |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                                                                                  | 111 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                                                                                    | 112 |
| 3.1 CULTURA DO FEIJÃO.....                                                                                                      | 112 |
| 3.2 MANCHA ANGULAR.....                                                                                                         | 114 |
| 3.2.1 Etiologia.....                                                                                                            | 115 |
| 3.2.2 Sintomatologia.....                                                                                                       | 115 |
| 3.2.3 Epidemiologia.....                                                                                                        | 116 |
| 3.2.4 Manejo da mancha angular.....                                                                                             | 117 |
| 3.2.5 Controle alternativo de doenças .....                                                                                     | 117 |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| 4 MATERIAL E MÉTODOS.....                                    | 120 |
| 4.1 EXPERIMENTOS <i>in vitro</i> .....                       | 120 |
| 4.1.1 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DO INÓCULO.....                  | 120 |
| 4.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA.....                      | 122 |
| 4.3 CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....                        | 124 |
| 4.4 EXPERIMENTO A CAMPO.....                                 | 126 |
| 4.4.1 Localização e caracterização da área experimental..... | 126 |
| 4.4.2 Instalação e condução do experimento.....              | 127 |
| 4.5 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES.....                    | 129 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                | 131 |
| 5.1 EXPERIMENTOS <i>in vitro</i> .....                       | 131 |
| 5.2 FOLHA DESTACADA.....                                     | 136 |
| 5.3 CASA DE VEGETAÇÃO.....                                   | 137 |
| 5.4 EXPERIMENTOS A CAMPO.....                                | 143 |
| 5.4.1 Componentes de produção e produtividade.....           | 147 |
| 5.5 QUALIDADE SANITÁRIA.....                                 | 150 |
| 6 CONCLUSÃO.....                                             | 156 |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                            | 157 |
| 8 ANEXO .....                                                | 171 |

## CAPÍTULO 1

### USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DA CANOLA

#### RESUMO

Atualmente busca-se alternativas ao controle químico para controlar doenças, visando menores impactos ambientais e pressão de seleção sobre os patógenos. Assim, o uso de produtos que ativam mecanismos de defesa das plantas podem aumentar o espectro de controle das doenças na cultura da canola. O objetivo do trabalho foi avaliar o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e indução de resistência na cultura da canola através de produtos alternativos. Os experimentos *in vitro* e folha destacada foram conduzidos em laboratório e os *in vivo* na casa de vegetação e em campo na safra 2015/2016. Os tratamentos Hight Roots®; V6®; Maxi Flor®; Wert Plus®, fosfito de potássio; fosfito de manganês; fosfito de cobre, manganês, fungicida procimidona, *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus thuringiensis* foram utilizados nos experimentos: crescimento micelial em BDA, em folha destacada, experimentos em casa de vegetação, análise enzimática e no experimento a campo. Para os três últimos experimentos adicionou-se os tratamentos acibenzolar-S-metílico e *Trichoderma asperellum*. Verificou-se 100% de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* nos tratamentos *B. subtilis* (autoclavado e não autoclavado), Wert Plus®, na concentração de 1000 ppm, e procimidona na concentração de 100 e 1000 ppm. Em folha destacada os tratamentos procimidona e *B. subtilis* inibiram 100% o crescimento do fungo no lado direito e esquerdo da folha. Em casa de vegetação os tratamentos com menores valores de severidade, representada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foram: procimidona, fosfito de cobre, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, fosfito de manganês, fosfito de potássio, fosfito de cobre, High Roots® e V6®. A maior atividade das enzimas peroxidase foi observada em plantas tratadas com acibenzolar-S-metílico, fosfito de cobre e fungicida 48 horas após inoculação do fungo. Não houve atividade da enzima polifenoloxidase. Em experimentos de campo, na área experimental do distrito Guaragi, os menores valores de severidade foram obtidos nas parcelas com fosfito de cobre e acibenzolar S metílico, entretanto não diferiram estatisticamente do fungicida, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, fosfito de manganês, fosfito de potássio e V6®. A maior produtividade foi obtida nos tratamentos com *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum* e *A. nodosum*. Na área experimental da UEPG, os tratamentos com menor severidade foram fungicida procimidona, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, fosfito de manganês e V6®. Os tratamentos que apresentaram maior produtividade foram *T. asperellum*, *B. subtilis*, fosfitos de potássio e manganês, micronutriente manganês, ASM e procimidona. Sementes colhidas na área experimental do Guaragi, apresentaram incidência de *Gonatotryps* sp., *Alternaria alternata*, *Gliocladium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e *Trichoderma* sp. Sementes provenientes da área experimental da UEPG, apresentaram incidência de *A. alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. Baseado nos resultados pode-se concluir que *B. subtilis* apresentou potencial para o controle de *S. sclerotiorum* e induz resistência em plantas de canola.

Palavras chave: *Brassica napus*, indução de resistência, controle biológico, fosfitos e mofo branco.

## ABSTRACT

Currently, alternatives are being sought for chemical control to control diseases, aiming at lower environmental impacts and selection pressure on pathogens. Thus, the use of products that activate plant defense mechanisms can increase the spectrum of disease control in canola crops. The objective of this work was to evaluate the control of *Sclerotinia sclerotiorum* and induction of resistance in canola cultivation through alternative products. The *in vitro* and detached leaf experiments were conducted in the laboratory and *in vivo* in the greenhouse and field conditions on 2015/2016 season. Treatments Hight Roots®; V6®; Maxi Flor®; Wert Plus®, potassium phosphite; manganese phosphite; copper phosphite, manganese, procymidone fungicide, *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus thuringiensis* were used in the experiments: mycelial growth in PDA, detached leaf, greenhouse experiments, enzymatic analysis and field experiment. Acibenzolar-S-methyl and *Trichoderma asperellum* treatments were added for the last three experiments. 100% inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum* was observed in *B. subtilis* (autoclaved and non-autoclaved), Wert Plus® at 1000 ppm, and 100 and 1000 ppm procymidone treatments. The procymidone and *B. subtilis* treatments inhibited 100% growth of the fungus on the direct and left side of the leaf. In the greenhouse, treatments with lower values of severity, represented by the area under the disease progress curve (AUDPC) were: procymidone, copper phosphite, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, manganese phosphite, potassium phosphite, copper phosphite, High Roots® and V6®. The highest activity of the peroxidase enzymes was observed in plants treated with acibenzolar-S-methyl, copper phosphite and fungicide 48 hours after inoculation of the fungus. There was no activity of the polyphenoloxidase enzyme. In field experiments in the Guaragi district experimental area, the lowest values of severity were obtained in the plots with copper phosphite and acibenzolar-S-methyl, but did not differ statistically from the fungicide, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, manganese phosphite, potassium phosphite and V6®. The highest productivity was obtained in the treatments with *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum* and *A. nodosum*. In the experimental area of the UEPG, the treatments with lower severity were fungicide procymidone, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, manganese phosphite and V6®. The treatments with the highest productivity were *T. asperellum*, *B. subtilis*, potassium and manganese phosphites, micronutrient manganese, ASM and procymidone. Seeds harvested in the experimental area of Guaragi, showed incidence of *Gonatobotrys* sp., *Alternaria alternata*, *Gliocladium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. and *Trichoderma* sp. Seeds from the experimental area of the UEPG showed an incidence of *A. alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. Based on the results it can be concluded that *B. subtilis* presented potential for the control of *S. sclerotiorum* and induces resistance in canola plants.

Key-words: *Brassica napus*, induced resistance, biologic control, phosphite, white mold.

## 1 INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* L. var *oleifera*) é uma espécie oleaginosa, da família das crucíferas, passível de incorporação nos sistemas de produção de grãos no Brasil, destacando-se como uma excelente alternativa econômica e excelente cultura para rotação (TOMM et al., 2009). Atualmente é considerada a terceira oleaginosa em importância mundial de produção, sendo a segunda, se considerada a produção de oleaginosas na forma de grãos, atrás somente da soja (FAO, 2015). Os maiores produtores mundiais são a União Europeia, Canadá, China, Índia e Japão. Para a safra de 2015/2016 foi obtida uma produção de 21,8 milhões de toneladas, com consumo de 25,3 milhões de toneladas pela União Europeia. A produção mundial foi de 67,5 milhões de toneladas, com uma queda em torno de 6,3% em comparação a safra de 2014/2015 que foi de 71,9 milhões de toneladas (CONAB, 2016).

Entretanto, um dos empecilhos encontrados para um bom estabelecimento da cultura é a ocorrência de doenças, destacando-se o mofo branco, também conhecido como podridão branca da haste causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (SOLGI et al., 2015). Esse fungo é considerado um dos patógenos mais importantes no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas de clima temperado, subtropical ou tropical (LEITE, 2005), mais comumente em regiões temperadas (PERVEEN; HASEEB; SHUKLA, 2010).

A doença encontra-se disseminada em todas as regiões do país, sendo a ocorrência maior nos Estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste. No controle de doenças de plantas, opta-se sempre em realizar um manejo integrado, essas medidas são de natureza diversa, como o uso de controle genético, químico, cultural, físico e biológico (BEDENDO; AMORIM, 2011). Entretanto, o interesse por métodos alternativos no controle da doença aumentou nas últimas décadas, uma vez que os agrotóxicos não conseguiram controlar adequadamente o patógeno, além das preocupações com o impacto ambiental causado por esses produtos (SAHARAN; MEHTA, 2008).

Tem-se buscado alternativas para aumentar a resistência de plantas as doenças. As plantas são continuamente expostas a um grande número de patógenos e como resultado, apresentam um complexo mecanismo de defesa para

reconhecê-los e se proteger, de maneira que na natureza, a resistência é regra e a suscetibilidade exceção (NOJOSA; RESENDE; RESENDE, 2005).

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em respostas ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005), podendo ser a proteção local ou resistência sistêmica, que se manifesta a distância do local de aplicação do indutor (MORAES, 1992). Os agentes indutores de origem bióticas ou abióticas, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas são chamados de elicitores, dentro dos elicitores bióticos pode-se citar o uso de rizobactérias (ROMEIRO; KIMURA, 1997; VIEIRA JUNIOR, 2005), fungos como o *Trichoderma* (MACAGNAN, 2001) e algas (CARVALHO; CASTRO, 2014). Além destes, existem os indutores abióticos, como acibenzolar-S-metilíco (ASM) (RESENDE et al., 2000; CÓRDOVA-CAMPOS et al., 2012) amplamente utilizado em diferentes culturas no controle de diversos patógenos; os fosfitos (ÁVILA, 2009; NOJOSA; RESENDE; RESENDE, 2005) e nutrientes (BETTIOL; ASTIARRAGA, 1998).

## 2 OBJETIVO

Avaliar diferentes produtos no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e como possíveis indutores de resistência em plantas de canola.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Avaliar índice de velocidade de crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*;
- ii. Avaliar indução de resistência pelo método de folha destacada;
- iii. Avaliar a severidade do mofo branco em casa de vegetação;
- iv. Avaliar a atividade enzimática de peroxidase e polifenoloxidase;
- v. Avaliar a severidade do mofo branco, componentes de produção e produtividade em campo;
- vi. Avaliar qualidade sanitária de sementes colhidas.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A CULTURA DA CANOLA

A canola é uma variedade genética da colza (*Brassica napus* L. var. *oleífera*), pertencente a família das Brassicaceae, cultivada na União Europeia, Estados Unidos, Canadá, Austrália, China e Índia, é uma importante cultura oleaginosa e seu cultivo tem aumentado significativamente nos últimos anos. A origem de *B. napus* não é bem conhecida, provavelmente é o resultado de uma hibridação interespecífica natural entre duas outras espécies de Brassicaceae, *Brassica oleracea* e *Brassica rapa* (LOGANES; BALLALI; MINTO, 2016)

O óleo de colza é utilizado para fins industriais e comerciais (para a produção de sabões, velas, tintas, lubrificantes e biocombustíveis), porém não é utilizado para consumo humano e animal devido ao alto teor de ácido erúico e glucosinolatos. Grandes quantidades deste ácido são tóxicas para os seres humanos e associadas a lesões fibróticas do coração. Para evitar o efeito tóxico do óleo, melhoristas de colza usaram técnicas de melhoramento genético convencionais para remover grande parte do ácido erúico e glucosinolatos das flores. Para descrever a cultura com baixo nível de ambos os compostos, no Canadá foi definido o termo canola, uma abreviação de "CANadian Oilseed Low Acid" em 1979 (ESKIN; MC DONALD, 1991). O nome de canola é atualmente usado para indicar três espécies do gênero *Brassica* que produzem óleo com baixo nível de ácido erúico (menos de 2%) e menos de 30  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de farelo de glucosinolatos totais, *Brassica rapa*, *Brassica napus* e *Brassica juncea* (LOGANES; BALLALI; MINTO, 2016). A canola é uma espécie de frio que se desenvolve melhor em locais com temperatura do ar em torno de 20°C durante o ciclo. No período vegetativo a faixa de temperatura ótima está entre 13 e 22°C (TOMM et al., 2009), já durante o período de floração, temperatura acima de 27°C causa abortamento de flores e siliquas em início de floração.

As plantas de canola apresentam coloração que varia em função das cultivares, existindo tons verde-azulados, verde-escuro e verde-arroxeados. É uma planta herbácea com haste eretas, ascendente e ramificada. As flores são amarelas, com quatro pétalas e quatro sépalas, dispondo-se em cachos simples na extremidade do caule principal e em cada uma das ramificações. Seu período de

floração perdura por três semanas ou mais e ocorre de baixo para cima, iniciando com os botões florais da base. As flores são hermafroditas prevalecendo a autofecundação, porém pode ocorrer até 30% de fecundação cruzada (RODRIGUES et al., 2010).

Os frutos se dispõem como síliquas (deiscentes), possuindo geralmente de 14 a 15 sementes com diâmetro de 2 mm e peso inferior a 6 mg (RODRIGUES et al., 2010). Apenas 40 a 50% das flores irão formar síliquas produtivas, as demais flores e ou síliquas, em estágio inicial de desenvolvimento são naturalmente abortadas e a maturação dos grãos acontece entre 40 e 60 dias após o florescimento (IRIARTE et al., 2008).

É uma cultura anual, com um ciclo que varia entre 107 e 166 dias desde a emergência até maturação tempo que pode diferir em função do híbrido utilizado. Possui os seguintes estádios fonológicos (MAIA; REIS; ALVARENGA, 1999).

Estádio de plântula: A - estágio cotiledonar, folhas verdadeiras ausentes, B1 – estágio de uma folha verdadeira desenrolada, B2 – estágio de duas folhas verdadeiras desenroladas.

Estádio de roseta: B3 – três folhas verdadeiras desenroladas, B4 – quatro folhas verdadeiras desenroladas, B5 – cinco folhas verdadeiras desenroladas, B6 – seis folhas verdadeiras desenroladas, Bn – n folhas desenvolvidas desenroladas, C1 – aumento da vegetação e aparecimento de folhas jovens.

Estádio de alongamento e formação do botão floral: C2 – entrenós visíveis, D1 – gemas unidas (escondidas pelas folhas terminais), D2 – inflorescência principal desenrolada, gemas unidas, inflorescências secundárias visíveis, E – gemas separadas, pedúnculos florais que se alargam, começando por aqueles da periferia.

Estádio de floração: F1 – primeiras flores abertas, F2 – alongamento do ramo floral, numerosas flores abertas, G1 – queda das primeiras pétalas, as dez primeiras síliquas tem largura inferior a 2 cm, a floração das inflorescências ocorre nessa fase, G2 – as dez primeiras síliquas tem largura entre 2 e 4 cm, G3 – as dez primeiras síliquas tem largura superior a 4 cm, G4 – as dez primeiras síliquas começam a madurar, G5 – coloração de grãos (MAIA; REIS; ALVARENGA, 1999).

A produção global de canola aumentou muito rapidamente nos últimos 40 anos, subindo da sexta para a segunda posição de cultura oleaginosa mais produzida (USDA, 2017).

A planta é cultivada em toda a região agrícola do Sul do Brasil. A cultura se destaca como uma excelente alternativa econômica pelo fato de ser utilizada para consumo humano além de ser matéria-prima para produção de biodiesel.

Com uma colheita anual de aproximadamente 450 milhões de toneladas, a produção de oleaginosas corresponde a apenas 20% da produção agrícola mundial. Dentro dessa produção, apenas 14% da produção mundial corresponde à canola. Apesar disso, a cultura é a segunda maior, perdendo apenas para a soja, que representa 55%. Os principais produtores de canola no mundo são China, Índia, Canadá e União Europeia (CARRÉ; POUZET, 2014). No Brasil, a canola é cultivada comercialmente nos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, sendo uma alternativa econômica para compor sistemas de rotação com trigo e outros cereais de inverno. Pode ser encontrada também no Distrito Federal, nos Estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. A expansão tem modificado o habitat original da canola, agora podendo também ser cultivada em regiões tropicais (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016).

Segundo dados da CONAB (2017), a produção agrícola nacional de canola da última safra foi em torno de 47,5 mil hectares, com produtividade média de 1.552 kg ha<sup>-1</sup>. Esses dados são referentes aos dois Estados produtores, Paraná e Rio Grande do Sul que plantaram na safra de 2016, 6,3 mil e 41,2 mil hectares, respectivamente.

A canola é suscetível a muitas doenças fúngicas, que afetam a família Brassicaceae, como a podridão da folha (*Pyrenopeziza brassicae* Raw. (anamorfo *Cylindrosporium concentricum* Grev.)), canela preta (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et De Not. (anamorfo *Phoma lingam* (Tod.) Desm.)) e mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) que são responsáveis por grandes danos de produtividade, chegando até 95% quando não realizadas aplicações de agrotóxicos. Outros patógenos são relatados na literatura causando danos a cultura, como *Pseudocercospora capsellae*, *Peronospora parasitica*, *Alternaria brassicae* e *Erysiphe cruciferarum*. A proteção de plantas através do melhoramento genético buscando a resistência específica não é sempre efetiva, necessitando assim de múltiplos métodos para um controle eficiente (GRISON et al., 1996; CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016; VAN DE WOUW et al., 2016).

### 3.2 MOFO BRANCO

Assim como outras culturas, a canola está suscetível à ocorrência de diferentes doenças, entre elas pode-se citar o mofo branco, causado pelo fungo *S. sclerotiorum* (SOLGI et al., 2015). O fungo é polífago, podendo infectar uma ampla gama de hospedeiros, de pelo menos 75 famílias, 278 gêneros, mais 500 espécies de plantas incluindo frutíferas, ornamentais, plantas daninhas (SAHARAN; MEHTA, 2008; CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016), alfafa (*Medicago sativa*) além de importantes culturas como soja (*Glycine max* L), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), girassol (*Helianthus annuus*) e canola (BOLAND; HALL, 1994; ZHAO et al., 2004; HIND-LANOISELET; LEWINGTON, 2004). Devido à grande diversidade de hospedeiros, a doença causada por *S. sclerotiorum* pode receber diferentes denominações, entre elas: podridão de *Sclerotinia*, podridão da cabeça ou capítulo, podridão aquosa ou mole, podridão da haste e mofo branco (VENTUROSE, 2012).

O primeiro relato de ocorrência de *Sclerotinia* no Brasil foi em 1921, no Estado de São Paulo, em plantas de batata (*Solanum tuberosum*) (MEYER, 2011). Atualmente, encontra-se disseminada em todas as regiões do país, sendo a ocorrência maior nos Estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste (BERGER, 2015). Nos países produtores de canola, há relatos de grandes danos por essa doença, como na Austrália (HIND; ASH; MURRAY, 2013; BARBETTI et al., 2014) China (WANG et al., 2012; ZHAO et al., 2004, DELOURME et al., 2011), Índia, onde é uma ameaça particular à mostarda (SINGH et al., 2008, 2010, GARG et al., 2010) e Reino Unido (TAYLOR et al., 2015).

No Brasil, o mofo branco é a principal doença que ocorre na cultura, e foi relatado em 1993 e 1994 no Paraná, entre as fases de alongação e maturação fisiológica, situações mais graves de maior abrangência ocorreram em 1993 em cultivos da Região Norte, Oeste e Sul do Estado (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016).

A redução nos rendimentos da cultura, causados pelo mofo branco, são elevados podendo chegar a 24% em algumas regiões na Europa (HIND-LANOISELET; LEWINGTON 2004; KIRKEGAARD et al., 2006; KHANGURA et al., 2014) estimadas em mais de US \$ 59 milhões (KHANGURA et al., 2014). Os danos dependem da incidência da doença e fase fenológica da planta em que ocorreu a infecção (SAHARAN; MEHTA 2008). Quando a infecção ocorre na fase de pré-

florescimento pode resultar em até 100% de danos de rendimento nas plantas infectadas, isso ocorre pois as plantas geralmente produzem pouca ou nenhuma semente. Se a infecção ocorre no estágio de floração precoce, pode ocorrer o rompimento prematuro de siliquas além do desenvolvimento de sementes pequenas (SHUKLA, 2005; KAMAL et al., 2016).

### 3.2.1 Etiologia

*Sclerotinia sclerotiorum* (sin. *Whetzelinia sclerotium*) possui micélio vigoroso hialino, marrom ou branco, com formação de escleródio com 0,5 a 2,0 mm de diâmetro, de consistência mole ou dura, conforme o estágio de maturação, quando maduros são externamente negros e internamente branco ou rosado (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016). O patógeno se propaga por sua estrutura de resistência (escleródio) e/ou ascósporos. Em condições de alta umidade relativa e temperatura entre 15 – 20°C formam-se os ascocarpos também conhecidos como apotécios, sendo um ou mais apotécios formado a partir de um escleródio. Os apotécios produzem milhares de ascósporos, disseminados pelo vento, já os escleródios podem permanecer no solo por um período de até 10 anos. Os escleródios quando germinam, emitem ramificações miceliais fracas, 1 a 35 por escleródio, onde se formam apotécios com ascas e ascósporos (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016).

### 3.2.2 Sintomatologia

Os sintomas do mofo branco surgem na cultura duas a três semanas após a infecção do patógeno (HIND-LANOISELET; LEWINGTON, 2004). Os ascósporos não conseguem infectar diretamente folhas e as hastes, estes primeiro crescem em pétalas mortas ou outros materiais orgânicos que aderem às folhas e as hastes (SAHARAN; MEHTA, 2008). As pétalas fornecem a fonte de alimento necessária para que os esporos germinem, cresçam e eventualmente penetrem na planta.

A infecção geralmente ocorre nos pontos de ramificação do caule onde os ascosporos que foram disseminados depositam-se (FERNANDO et al., 2007). O fator ambiente é primordial nesse momento, a precipitação ou o orvalho mantém as folhas e as hastes úmidas, criando condições ideais para o desenvolvimento do

fungo. Duas a três semanas após a infecção, as lesões aquosas ou áreas de descoloração marrom clara tornam-se visíveis nas folhas, nas hastes e nos ramos principais, posteriormente expandem-se, tornam-se brancas acinzentadas podendo apresentar marcas concêntricas (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016).

Nas Brassicas a o mofo branco se caracteriza pela presença de micélio compacto branco, com ou sem formação de escleródio nos tecidos colonizados. Na cultura da canola, o fungo coloniza a região basal das plantas, causa um apodrecimento seco no caule e hastes, raramente atingem as siliquas (WANG et al., 2012). Como consequência do ataque do patógeno, as plantas apresentam abscisão foliar e murcham, porém os tecidos do caule e haste não perdem a consistência, sendo observados esses sintomas na fase reprodutiva e florescimento (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2016).

A podridão da haste ocorre devido a secreção pelo fungo de ácido oxálico, juntamente de enzimas líticas, que matam as células do hospedeiro e posteriormente as hifas colonizam os locais de infecção causando a morte de células (GODOY et al., 1990; ZHAO et al., 2004). O ácido oxálico é tóxico para o tecido do hospedeiro, pois sequestra o cálcio nas lamelas intermediárias rompendo a integridade do tecido vegetal. A liberação de enzimas líticas e ácido oxálico do micélio em crescimento atua sinergicamente para estabilizar a infecção do patógeno (FERNANDO et al., 2004).

Além dos sintomas já citados, as plantas podem amadurecer prematuramente apresentando cor de palha, nos órgãos verdes (HIND-LANOISELET; LEWINGTON, 2004; KAMAL et al., 2016).

Os danos causados pelo patógeno dependem do tempo de infecção durante o estágio de floração, bem como o tempo de infecção nos caules ou ramos principais. As hastes das plantas infectadas eventualmente se tornam esbranquiçadas e tendem a quebrar. Interna e externamente nas hastes colonizadas ocorre o crescimento de uma massa de aspecto cottonoso esbranquiçado, que representa o micélio do fungo, juntamente com o micélio, ocorre a formação dos escleródios do patógeno (HIND-LANOISELET; LEWINGTON, 2004).

### 3.2.3 Epidemiologia

*Sclerotinia sclerotiorum* é um Ascomycota, homotático e produz ascósporos após a autofecundação sem formação de esporos assexuais (BOURDÔT et al., 2001). As estruturas de resistência, conhecidos como escleródios, são capazes de permanecer viáveis no solo por 10 anos ou mais, podendo germinar de forma miceliogênica ou carpogênicamente em condições ambientais favoráveis (KAMAL et al., 2016).

O crescimento está diretamente relacionado a fatores ambientais, solo saturado e temperatura em torno de 10 a 20°C pode desencadear o desenvolvimento do apotécio, responsável pela liberação dos esporos sexuais do fungo, os ascósporos (CLARKSON et al., 2004), responsáveis pela disseminação do patógeno. A germinação do apotécio também varia com a temperatura, um aumento gradativo da temperatura de 4, 12, 18 e 24°C maximizam a taxa de germinação (KAMAL, 2016), podendo liberar mais de dois milhões de ascósporos disseminados pelo vento durante um período de 5 a 10 dias (SHARMA et al., 2015).

Os ascósporos podem sobreviver na superfície da planta ou no solo durante 2 a 3 semanas na ausência de pétalas (SHARMA et al., 2015) e a sobrevivência é favorecida em folhas mais baixas e sombreadas (KAMAL, 2016). Os esporos disseminados pelo vento são depositados nas pétalas, germinam e produzem micélio usando as pétalas senescentes como fonte inicial de nutrientes (BERGER, 2015).

Além da degradação enzimática, a infecção pode ocorrer por pressão mecânica através do apressório (LE TOURNEAU 1979), a presença de água na superfície das pétalas, aumenta o processo de infecção e crescimento do micélio (CESSNA et al., 2000).

Com a escassez de nutrientes, os micélios fúngicos se agregam e se transformam em escleródios melanizados que são retidos no caule ou caem no solo podendo permanecer viáveis como estruturas de repouso por muitos anos. O micélio que surge diretamente do escleródio, não é tão infeccioso quanto o inóculo primário dos ascósporos devido à sua baixa capacidade saprofítica competitiva (SHARMA et al., 2015).

### 3.2.4 Manejo do mofo branco

*Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo necrotrófico, polífago, com produção de estruturas de resistência, características que dificultam o controle do patógeno (FERNANDO et al., 2007). No controle de doenças de plantas, opta-se sempre em realizar um manejo integrado, ou seja, a aplicação integrada de um conjunto de medidas para reduzir os danos causados pelos patógenos em culturas de interesse econômico, sendo essas medidas de natureza diversa, como o uso de controle genético, químico, cultural, físico e biológico (BEDENDO; AMORIM, 2011).

Dentro do controle genético, pode-se citar o uso de cultivares resistentes, como ocorre com outras culturas hospedeiras do patógeno, como feijão (CARNEIRO, 2013) e soja (CUNHA, 2010), porém até o momento não foram desenvolvidas cultivares comerciais de canola totalmente resistentes (WANG et al., 2012; FERNANDO et al., 2007; HAYES et al., 2010; ALVAREZ et al., 2011). As cultivares australianas, canadenses e indianas de canola registradas possuem uma resistência mínima ou nenhuma (KAMAL et al., 2016). Na China, foram relatadas duas cultivares, Zhongyou 821 e Zhongshuang 9, parcialmente resistentes a doença. Entretanto um dos obstáculos encontrados, para seleção de cultivares resistentes, seria a ocorrência de patótipos virulentos, dificultando então o progresso no desenvolvimento da resistência completa do hospedeiro (JENSEN et al., 2008; GARG et al., 2010; BARBETTI et al., 2014; TAYLOR et al., 2015).

Como manejo cultural, pode-se mencionar a rotação de culturas visando reduzir escleródios no campo (KAMAL et al., 2016), porém há relatado da ineficiência do manejo quando realizado em um período igual ou inferior a 6 anos (NELSON, 1998) visto que a estrutura de resistência pode sobreviver abaixo de 20 cm de profundidade no solo, por mais de 10 anos. Estudos realizados por Mueller; Pedersen e Hartman (2002) comparando sistema de semeadura convencional com semeadura direta na palha, relataram que a incidência do mofo branco é maior em áreas que utilizam arado no preparo do solo (semeadura convencional) em comparação com áreas de semeadura direta na palha. Contradizendo esses autores, Bailey e Lazarovits (2003) afirmam que o plantio mínimo ou zero pode criar um ambiente mais competitivo e antagônico, bem como restringir a capacidade do patógeno para sobreviver.

De todos os manejos disponíveis, ainda o mais realizado é o controle químico, isso ocorre devido a vários fatores, como facilidade de acesso a fungicida e um controle do patógeno mais rápido quando comparado aos demais tipos de manejos. Entretanto, não há registros de fungicidas para o controle deste patógeno na canola no Brasil. A eficácia dos fungicidas foliares depende de vários fatores, como o tempo de aplicação, a fenologia das plantas, as condições climáticas, o ciclo da doença, a cobertura de pulverização, a duração da proteção, entre outros (MUELLER; PEDERSEN; HARTMAN 2002).

Tem-se buscado determinar o momento ideal para realizar a pulverização e assim evitar aplicações desnecessárias (TAYLOR et al., 2015). Atualmente o controle da *Sclerotinia*, depende de fungicidas aplicados preventivamente, estudos provam que o estágio de floração precoce, antes da queda de pétalas, é o melhor momento para pulverizar um fungicida foliar para redução significativa na incidência da doença (KAMAL et al., 2016).

Entretanto, o interesse por métodos alternativos no controle da doença aumentou nas últimas décadas, uma vez que os agrotóxicos não conseguiram controlar adequadamente o patógeno, além das preocupações com o impacto ambiental causado por esses produtos (SAHARAN; MEHTA, 2008; AGRIOS, 2005).

Dentre as alternativas menos impactantes, pode-se citar o uso de agentes antagonistas (controle biológico) e a indução de resistência do hospedeiro, com indutores bióticos e abióticos.

O controle biológico vem ganhando grande destaque na cultura da canola (FERNANDO et al., 2007; YANG et al., 2009; WU et al., 2014; KAMAL et al., 2016). Entende-se por controle biológico a utilização de um organismo introduzido, ou habitante natural, antagônico e ou capaz de suprimir as atividades e a população de um fitopatógeno. Dentre os mecanismos de controle, destaca-se o antagonismo direto, indireto e a associação entre estes e outros tipos de antagonismo (FILLIPI et al., 2012). Mais de 100 espécies de fungos e bactérias antagonistas foram identificadas no controle de *Sclerotinia* (LIU et al., 2006). O controle biológico reduz a densidade do inóculo primário e secundário por parasitar, reduzir, enfraquecer ou matar escleródios, ou ainda restringindo a germinação bem como a redução da virulência (SAHARAN; MEHTA, 2008). Além disso esses agentes podem proteger as plantas pela inibição da germinação dos ascósporos e posterior infecção (FERNANDO et al., 2007).

A indução de resistência, ou resistência induzida é um fenômeno na qual a resistência das plantas contra fitopatógenos é induzida através de infecção localizada ou tratamento com componentes ou produtos microbianos ou ainda por meio de compostos orgânicos ou inorgânicos (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005).

### 3.3 USO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum*

#### 3.3.1 Indução de Resistência

A resistência da planta a um determinado patógeno é definida como sendo a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada de um microorganismo patogênico, assim como criar condições desfavoráveis para a infecção/colonização de seus tecidos pelo mesmo (NOJOSA et al., 2005; PASCHOLATI, 2011).

A resistência natural de plantas a patógenos tem com base barreiras e mecanismos de defesa já existentes, sem que para isso seja necessária a chegada do patógeno ao sítio de infecção, conhecidos como pré-formados (AGRIOS, 2005; BARROS et al., 2010; CAMARGO, 2011) e os mecanismos pós-formados, ativados somente após a chegada do patógeno.

Independente se pré ou pós-formado, os fatores envolvidos na resistência podem ser divididos em estruturais ou bioquímicos. Os mecanismos estruturais atuam como barreiras físicas, enquanto os bioquímicos atuam pela produção de substâncias tóxicas ao patógeno, ou criando condições adversas ao estabelecimento deste na planta (PASCHOLATI, 2011).

As plantas podem ser pré-condicionadas contra diversas doenças causadas por diferentes agentes etiológicos. Inicialmente, esses mecanismos foram discutidos em bases serológicas e referidos como “Imunidade Fisiológica Adquirida”, sendo que o fenômeno de resistência em plantas contra doenças esta associado a eficiência do hospedeiro em reconhecer a presença de patógenos por meio de mecanismos de percepção e transdução de sinais (GUZZO; HAKAKA, 2007).

A resistência de plantas inclui resistência basal, resistência de raça ou espécie específica, resistência relacionada à idade (Ontogenética), resistência

órgão específica e as duas formas de resistência mais claramente definidas sendo a resistência adquirida e induzida (IR) nas quais a natureza do agente elictor e o sítio de atuação (sinalização) deste na planta, são pontos chave na classificação do fenômeno de resistência, assim como as respostas bioquímicas incitadas (PASCHOLATI et al., 2010).

A IR é a resistência causada pela ativação dos próprios recursos de defesa geneticamente programadas no hospedeiro, resultando em mudanças que diminuem os efeitos de ataques subsequentes do patógeno. Os mecanismos de defesa envolvidos incluem uma combinação de mudanças físico-químicas no tecido vegetal, tais como lignificação da parede celular formando barreiras a penetração do patógeno e acúmulo de substâncias tóxicas ao patógeno, como fitoalexinas ou proteínas relacionadas a patogênese (RESENDE et al., 2000).

A IR elicitada em plantas por microorganismos no controle de outros microorganismos patogênicos foi identificada há mais de 100 anos (EYLES et al., 2010). Os primeiros relatos sobre o fenômeno da indução de resistência ocorreram em 1901, em estudos com a interação *Botrytis cinerea* x *Begonia* sp. (KESSMAN et al., 1994). Posteriormente em 1933 foi observado em pesquisas, que as plantas normalmente suscetíveis podiam adquirir resistência contra doenças após uma infecção primária causada por patógenos ou após o tratamento com suas formas não virulentas (AGRIOS, 2005).

No Brasil, na década de 70, as primeiras pesquisas sobre resistência induzida abordaram o patossistema plantas de café (*Coffea arabica* L.) x *Hemileia vastatrix* Berk & Br., por meio da utilização de diversos indutores de origem biótica (SILVA et al., 2008).

De modo geral, o fenômeno da resistência induzida envolve três manifestações diferentes de resposta, a Resistência Local ou Hipersensível, a Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) e a Resistência Sistêmica Induzida (RSI).

### 3.3.2 Resistência Local ou Hipersensível

A resistência local ou hipersensível, também chamada de reação de hipersensibilidade (RH), é uma resposta celular extrema por parte da planta que pode levar a um alto grau de resistência às doenças. Conhecida como uma forma

de “suicídio” por parte da planta, esta reação ocasiona a morte repentina de um número limitado de células que circundam o sítio de infecção. Com isso causa a paralisação do crescimento e desenvolvimento do patógeno nos tecidos da planta, os patógenos presentes no local de expressão da reação morrem rapidamente, pois são isolados pelo tecido necrosado (PASCHOLATI, 2011).

Este tipo de reação ocorre em resposta a incompatibilidade entre a planta e o patógeno. Em sua forma clássica, a reação de hipersensibilidade mostra-se como uma pequena lesão necrótica, visível a olho nu, que pode ocorrer em diferentes órgãos das plantas e é considerada como sinônimo de morte celular (AGRIOS, 2005). Dessa forma, a infecção de plantas por um microrganismo fitopatogênico incompatível ou um microrganismo não patogênico pode induzir mudanças drásticas na atividade metabólica das células vegetais ao redor do sítio de infecção e levar a indução de resistência (PASCHOLATI, 2011; SILVA et al., 2008).

### 3.3.3 Resistência Sistêmica Adquirida

Diferentemente de outros seres vivos, as plantas não produzem anticorpos contra patógenos naturalmente, e a maioria de suas defesas bioquímicas ficam inativas até ocorrer a sinalização mobilizada pelo ataque de algum microrganismo. As plantas podem desenvolver uma resistência generalizada em resposta a uma infecção por um fitopatógeno ou pelo tratamento com certos produtos naturais ou sintéticos (AGRIOS, 2005).

Este fenômeno é chamado de Resistência Sistêmica Adquirida, também conhecida pela abreviação SAR, do inglês Systemic Acquired Resistance. Além do caráter sistêmico, a SAR tem um efeito duradouro, podendo persistir por semanas ou até mesmo o final da vida da planta. Outra característica do fenômeno é que o seu efeito é inespecífico, ou seja, a inoculação com um patógeno pode proteger a planta contra outros patógenos. A SAR pode ser ativada pela exposição da planta alvo a patógenos virulentos, avirulentos e fatores abióticos (PASCHOLATI, 2011).

A indução da SAR é mediada por uma das vias hormonais da planta, a via do ácido salicílico, induzida geralmente por patógenos necrotróficos (CAMARGO, 2011) ou ativadores químicos.

Dependendo da planta e do elicitor, é necessário um determinado período de tempo para o estabelecimento da SAR, o qual corresponde ao tempo necessário para a expressão gênica, o acúmulo das proteínas relacionadas a patogênese e a indução sistêmica do ácido salicílico. Qualquer interrupção na capacidade da planta em acumular ácido salicílico, resulta na perda da expressão dos genes relacionados à patogênese e redução na resposta da SAR (VALLAD; GOODMAN, 2003).

A indução via SAR, leva à restrição do crescimento de patógenos resultando na supressão ou redução dos sintomas das doenças, devido à ativação dos mecanismos de resistência das plantas em associação a expressão de um conjunto de genes de defesa (MÉTRAUX, 2001; PASCHOLATI, 2011).

Dentre as proteínas relacionadas a SAR destacam-se as quitinases, que hidrolisam a quitina, principal componente da parede celular de muitos fungos. As  $\beta$ -1,3 glucanases, enzimas que hidrolisam polímeros de  $\beta$ -1,3 glucana, composto que juntamente com a quitina confere resistência à parede celular dos fungos, peroxidases que oxidam compostos fenólicos e aceleram a polimerização, dando origem a substâncias similares a lignina, que posteriormente depositam-se na parede celular dificultando o posterior crescimento e desenvolvimento do patógeno (AGRIOS, 2005).

### 3.3.4 Resistência Sistêmica Induzida

Assim como na SAR, na Resistência Sistêmica Induzida (RSI), após a exposição a um agente indutor, a planta tem seus mecanismos de defesa ativados não somente no sítio de indução, mas também em outros locais distantes dele. Pode-se dizer que os dois fenômenos são distintos, porém fenotipicamente semelhantes (BAKKER; DOORNBOS; LOON, 2010; PASCHOLATI, 2011).

Na RSI ocorre a indução sistêmica na planta, sendo a molécula sinalizadora mediada pelo ácido jasmônico e o etileno. Neste caso não há o acúmulo de proteínas-PR, a planta que sofreu indução não exhibe alterações visíveis como necrose, e o agente indutor é normalmente um agente não patogênico (como bactérias não patogênicas e promotoras de crescimento). Este fenômeno apresenta também um amplo espectro de atuação, ou seja, assim como na SAR, apresenta

efetividade contra diferentes tipos de patógenos (SILVA et al., 2008; PASCHOLATI, 2011).

A indução de resistência tem sido correlacionada diretamente à síntese de enzimas importantes em diferentes rotas metabólicas de defesa, como peroxidase, lipoxigenases, glucanases, quitinases, entre outras (SILVA et al., 2004).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório do curso de Agronomia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa e foram repetidos duas vezes. Para ambos os experimentos foram testados os fertilizantes foliares High Roots® (N - 18%, K<sub>2</sub>O - 6%), V6® (Mn - 2,5%; Zn - 1,9%; Mo - 0,16%), Maxi Flor® (N - 14%; K<sub>2</sub>O - 6%), Wert Plus® (Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9%) fosfito de potássio (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 26%; K<sub>2</sub>O 19%) fosfito de manganês (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 36%, Mn - 7,0%), fosfito de cobre (N 11%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%), manganês (Mn 10%; S 5,48%), fungicida procimidona, o extrato de alga *Ascophyllum nodosum* (Acadian® - K<sub>2</sub>O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0%) e os produtos biológicos à base de *Bacillus subtilis* (Serenade® - 13,68 g L<sup>-1</sup> (1,34%) - 1 x 10<sup>9</sup> CFU g<sup>-1</sup>) e à base de *Bacillus thuringiensis* (Dipel WP® - 32 g Kg<sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bilhões de esporos viáveis g<sup>-1</sup>).

### 4.2 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DO INÓCULO

O patógeno, *Sclerotinia sclerotiorum*, foi obtido em lavoura de canola, cultivada no município de Guaragi-PR. Os escleródios do patógeno (Figura 1) foram submetidos a assepsia e depositados em placa de petri contendo Batata - Dextrose - Ágar (BDA) e mantidos em câmara de crescimento tipo BOD à 24 ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas, para o crescimento do fungo.



Figura 1 - Escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum* na haste de canola (*Brassica napus*) em campo (A) e crescimento micelial em placa de Petri (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

### 4.3 CRESCIMENTO MICELIAL

Para o teste de crescimento micelial foi utilizado o meio de cultura BDA, para o desenvolvimento do fungo. Todos os produtos foram incorporados no meio de cultura fundente, nas concentrações 1, 10, 100 e 1.000 ppm por diluição em série a partir de uma solução contendo 100 mL do meio de cultura na concentração de 1.000 ppm (Figura 2). Além da incorporação no meio de cultura fundente, os produtos biológicos também foram incorporados no meio de cultura e a esterilizados em autoclave.

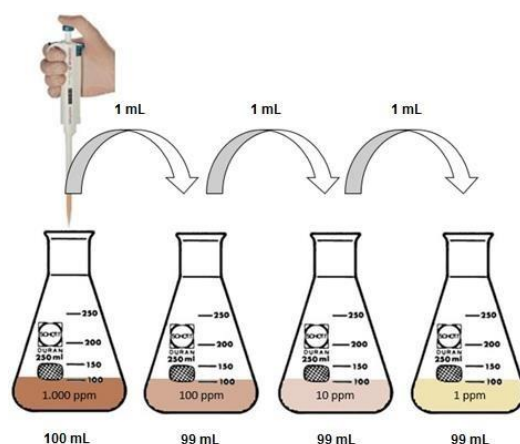


Figura 2 - Esquema representativo do método de diluição em série para a obtenção das concentrações dos produtos utilizados nos experimentos *in vitro* para controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ponta Grossa - PR, 2017 (JACQUES, 2015).

Após a incorporação dos produtos e solidificação do meio de cultura nas placas de Petri, foram transferidos para o centro das placas discos de micélio do fungo de 0,6 cm de diâmetro proveniente de uma placa com colônia com 6 dias de idade, completamente desenvolvida. A testemunha correspondeu a placas contendo apenas meio de cultura BDA, com um disco de micélio no centro, sem a incorporação dos produtos. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em câmara tipo BOD a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, por 5 dias. Foi avaliado diariamente o crescimento micelial do fungo, por cinco dias.

Através da medição diária do diâmetro da colônia nas placas de Petri foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) pela fórmula

descrita por Oliveira (1991), na qual  $D$  = diâmetro médio atual da colônia,  $D_a$  = diâmetro médio da colônia do dia anterior,  $N$  = número de dias de avaliação.

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N}$$

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, representado pelos produtos em diferentes concentrações (14 produtos x cinco concentrações) com cinco repetições para cada tratamento. Cada placa de Petri contendo as colônias foi considerada uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e o efeito das doses de cada tratamento foi analisado por regressão. Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM CANOLA PELO MÉTODO DE FOLHA DESTACADA

O método de avaliação da folha destacada é uma técnica simples e rápida para testar a reação de plantas a patógenos em condições de laboratório (MORAES; SALGADO, 1982), uma alternativa para testes preliminares de indução de resistência. A vantagem deste método é a economia de espaço, menor risco de contaminação e possibilidade de manipulação do ambiente (TWIZEYIMANA et al., 2007) visto que os gerbox são armazenados em câmara tipo BOD com temperatura e fotoperíodo controlado.

Esse método já foi utilizado em experimentos para estudos de resistência em culturas ao fungo *S. sclerotiorum*, exemplos encontrados são a cultura da soja (KIM et al., 2000; MUELLER; PEDERSEN; HARTMAN, 2002) feijão (KULL et al., 2003; MIORINI, 2015). Na cultura da canola, foi testado por Ding et al. (2013) e por Bradley et al. (2006) testando cultivares resistentes ao patógeno.

Sementes de canola híbrido Al High Tech M6 Clear Field (ALHT M6 CL) foram semeadas em vasos contendo substrato composto de casca de pinus, em casa de vegetação para realização do teste de folha destacada. Quando a planta atingiu o estágio de duas folhas verdadeiras, estas foram coletadas com o auxílio de uma tesoura desinfestada e levadas para laboratório.

A metodologia utilizada para o método da folha destacada foi proposta por Bradley et al (2006), na qual folhas de canola foram levadas ao laboratório, e acondicionadas em caixas do tipo gerbox (desinfestadas em álcool 70% e hipoclorito de sódio a 5%) contendo 2 folhas de papel filtro esterilizado previamente e umedecidas com 20 mL de água esterelizada. Foram acondicionadas duas lâminas de microscopia para evitar o contato direto da folha com o papel úmido e no pecíolo da folha foi colocado uma porção de algodão umedecido com água destilada e esterilizada para garantir que a folha permanecesse viva. Posteriormente metade da sua superfície foi pulverizada até o ponto de molhamento foliar com os produtos (Figura 3) e a outra metade protegida com um papel absorvente para que não ocorresse aplicação.

Após 24 horas da aplicação dos produtos foi realizada a inoculação artificial do patógeno (*S. sclerotiorum*). Discos do micélio de 0,6 cm de diâmetro do fungo cultivados em BDA incubados por seis dias foram colocados na nervura central da folha. A reaplicação dos produtos foi após 72 horas da inoculação do patógeno na mesma metade da folha onde foi aplicado anteriormente. As caixas gerbox com as folhas foram acondicionadas em câmara tipo BOD com temperatura de  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h, durante todo o experimento.



Figura 3 - Folha de canola (*Brassica napus*) utilizada na avaliação de folha destacada com aplicação dos tratamentos e inoculada com disco de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* e mantida em câmara BOD. Ponta Grossa - PR, 2017.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 14 (tratamentos) x 2 (aplicação ou não do produto em metade da mesma folha), com cinco repetições onde cada folha foi considerado uma repetição.

A testemunha foi composta por folha sem a pulverização dos produtos, a dosagem de cada tratamento foi realizada de acordo com a recomendação do fabricante, sendo preparada uma solução de 200 mL (Tabela 1).

Tabela 1 - Produtos testados no método folha destacada, em canola (*Brassica napus*) e suas respectivas dosagens no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ponta Grossa - PR, 2017.

| TRATAMENTO                    | CONCENTRAÇÃO                                                                        | DOSAGEM<br>(0,2 mL <sup>-1</sup> água) |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| High Roots®                   | N 18%, K <sub>2</sub> O 6%                                                          | 400 µL                                 |
| V6®                           | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16%                                                          | 400 µL                                 |
| Maxi Flor®                    | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16%                                                          | 400 µL                                 |
| Wert Plus®                    | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9%                                                               | 400 µL                                 |
| Fosfito de potássio           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 26%; K <sub>2</sub> O 19%                             | 6000 µL                                |
| Fosfito de manganês           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 36%, Mn 7,0%                                          | 560 µL                                 |
| Fosfito de cobre              | N 11%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%                            | 5000 µL                                |
| Manganês                      | Mn 10%; S 5,48%                                                                     | 3000 µL                                |
| Fungicida                     | procimidona (50m/m i.a)                                                             | 3 g                                    |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>    | Acadian® - K <sub>2</sub> O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0 %                  | 900 µL                                 |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | Serenade®-13,68 g L <sup>-1</sup> (1,34%) - 1 x 10 <sup>9</sup> CFU g <sup>-1</sup> | 8000 µL                                |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | Dipel WP® - 32 g Kg <sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bi de esporos viáveis g <sup>-1</sup> | 0,12 g                                 |
| <i>Trichoderma asperellum</i> | Isolado SF (1,0 x 10 <sup>9</sup> UFC g <sup>-1</sup> )                             | 0,24 g                                 |
| Bion®                         | acibenzolar-S-metilico (ASM) (50m/m i.a)                                            | 0,06 g                                 |

Avaliou-se a severidade da doença diariamente, totalizando 6 avaliações, com auxílio da escala de Juliatti et al. (2013) modificada. Com os dados obtidos, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), pela equação descrita abaixo (SHANER; FINNY, 1977):

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) / 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

Na qual:

Y<sub>i</sub>: severidade da doença na época de avaliação i (i=1, n)

Y<sub>i+1</sub>: severidade da doença na época de avaliação i + 1

T<sub>i</sub>: época da avaliação i, que considerou o número de dias após a emergência das plantas.

T<sub>i+1</sub>: época da avaliação i +1

n: número de observações

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

#### 4.5 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR. As plantas de canola híbrido Al High

Tech M6 Clear Field (ALHT M6 CL), foram cultivadas em vasos plásticos (capacidade para 3 L) contendo substrato composto por casca de pinus. Foram semeadas seis sementes por vaso, dez dias após a emergência procedeu-se o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Os tratamentos utilizados foram os mesmos do experimento com folhas destacada (Tabela 1) e a testemunha correspondeu as plantas pulverizadas somente com água destilada. A pulverização dos produtos dos respectivos tratamentos foi realizada quando as plantas de canola estavam no estágio início de florescimento, apresentando 4 folhas expandidas. Os produtos foram pulverizados no primeiro par de folhas verdadeiras, as demais folhas foram protegidas com um copo plástico, para que não fossem tratadas com o objetivo de se avaliar a indução de resistência (Figura 4). Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com 14 tratamentos e dez repetições.

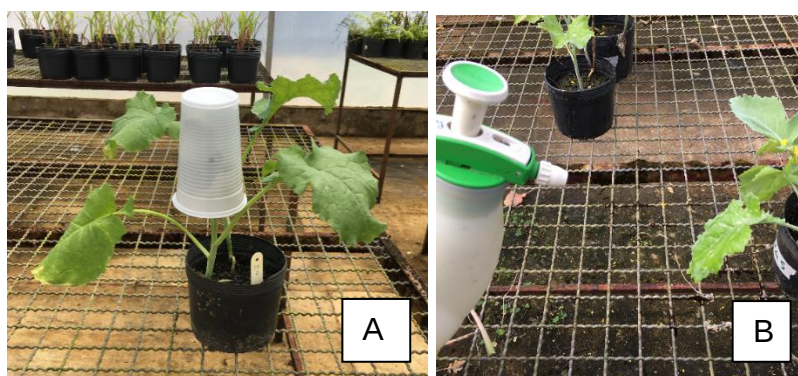


Figura 4 - Plantas de canola (*Brassica napus*) durante o processo de pulverização dos tratamentos no primeiro par de folhas verdadeiras (A) e momento de aplicação com o pulverizador manual (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

O patógeno foi cultivado em laboratório em placas com BDA pelo período de seis dias, incubados em câmara BOD com temperatura de  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h. As plantas foram inoculadas aos 47 dias após a semeadura, por meio do método do palito (GASPERI, 2000). Nesse método, para o preparo do inóculo, palitos de dente foram esterilizados por autoclavagem e acondicionados em posição horizontal em placas de Petri contendo meio BDA solidificado. Foram transferidos para o centro das placas de Petri disco de micélio do fungo *S. sclerotiorum* de 0,6 cm de diâmetro proveniente de uma placa com colônia do fungo com seis dias de idade, completamente desenvolvida. As placas foram incubadas em câmara BOD

durante seis dias a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas, para promover a colonização dos palitos pelo fungo.

Por ocasião da inoculação, os palitos estavam com suas extremidades totalmente colonizadas pelo patógeno. Os palitos foram inseridos nas hastes, acima das folhas primárias das plantas (Figura 5). Nas plantas do tratamento testemunha a perfuração da haste foi realizada apenas com palitos esterilizados. As plantas inoculadas foram cobertas com um saco plástico transparente umedecido, de modo a formar uma câmara úmida, na qual permaneceram por um período de 36 horas.

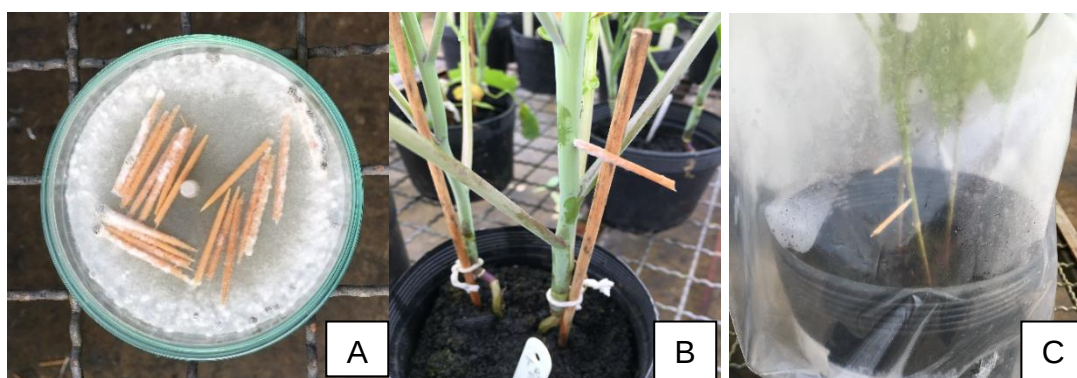


Figura 5 - Placa de Petri com colônia do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* com seis dias de idade, completamente desenvolvida (A); haste da planta de canola (*Brassica napus*) perfurada com palito colonizado com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (B) e plantas de canola inoculadas e cobertas com saco plástico para formar câmara úmida (C). Ponta Grossa - PR, 2017.

Iniciaram-se as avaliações da severidade da doença, determinando-se do tamanho da lesão, por ocasião da retirada da câmara úmida e a partir de então a cada dois dias, até completar dez avaliações segundo a metodologia proposta por Venturose (2012).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com dez repetições onde cada planta foi considerado uma repetição.

Com os dados obtidos, foi calculada área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) a partir do comprimento das lesões, e submetidos à análise de variância pelo teste de F, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

## 4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Para as análises bioquímicas, a folha inteira foi coletada 24, 48, 72, após a inoculação do patógeno. Durante o procedimento, cada amostra coletada foi imediatamente acondicionada em envelopes de papel alumínio e congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Foram coletadas amostras nas folhas verdadeiras tratadas (1º par) e nas folhas verdadeiras não tratadas (2º par) para possível identificação de indução de resistência em folhas que não haviam sido tratadas (STANGARLIN; PASCHOLATI, 2000).

### 4.6.1 Obtenção dos extratos proteicos

As amostras de folhas, pesando 0,5 gramas, foram homogeneizadas mecanicamente em dois mL de tampão de extração (fosfato de sódio 0,01M (pH 6,0), em almofariz de porcelana. O homogenato foi centrifugado a 6.500 g (força gravitacional) durante 10 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , sendo o sobrenadante obtido considerado como extrato enzimático, para posterior determinação do teor de proteína e atividade das enzimas de peroxidase e polifenoloxidase (VIECELLI, 2008).

#### 4.6.1.1 Teor de proteína

O teor de proteínas totais foi avaliado pelo método de Bradford (1976). A concentração de proteínas, expressa em termos equivalentes de  $\mu\text{g}$  de albumina de soro bovino (ASB) em um mL de amostra ( $\mu\text{g}$  proteína  $\text{mL}^{-1}$ ), foi determinada utilizando-se curva padrão de concentrações de ASB, variando de 0 a 20  $\mu\text{g}$   $\text{mL}^{-1}$ .

#### 4.6.1.2 Atividade enzimática

A atividade de peroxidases (E.C. 1.11.1.7) foi determinada a  $30^{\circ}\text{C}$ , através de método espectrofotométrico direto a 470 nm durante 2,15 minutos (LUSSO; PASCHOLATI, 1999) através da medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol. A mistura da reação continha 0,10 mL de extrato proteico e 2,9 mL de solução com 12,5 mL de gaiacol a 2% e 360  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio em 87,5 mL de tampão

fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0). A atividade de peroxidase foi expressa em absorbância  $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de peso fresco.

A atividade de polifenoloxidase (E.C 1.10:3.2) foi determinada de acordo com a metodologia de Duangmal e Apenten (1999) que mede a conversão de catecol em quinona. O substrato foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,8). A reação ocorreu misturando-se 950  $\mu\text{L}$  do substrato e 50  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. A atividade foi determinada a 30°C, através de método espectrofotométrico direto a 420 nm durante 2,15 minutos. Os resultados foram expressos em absorbância  $\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$  de peso fresco.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 8 x 2 (oito produtos com e sem aplicação do produto). Os produtos utilizados foram: testemunha com fungo, testemunha sem fungo, *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, ASM, fosfito de cobre e fungicida procimidona.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

#### 4.7 EXPERIMENTO A CAMPO

Os experimentos foram conduzidos na Fazenda Escola Capão da Onça, pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR e na Fazenda Limeira localizada no Distrito de Guaragi, município de Ponta Grossa, PR (Figura 6).

A Fazenda Escola Capão da Onça está localizada a 25°5'49" de latitude sul, 50°3'11" de longitude leste e altitude de 1.025 m acima do nível do mar. O solo no local é um Latossolo Vermelho Tb distrófico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006).

A Fazenda Limeira está localizada no Distrito de Guaragi, pertencente ao município de Ponta Grossa, Paraná. Com coordenadas geográficas 25°19'57,7" de latitude sul e 50°13'46,5" de longitude leste e altitude de 832 m. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006). A área é conduzida em sistema de semeadura direta na palha há 18 anos com rotação de culturas nos últimos quatro anos (milho-trigo-soja-canola), em safras anteriores houve ocorrência do mofo branco na cultura da canola.

Em ambas as áreas, o clima é classificado de acordo com a Carta Climática (IAPAR, 2011), como subtropical úmido mesotérmico (Cfb), sem estação seca definida, com geadas frequentes no inverno e temperaturas médias nos meses mais quentes de 21,4°C e nos meses mais frios de 13°C. A precipitação média anual é de 1.600 a 1.800 mm, onde os meses mais secos são junho, julho com média de 100 a 125 mm e agosto com 75 a 100 mm. Estes mesmos meses também são considerados os mais frios, com média de 13 a 14°C (IAPAR, 2011).

A Fazenda Limeira é conduzida em sistema de semeadura direta na palha a 18 anos com rotação de culturas nos últimos quatro anos, sendo milho-trigo-soja-canola. Nesta fazenda foi conduzido experimento somente em uma safra, com semeadura no dia 02 junho de 2016.

Na Fazenda Escola Capão da Onça foram conduzidos experimentos em dois anos, a primeira semeadura no dia 22/06/2015 e a segunda no dia 16/06/2016.

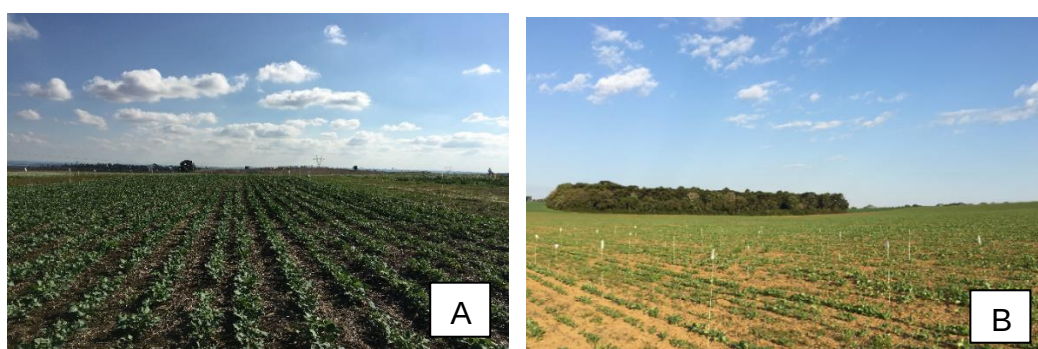


Figura 6 - Área experimental na Fazenda Escola Capão da Onça (A) e Fazenda Limeira (B) onde foram semeados canola (*Brassica napus*). Ponta Grossa - PR, 2017.

Em ambas as áreas, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso, 14 tratamentos com 4 repetições em parcelas de 3,0 x 4,0 m, totalizando área de 12,0 m<sup>2</sup>. O híbrido utilizado foi Al High Tech M6 Clear Field (ALHT M6 CL), a semeadura da cultura foi realizada no sistema semeadura direta na palha no espaçamento entre linhas de 40 cm e população de 22 plantas m<sup>-1</sup>. O controle de plantas daninha em todas as safras, foi realizado com Imazetapir (100 g i. a. ha<sup>-1</sup>) aos 20 dias após a emergência (DAE).

Os produtos avaliados como indutores utilizados no experimento a campo foram os mesmos testados na avaliação em folha destacada, seguindo a

recomendação do fabricante, a dosagem foi calculada para uma solução com 1900 mL de água (Tabela 2).

As aplicações dos produtos, na primeira safra, na Fazenda Capão da Onça, foram realizadas aos 37 DAE (estádio fenológico C1 52 DAE) e aos 67 DAE (florescimento). Na segunda safra, as aplicações, foram realizadas aos 39 DAE (estádio fenológico C1), 54 DAE (estádio fenológico C1) e aos 69 DAE (florescimento). Na Fazenda Limeira foram realizadas aos 35 DAE (estádio fenológico C1), 50 DAE (estádio fenológico C1) e aos 65 DAE (florescimento), de acordo com a escala fenológica da cultura, de acordo com Maia; Reis; Alvarenga (1999).

Tabela 2 - Produtos testados no campo, na cultura da canola (*Brassica napus*) e suas respectivas dosagens, para avaliação do controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ponta Grossa – PR, 2017.

| TRATAMENTO                    | CONCENTRAÇÃO                                                                 | DOSAGEM<br>(200 mL água) |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| High Roots®                   | N - 18%, K <sub>2</sub> O - 6%                                               | 4000 µL                  |
| V6®                           | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16%                                                   | 4000 µL                  |
| Maxi Flor®                    | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16%                                                   | 4000 µL                  |
| Wert Plus®                    | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9%                                                        | 4000 µL                  |
| Fosfito de potássio           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 26%; K <sub>2</sub> O 19%                      | 7200 µL                  |
| Fosfito de manganês           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 36%, Mn 7,0%                                   | 5500 µL                  |
| Fosfito de cobre              | N 11%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%                     | 3500 µL                  |
| Manganês                      | Mn 10%; S 5,48%                                                              | 3600 µL                  |
| Fungicida                     | procimidona (50 m/m)                                                         | 7,6 g                    |
| <i>Ascochyllum nodosum</i>    | K <sub>2</sub> O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0 %                      | 7200 µL                  |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | 13,68 g L <sup>-1</sup> (1,34%) - 1 x 10 <sup>9</sup> CFU g <sup>-1</sup>    | 7000 µL                  |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 32 g Kg <sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bilhões de esporos viáveis g <sup>-1</sup> | 1 g                      |
| <i>Trichoderma asperellum</i> | Isolado SF 1,0 x 10 <sup>9</sup> UFC g <sup>-1</sup>                         | 0,24 g                   |
| Bion®                         | acibenzolar-S-metílico (ASM) (50 m/m i.a)                                    | 0,6 g                    |

#### 4.7.1 Avaliações

Foram realizadas 6 avaliações de severidade da doença, estimando a porcentagem de mofo branco na haste, com auxílio de escala diagramática proposta por Juliatti et al. (2013) para a cultura da soja, adaptada para canola. As avaliações na primeira época de semadura, Fazenda Capão da Onça, foram iniciadas aos 75 DAE (estádio de desenvolvimento F1) e na segunda época aos 74 DAE. Na Fazenda Limeira as avaliações foram iniciadas aos 70 DAE (estádio de desenvolvimento F1). Para as avaliações, foram marcadas 10 plantas nas três fileiras centrais, totalizando 30 plantas por parcela, em todas as avaliações foram avaliadas as mesmas plantas. Com os dados de severidade foi calculada a Área

Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Em cada parcela, dos três experimentos, as plantas de uma linha de um metro foram colhidas ao acaso para determinar o número de plantas por metro, número de sílica por planta. Ao final foram colhidas as plantas de uma área de 9,0 m<sup>2</sup>, para estimar a produtividade padronizando a umidade para 13%.

A colheita do segundo experimento, na unidade da Fazenda Escola Capão da Onça foi realizada aos 162 DAE (estádio de desenvolvimento G5) (12/12/2016) e na Fazenda Limeira foi aos 153 DAE (estádio de desenvolvimento G5) (05/11/2016).

Após a colheita nos dois experimentos foi realizada a avaliação da qualidade sanitária das sementes de canola pelo método “Blotter test” ou método de papel filtro (HENNING, 1994). Foram utilizadas 200 sementes de cada tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram dispostas individualmente sobre camada de papel germitest umedecido com água destilada e esterilizada (duas folhas de papel germitest) no interior de caixa gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) desinfestado. Os gerbox com as sementes foram incubados em BOD à 24 ± 2°C, com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada após sete dias de incubação, examinando-se individualmente todas as sementes. Os fungos foram identificados ao nível de gênero, com base em suas características morfológicas visualizadas (BARNET; HUNTER, 1986).

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para campo, o delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 14 tratamentos com 4 repetições, totalizando 56 parcelas. Para a qualidade sanitária, o delineamento experimental foi o inteiramente casulaizado, com 4 repetições, sendo cada repetição constituído de um gerbox contendo 50 sementes.

Os dados obtidos no campo foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os dados de sanidade de sementes foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(x+0,5)/100}$ . Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EXPERIMENTOS *in vitro*

Para o índice de crescimento micelial houve efeito significativo para os fatores tratamentos e doses (Tabela 3). Para o primeiro experimento, analisando primeiramente cada tratamento dentro das concentrações (Tabela 3), observa-se que na concentração de 1000 ppm houve diferença significativa entre os produtos.

Tabela 3. Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum* submetido ao efeito de tratamentos alternativos em diferentes concentrações *in vitro*. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Primeiro experimento                      |            |     |       |        |       |        |       |      |       |      |
|-------------------------------------------|------------|-----|-------|--------|-------|--------|-------|------|-------|------|
| Tratamento                                | Dose (ppm) |     |       |        |       |        |       |      |       |      |
|                                           | 0          |     | 1     |        | 10    |        | 100   |      | 1000  |      |
| Fungicida - procimidona                   | 17,75      | aB* | 25,47 | aA*    | 13,50 | fC*    | 0,00  | dD*  | 0,00  | eD*  |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 17,75      | aAB | 20,47 | abcA   | 19,83 | bcdeA  | 16,36 | bAB  | 15,50 | cB   |
| <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 17,75      | aB  | 22,42 | abcA   | 25,11 | aA     | 24,83 | aA   | 24,67 | aA   |
| <i>Bacillus subtilis</i>                  | 17,75      | aB  | 23,33 | abA    | 21,44 | abcAB  | 6,417 | cC   | 0,00  | eD   |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> autoclavado | 17,75      | aAB | 9,028 | eC     | 16,03 | defB   | 21,31 | abA  | 1,89  | eD   |
| <i>Bacillus subtilis</i> autoclavado      | 17,75      | aA  | 15,33 | dA     | 18,28 | cdefA  | 0,11  | dB   | 0,00  | eB   |
| Fosfito de Cobre                          | 17,75      | aA  | 17,75 | cdA    | 16,11 | defA   | 16,44 | bAB  | 4,11  | deB  |
| Fosfito de Mabganês                       | 17,75      | aB  | 22,50 | abcA   | 22,31 | abcA   | 22,69 | aA   | 1,97  | eC   |
| Fosfito de Potássio                       | 17,75      | aA  | 21,78 | abcA   | 21,47 | abcA   | 21,75 | aA   | 8,81  | dB   |
| Manganês                                  | 17,75      | aA  | 21,56 | abcA   | 19,19 | bcdeA  | 20,44 | abA  | 3,89  | deB  |
| Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 17,75      | aAB | 19,92 | bcdA   | 15,75 | efB    | 16,33 | bAB  | 8,33  | dC   |
| Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 17,75      | aA  | 21,81 | abcA   | 20,94 | abcdA  | 20,94 | abA  | 0,00  | eB   |
| N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 17,75      | aB  | 22,61 | abcA   | 19,14 | bcdeAB | 22,33 | aA   | 17,83 | bcB  |
| Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)   | 17,75      | aB  | 23,92 | abA    | 23,67 | abA    | 23,28 | aA   | 20,78 | abAB |
| C.V. (%)                                  | 15,82      |     |       |        |       |        |       |      |       |      |
| Segundo experimento                       |            |     |       |        |       |        |       |      |       |      |
| Tratamento                                | Dose (ppm) |     |       |        |       |        |       |      |       |      |
|                                           | 0          |     | 1     |        | 10    |        | 100   |      | 1000  |      |
| Fungicida - procimidona                   | 15,39      | aB* | 25,47 | aA*    | 13,50 | cB*    | 0,00  | dC*  | 0,00  | fC*  |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 15,39      | aB  | 18,81 | abcdAB | 16,61 | abcAB  | 19,89 | abAB | 21,53 | aA   |
| <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 15,39      | aB  | 23,39 | abA    | 25,67 | aA     | 22,81 | aA   | 23,81 | aA   |
| <i>Bacillus subtilis</i>                  | 15,39      | aA  | 0,00  | gB     | 0,00  | dB     | 0,00  | dB   | 0,00  | fB   |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> autoclavado | 15,39      | aB  | 9,03  | fC     | 16,03 | cAB    | 21,31 | aA   | 1,89  | fD   |
| <i>Bacillus subtilis</i> autoclavado      | 15,39      | aA  | 15,33 | defA   | 18,28 | bcA    | 0,11  | dB   | 0,00  | fB   |
| Fosfito de Cobre                          | 15,39      | aA  | 17,19 | bcdA   | 14,50 | cA     | 14,11 | bcA  | 4,11  | defB |
| Fosfito de Manganês                       | 15,39      | aA  | 14,98 | defA   | 17,47 | bcA    | 18,14 | abA  | 3,25  | efB  |
| Fosfito de Potássio                       | 15,39      | aAB | 18,56 | bcdA   | 13,61 | cAB    | 16,81 | abAB | 11,67 | bcB  |
| Manganês                                  | 15,39      | aA  | 16,19 | cdeA   | 15,36 | cA     | 13,19 | bcA  | 3,30  | efB  |
| Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 15,39      | aA  | 17,78 | bcdA   | 13,75 | cAB    | 9,47  | cB   | 9,50  | cdeB |
| Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 15,39      | aB  | 9,47  | efC    | 23,97 | abA    | 23,61 | aA   | 0,33  | fD   |
| N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 15,39      | aB  | 22,61 | abcA   | 19,14 | abcAB  | 22,33 | aA   | 17,83 | abAB |
| Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)   | 15,39      | aBC | 18,69 | abcdAB | 18,53 | bcAB   | 21,97 | aA   | 10,56 | cdC  |
| C.V. (%)                                  | 25,23      |     |       |        |       |        |       |      |       |      |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

O fungicida, *B. subtilis* não autoclavado e autoclavado, e o nutriente Wert Plus® inibiram o crescimento do patógeno, entretanto não diferiram estatisticamente dos tratamentos *B. thuringiensis*, fosfito de cobre e manganês e nutriente manganês.

Nota-se que, o fungicida também controlou 100% o crescimento do fungo na concentração de 100 ppm, entretanto não diferiu estatisticamente do tratamento *B. subtilis* autoclavado. Nessa concentração, os tratamentos que apresentaram menor controle do patógeno foram *B. thuringiensis* (autoclavado e não autoclavado), os fosfitos de manganês e potássio, e os nutrientes manganês, Wert plus®, Hight Roots® e Maxi Flor®. Na concentração de 10 ppm, novamente o fungicida apresentou maior controle no desenvolvimento do patógeno, destacando-se entre os demais tratamentos, entretanto não diferiu estatisticamente dos tratamentos *B. thuringiensis* e *subtillis* autoclavados, fosfito de cobre e V6®.

Na menor concentração testada (1ppm) o tratamento com maior controle do fungo, superior até mesmo ao tratamento fungicida, foi o *B. thuringiensis* autoclavado, seguido pelos tratamentos *B. subtilis* autoclavado que não diferiu estatisticamente do fosfito de cobre e V6®.

Já para o segundo experimento (Tabela 3), o tratamento com *B. subtilis* controlou 100% o crescimento do fungo em todas as concentrações testadas. O fungicida procimidona inibiu 100% o crescimento micelial nas concentrações de 100 e 1000 ppm.

Na concentração de 1000 ppm, não diferiu estatisticamente dos tratamentos *B. subtilis* (autoclavado e não autoclavado) e fungicida, os tratamentos *B. thuringiensis* autoclavado, fosfito de cobre e manganês, e os nutrientes manganês e Wert Plus®. O tratamento que apresentou menor controle sobre o crescimento micelial do fungo, foram os controles biológicos com *A. nodosum* e *B. thuringiensis* (não autoclavado) e o nutriente Hight Roots®.

Na concentração de 100 ppm apresentaram maior controle no crescimento micelial, não diferindo estatisticamente, os tratamentos fungicida, *B. subtilis* (autoclavado e não autoclavado), seguido pelos tratamentos com fosfito de cobre, manganês e V6®. Na concentração de 10 ppm, somente o tratamento com *B. subtilis* (não autoclavado) inibiu de maneira satisfatório o crescimento micelial do fungo, assim como na concentração de 1 ppm, seguido pelos tratamentos *B. thuringiensis* e *subtillis* (autoclavados), fosfito de manganês e Wert Plus®.

Provavelmete a inibição do crescimento micelialde *S. sclerotiorum*, pela bactéria *B. subtilis* ocorreu pelo fato da bactéria produzir metabolitos voláteis e não voláteis (KAMAL, 2015) que tem a capacidade de alterar a estrutura da parede celular de fungos fitopatogênicos. Muis e Quimio (2006) também observaram a difusão e a volatilidade de metabólitos tóxicos de *Bacillus* spp, em meio de cultura sobre o desenvolvimento do fungo *Rhizoctonia solani*. Os autores puderam comprovar a efetividade da produção de compostos tóxicos pela bactéria, pela formação de halos de inibição durante o crescimento micelial do fungo, além de compostos voláteis que agem como inibidores do crescimento micelial do fungo.

Dentre os compostos produzidos por *B. subtilis* encontram-se enzimas líticas (quitinases, proteases e celulasas), antibióticos e compostos voláteis que possuem capacidade de alterar a estrutura de diversos fungos fitopatogênicos. Como exemplo de antibióticos encontram-se o iturim A e surfactina (efetivo no controle de *Botrytis cinerea* e *R. solani*), bacillomicina D (*Aspergillus flavus*) e a micosubtilina (*Pythium aphanidernatum*). Cianeto de hidrogênio, aldeídos, álcoóis, quitonas e sulfídeos estão entre os representantes dos compostos voláteis que são produzidos pela bactéria e que podem causar deformação estrutural em diversos fungos fitopatogênicos (MAHESHWARI, 2013).

Em relação ao uso de fosfitos, tem-se observado o efeito tóxico destes sobre o crescimento micelial, esporulação e na germinação de esporos de alguns fungos, evidenciando assim o modo de ação direta fungistática (MULLER, 2015). Segundo Guest e Grant (1991), a ação dos fosfitos pode ser direta sobre o patógeno ou ainda indireta, através da indução de resistência.

Os fosfitos de potássio têm sido utilizados em diversos trabalhos no controle de fitopatógenos *in vitro*, como no trabalho de Araujo; Valdebenito e Stadnik (2010) com *Colletotrichum gloesporioides*, Schurt et al. (2013) com o fungo *R. solani*, Muller (2015) no controle de *S. sclerotiorum*.

Trabalho realizado por Caixeta, Vieira e Canedo (2012), demonstraram que o fosfito de potássio possui ação direta de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* e da esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. O mesmo resultado foi obtido por Ribeiro Júnior et al. (2006) com *Verticillium dahliae* *in vitro*.

O tratamento com *B. thuringiensis* quando autoclavado, no presente trabalho, também apresentou resultados positivos no controle do crescimento micelial de *S.*

*sclerotiorum*. Resultado semelhante foi relatado por Remuska e Dalla Pria (2007) também no controle do fungo *S. sclerotiorum*. Maheshwari (2013) afirma que essa bactéria, assim como outras bactérias do mesmo gênero, produzem o antibiótico zwittermicina A, além de toxinas, como ácido butírico, cianeto, exotoxinas e sulfato de hidrogênio, porém não apresentam tanta efetividade no controle de fungos fitopatogênicos.

O uso de nutrientes, no controle de patógenos também vem sendo testado há alguns anos. Chahal e Rawla (1980) ao avaliarem a influência de micronutrientes e compostos orgânicos no crescimento do fungo *Penicillium crustosum* Thorn, *in vitro*, concluíram que compostos como Fe, Zn, Cu, Mo entre outros compostos orgânicos são essenciais para o desenvolvimento do fungo em determinadas concentrações que quando aumentadas inibem progressivamente o crescimento de hifas, assim como a sua deficiência. Os autores observaram também que os nutrientes Mn, Ca e Co não são requeridos para um normal desenvolvimento do fungo.

Quando compara-se os produtos separadamente, para cada dose, observa-se no primeiro experimento que os tratamentos fungicida, *A. nodosum*, e Maxi flor, *B. subtilis* (não autoclavado) apresentaram redução no crescimento micelial do fungo, com o aumento na concentração do produto, sendo que o último tratamento apresentou 100% de controle do fungo na concentração 1000 ppm. Os tratamentos fosfito de cobre e Wert plus® apresentaram uma redução significativa entre as concentrações 100 e 1000 ppm, sendo que nesta última concentração, Wert Plus® apresentou 100% de controle no desenvolvimento do patógeno.

Houve comportamento quadrático para todos os tratamentos, exceto *B. thuringiensis* autoclavado, que não apresentou efeito para esse fator (Figuras 7 e 8).

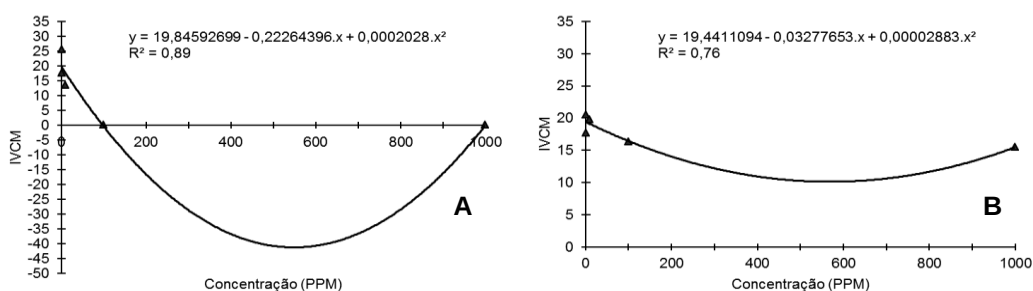


Figura 7 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida procimidona (A) e *Ascophyllum nodosum* (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

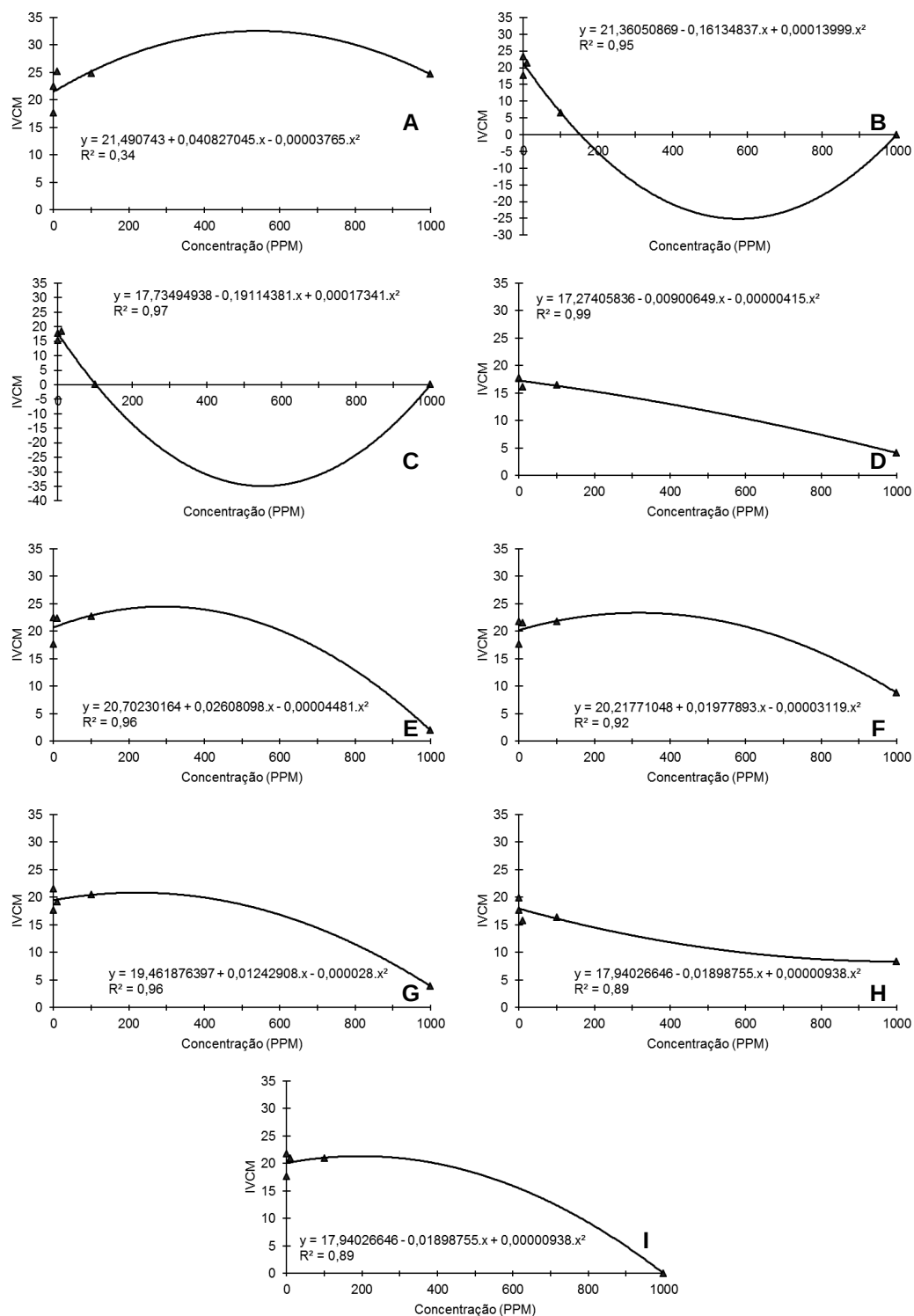


Figura 8 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos, *Bacillus thuringiensis* não autoclavado (A), *Bacillus subtilis* não autoclavado (B), *Bacillus subtilis* autoclavado (C), fosfito de cobre (D), fosfito de manganês (E), fosfito de potássio (F), Manganês (G), V6® (H), Wert Plus® (I). Ponta Grossa - PR, 2017.

No segundo experimento (Tabela 3), avaliando os tratamentos separadamente, o tratamento com *B. subtilis* apresentou controle no crescimento

micelial do fungo em todas as concentrações. Os tratamentos fungicida, fosfito de cobre, manganês, V6® (Figura 9) apresentaram maior controle no desenvolvimento do fungo a medida que se aumentou as concentrações dos produtos, de 1 para 1000 ppm (Figura 9).

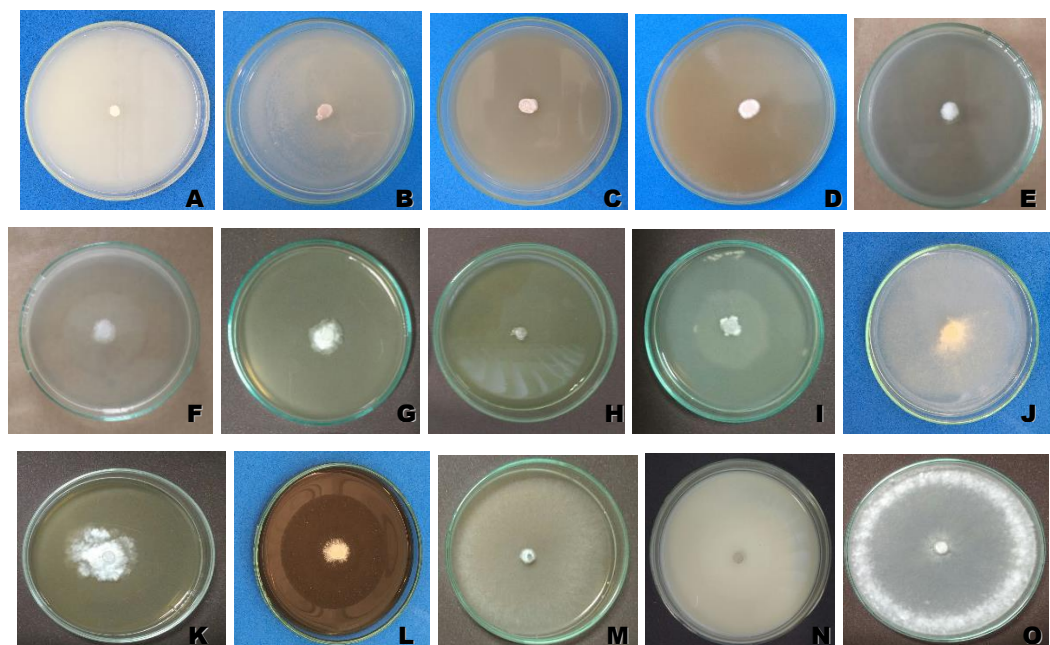


Figura 9 - Colônias de *Sclerotinia sclerotiorum* com três dias de idade com incorporação dos tratamentos no meio de cultura nas doses 0 (testemunha) e 1.000 ppm, fungicida (A); *Bacillus thuringiensis* autoclavado (B); *Bacillus subtilis* (C); *Bacillus subtilis* autoclavado (D); fosfito de cobre (E); fosfito de manganês (F); manganês (G); Wert Plus® (H); fosfito de potássio (I), Maxi Flor® (J); V6® (K); High Roots® (L); *Ascophyllum nodosum* (M); *Bacillus thuringiensis* (N) e testemunha (O). Ponta Grossa – PR, 2017.

Houve comportamento linear para os tratamentos *A. nodosum* e V6® (Figura 9). Para o tratamento *A. nodosum*, o crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento na concentração do produto, já para tratamento V6®, o crescimento micelial foi inversamente proporcional, ou seja, com o aumento na concentração do produto, houve redução no crescimento do patógeno (Figura 10). Os demais tratamentos apresentaram comportamento quadrático (Figura 11).

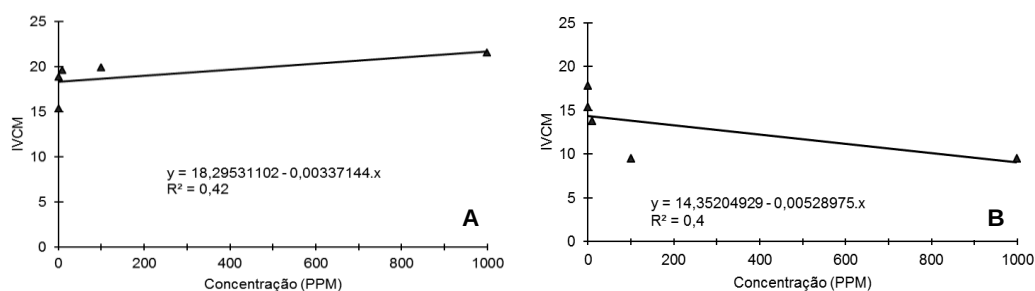


Figura 10 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos *Ascophyllum nodosum* (A) e V6® (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

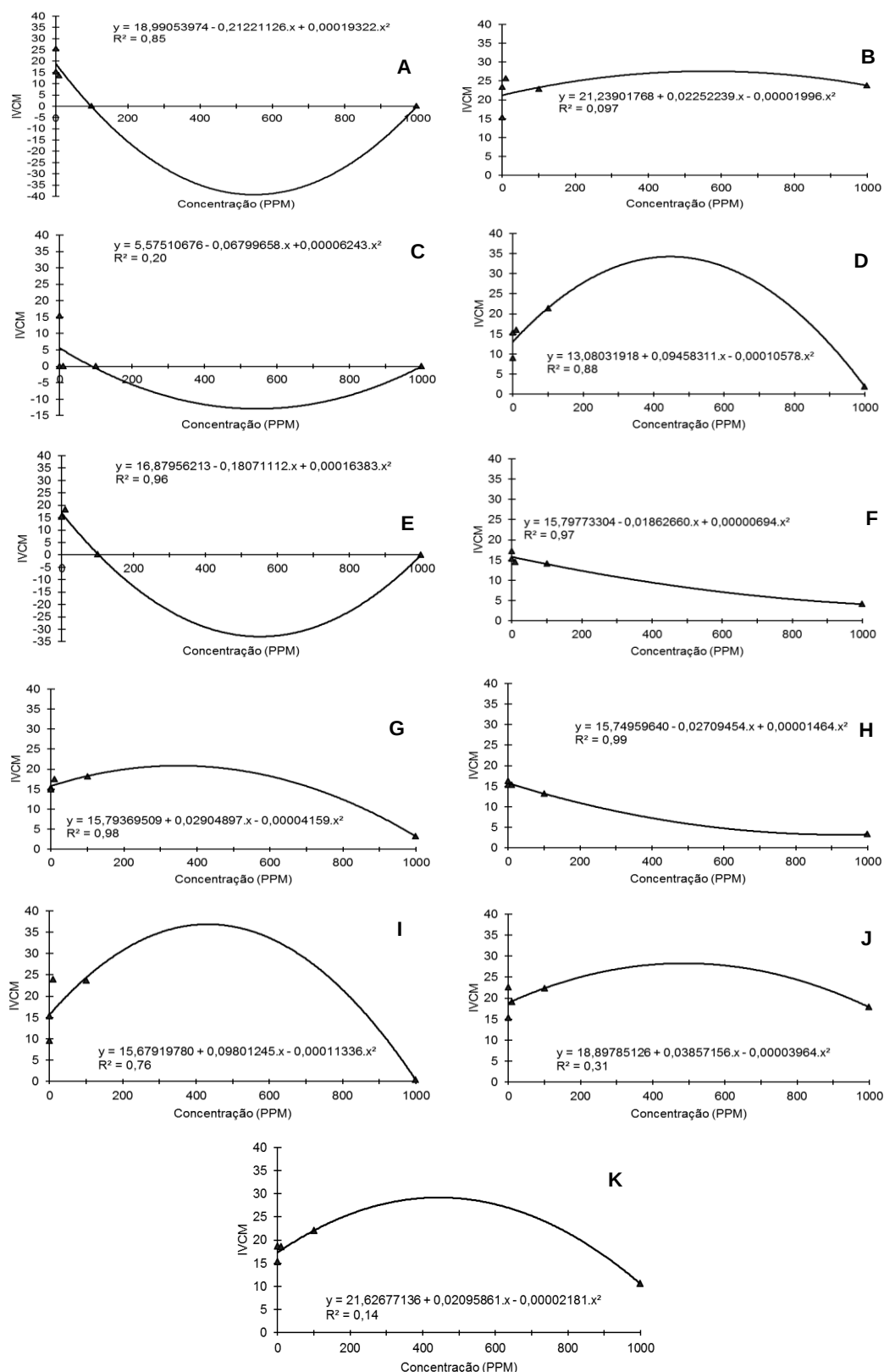


Figura 11 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*, nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida procimidona (A), *Bacillus thuringiensis* (B), *Bacillus subtilis* (C), *Bacillus thuringiensis* autoclavado (D), *Bacillus subtilis* não autoclavado (E), fosfito de cobre (F), fosfito de manganês (G), manganês (H), Wert Plus® (I), High Roots® (J) e Maxi Flor® (K). Ponta Grossa - PR, 2017.

## 5.2 MÉTODO DA FOLHA DESTACADA

Para a AACPD em folhas de canola destacadas, não houve diferença significativa para os fator aplicação (lado esquerdo não foi aplicado produto, lado direito com a aplicação do produto), indicando não haver indução de resistência sistêmica adquirida dos produtos testados para o patógeno. No entanto, para o fator tratamento, fungicida e *B. subtilis* apresentaram menor severidade, controlando 100% o desenvolvimento do patógeno em ambos os lados da folha, entretanto não diferiram estatisticamente da testemunha (Tabela 4, Figura 12).

Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da doença de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), no teste da folha destacada, em folhas de canola (*Brassica napus*) sem aplicação do tratamento (lado esquerdo) e com aplicação do tratamento (lado direito) Ponta Grossa - PR, 2017

| Grupo                | Tratamento                                    | Lado Esquerdo | Lado Direito |
|----------------------|-----------------------------------------------|---------------|--------------|
| Químico<br>Biológico | Testemunha                                    | 64,0 bA*      | 72,8 bA*     |
|                      | fungicida - procimidona                       | 0,0 bA        | 0,0 bA       |
|                      | <i>Bacillus thuringiensis</i>                 | 92,7 aA       | 90,0 bA      |
|                      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                    | 45,8 bA       | 45,2 bA      |
|                      | <i>Bacillus subtilis</i>                      | 0,0 bA        | 0,0 bA       |
| Indutores            | <i>Trichoderma asperellum</i>                 | 131,6 aA      | 144,8 aA     |
|                      | fosfito de potássio                           | 20,1 bA       | 19,5 bA      |
|                      | fosfito de manganês                           | 78,8 bA       | 65,4 bA      |
|                      | fosfito de cobre                              | 100,3 aA      | 100,5 bA     |
|                      | acibenzolar-S-metílico                        | 150,4 aA      | 137 aA       |
| Micronutrientes      | N - 18%, K <sub>2</sub> O - 6% (Hight Roots®) | 60,8 bA       | 70,6 bA      |
|                      | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)              | 177,4 aA      | 203,6 aA     |
|                      | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)       | 156,1 aA      | 143,7 aA     |
|                      | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)            | 55,8 bA       | 56,0 bA      |
|                      | Manganês                                      | 65,7 bA       | 61,1 bA      |
| C.V. (%)             |                                               | 112,48        |              |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

Procimidona é o fungicida utilizado pelos produtores no controle do mofo branco na cultura da canola. Trata-se de um fungicida do grupo das dicarboximidas, sistêmico com ação protetora e curativa. É absorvido pelas raízes com translocação para folhas e flores, esse grupo inibe a germinação de esporos, promove a ramificação, intumescimento e análise de hifas, inibindo o crescimento micelial dos fungos (TORNINCASA et al., 2002).

A bactéria *B. subtilis* é relatada na literatura como potencial controle de *Sclerotinia* na cultura da canola, assim como em outras culturas. Kamal (2015) avaliando podridão da haste na canola obteve resultado positivo com o uso de *B. subtilis* e *B. cereus*. Esse autor observou via microscopia eletrônica, hifas vacuoladas do fungo, com perda de citoplasma e a camada do escleródio completamente rompida com colonização bacteriana, indicando essas bactérias como possíveis biopesticidas microbianos.

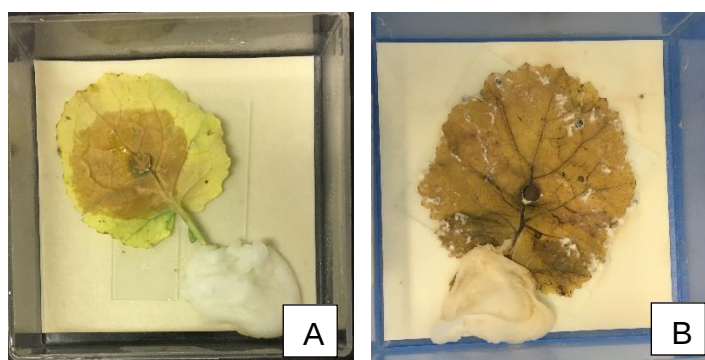


Figura 12 - Lesão em folha de canola (*Brassica napus*) após 3 dias de inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* (A) e após 5 dias de inoculação (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

Os tratamentos, mesmo não diferindo da testemunha, mas que apresentaram maiores valores de severidade foram *B. thuringiensis*, *T. asperelum*, fosfito de cobre, ASM, V6® e Maxi Flor®.

### 5.3 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

As plantas tratadas com fosfito de cobre *B. thuringiensis* e *B. subtilis* reduziram a AACPD quando comparada com a testemunha, não diferindo estatisticamente do fungicida. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha (Tabela 5).

O controle químico de *S. sclerotiorum*, é feito pelo fungicida procimidona do grupo das dicarboximidas. Foi o tratamento com menor lesão na haste da canola no presente trabalho (Figura 13). Trata-se de fungicida sistêmico, com ação protetora e curativa, absorvido pelas raízes com translocação para folhas e flores, inibindo a germinação de esporos, promovendo a ramificação, intumescimento e lise de hifas, além de inibir o crescimento micelial dos fungos (TORNINCASA et al., 2002).

Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de canola (*Brassica napus*) em casa de vegetação, Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo     | Tratamento                    | AACPD Lesão |
|-----------|-------------------------------|-------------|
| Químico   | Testemunha                    | 8,92 a*     |
|           | fungicida - procimidona       | 2,37 b      |
| Biológico | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 4,70 b      |
|           | <i>Bacillus subtilis</i>      | 4,66 b      |
|           | <i>Trichoderma asperellum</i> | 6,74 a      |
| Indutores | acibenzolar-S-metílico        | 7,01 a      |
|           | fosfito de manganês           | 7,75 a      |
|           | fosfito de potássio           | 7,96 a      |
|           | fosfito de cobre              | 3,52 b      |
| C.V. (%)  |                               | 56,53%      |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação,

O controle químico de *S. sclerotiorum*, é feito pelo fungicida procimidona do grupo das dicarboximidas. Foi o tratamento com menor lesão na haste da canola no presente trabalho (Figura 13). Trata-se de fungicida sistêmico, com ação protetora e curativa, absorvido pelas raízes com translocação para folhas e flores, inibindo a germinação de esporos, promovendo a ramificação, intumescimento e lise de hifas, além de inibir o crescimento micelial dos fungos (TORNINCASA et al., 2002). Segundo Tomlin (2002) citado por Rodrigues (2006) este fungicida é utilizado no controle dos fungos do gênero *Botrytis*, *Sclerotinia* e *Helminthosporium* spp, em fruteiras, videira, olerícolas, ornamentais, cereais, girassol, canola, soja, amendoim e tabaco. Cardoso et al. (2015) avaliando a eficiência de fungicidas no controle do mofo branco na cultura da soja, obtiveram resultados satisfatórios na redução da severidade da doença com o uso de fungicidas tiofanato-metílico, procimidona e fluazinam, o mesmo resultado foi obtido por Meyer et al. (2015) na cultura da soja e Aguiar (2011) na cultura do tomate e feijão (VENEGAS; SAAD, 2010). Entretanto para o fungo *Sclerotium rolfsii* o produto procimidona não apresentou controle da doença na dose utilizada (PACHECO, 2012).



Figura 13 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com fungicida procimidona. Ponta Grossa - PR, 2017.

O fosfito de cobre, assim como o fungicida também apresentou baixo AACPD (Figura 14, Tabela 5). Há relatos de que estes compostos podem atuar diretamente, inibindo o crescimento micelial e esporulação do patógeno e indiretamente, ativando mecanismo de defesa da planta, através da produção de fitoalexinas (JACKSON et al., 2000; MCGRATH, 2004). Ribeiro Junior (2008) relatou que este tratamento pode controlar doença de forma direta por toxidez, inibindo germinação de esporos, ou de forma indireta por meio da indução de resistência pela ativação de proteínas relacionadas à patogênese e pelo aumento nos teores de compostos fenólicos.



Figura 14 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com fosfito de cobre. Ponta Grossa-PR, 2017.

Muitos trabalhos demonstram que fosfitos de cobre além de favorecer a prevenção e a cura das doenças produzidas por fungos, melhoram o estado

nutricional das plantas, fator esse que reduz a predisposição ao ataque de patógenos (NOJOSA; RESENDE; RESENDE, 2005; BENDENDO; AMORIM, 2011). Toyota (2008) avaliando a ferrugem do café, relatou redução na severidade desta doença no campo em 81% quando usado o fosfito de cobre, comparado a testemunha, e relata que o fosfito apresentou controle semelhante ao do fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; na dose de 500 mL 100 L<sup>-1</sup>, obteve controle inferior ao fungicida mas superior à testemunha.

Santos et al., (2012) avaliando doenças do trigo, não encontrou controle de macha amarela (*Drechslera tritici-repentis* (Died), ferrugem (*Puccinia triticina* Eriks) e oídio (*Blumeria graminis* Speer f. sp. *tritici*) quando usado o fosfito de cobre de forma isolada. Isso demonstra que apesar de apresentar grandes benefícios quando usado no controle de doenças, essas vantagens podem ser reforçadas com a interação com outros tratamentos, como fungicida por exemplo. É o que mostra os resultados obtidos por Pacheco (2012) no controle de *Sclerotinia rolfii*, na cultura do feijão, o autor relata que uso de fosfito de cobre apresentou como uma alternativa junto aos fungicidas e controle biológico com *Trichoderma*.

Não diferindo estatisticamente do fungicida e fosfito de cobre, os tratamentos com *B. thuringiensis*, *B. subtilis* (Tabela 5), também apresentaram um menor tamanho de lesão na haste da canola, mostrando assim um maior controle da doença. Há trabalho comprovando o uso desses agentes biológicos no controle de *Sclerotinia*, sendo citado os gêneros como *Pseudomonas*, *Agrobacterium* e *Bacillus* (FERNANDO et al., 2004).

As espécies do gênero *Bacillus* são consideradas potenciais agentes de biocontrole de doenças foliares e de solo (JACOBSEN; ZIDACK; LARSON, 2004). Há relatos do uso dessa bactéria no controle de *S. sclerotiorum* na cultura da canola (KAMAL, 2015). Foi relatada inibindo o crescimento de hifas e germinação de escleródios do fungo *S. sclerotiorum* (FERNANDO et al., 2004). Chen et al., (2014) ao fazer análise por microscopia eletrônica de varredura, observaram vacuolização e desintegração no citoplasma das hifas do fungo, onde a bactéria se desenvolveu. Além disso, houve um atraso no processo de infecção do patógeno no hospedeiro. Outra estirpe de *B. subtilis*, estudada por Gao et al. (2014), apresentou um amplo espectro antifúngico no micélio de *S. sclerotiorum*, causando redução na germinação de escleródios e severidade da doença. Os autores observaram que a bactéria

causou inchaço e vazamento do citoplasma da hifa e subsequente desintegração e colapso da célula.

Espécies do gênero *Bacillus* produzem uma ampla gama de lipopeptídeos bioativos, compostos que suprimem os patógenos das plantas através do mecanismo de antibiose (CHEN et al., 2014). Na cultura da canola, essas bactérias reduzem a severidade do mofo branco além de inibir a germinação de esporos de *S. sclerotiorum* (KAMAL, 2015; FERNANDO et al, 2004). No entanto não há relatos na literatura de *B. thuringiensis* no controle de *S. sclerotiorum* na cultura da canola.

Os demais tratamentos ASM, *T. asperellum*, fosfito de manganês e fosfito de potássio, não diferiram estatisticamente da testemunha (Figura 15), mesmo apresentando um tamanho de lesão inferior a esta última.

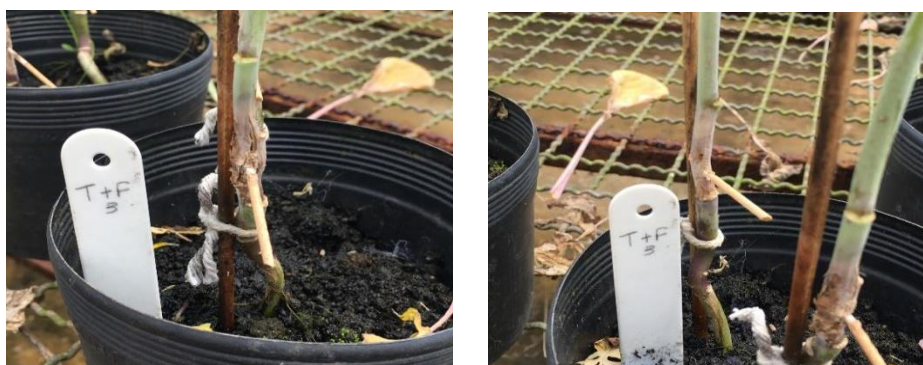


Figura 15 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017.

Esperava-se que o indutor ASM (Figura 16) reduzisse a severidade da doença, entretanto encontra-se trabalhos na literatura onde nem sempre o indutor oferece proteção contra determinados patógenos, como no presente experimento (Figura 16). Walters; Ratsep e Havis (2013) não obtiveram em seu trabalho controle sob o patógeno *Ascochyta*, em experiências de campo com a cultura do café. Resultado semelhante também foi obtido por Barilli; Prats; Rubiales (2010) onde ASM não apresentou controle na infecção por ferrugem em plantas de ervilha, causadas por *Uromyces pisi*. Experimentos de campo com cevada não mostraram qualquer efeito de ASM contra o vírus nanismo amarelo da cevada (HUTH; BALKE, 2002), e também não forneceu controle significativo da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pvs *citrumelo* na cultura da laranja (GRAHAM; LEITE, 2004). Esse indutor até mesmo foi relatado aumentando a infecção do fungo *Cercosporidium personatum*, na cultura do amendoim (ZHANG et al., 2001). Araújo e Menezes

(2009), ao avaliarem o efeito de indução de resistência de *B. subtilis* (pulverização foliar e por aplicação ao solo) e de ASM em plantas de tomate em de casa de vegetação observaram que a aplicação foliar desses tratamentos não foi eficiente no controle das doenças incidentes. Porém, quando aplicado ao solo, *B. subtilis* diminuiu significativamente a severidade das doenças quando comparado à testemunha, indicando uma resistência induzida de natureza sistêmica.



Figura 16 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com acibenzolar-S-metílico. Ponta Grossa - PR, 2017.

O tratamento com o fungo *T. asperellum* (Figura 17), também não diferiu estatisticamente da testemunha, entretanto é relatado na literatura como um importante controle biológico de patógenos.



Figura 17 - Planta de canola (*Brassica napus*) inoculada com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método do palito, em casa de vegetação, tratada com *Trichoderma asperellum*. Ponta Grossa - PR, 2017.

Mehta; Hieu; Sangwan (2012), obtiveram resultados satisfatórios no controle do mofo branco com o tratamento a base de *Trichoderma harzianum*. Os autores relataram uma redução linear do crescimento micelial e produção de apotécio de *S. sclerotiorum*, além de reduzir o comprimento da lesão e a incidência da doença quando aplicado simultaneamente, ou sete dias antes da inoculação de patógenos sob condições de casa de vegetação.

O antagonismo ocorre em resposta a estímulos químicos liberados pelo hospedeiro (CHET; BENHAMOU; HARAN, 1998) e os mecanismos utilizados por *Trichoderma* são: produção de antibiótico; competição; micoparasitismo (fenômeno em que determinado microrganismo obtém nutrientes a partir das células vivas e funcionais do hospedeiro com quem vive em íntima associação) (PACHECO, 2012). Segundo Howell (2003), as quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases produzidas por algumas espécies de *Trichoderma*, são as enzimas chave no processo de lise das paredes celulares durante a ação micoparasítica contra fungos patogênicos.

Os tratamentos com fosfito de potássio e manganês também não diferiram estatisticamente da testemunha no controle de *S. sclerotiorum*. Resultados semelhantes foram obtidos por Camochena (2015), que avaliando o controle desse mesmo fungo na cultura da soja, relatou que nenhum dos fosfitos testados afetou o crescimento micelial e a germinação dos escleródios, nem influenciou na síntese de fitoalexinas.

No segundo experimento os tratamentos que apresentam menor AACPD (Tabela 6) foram: controle químico com fungicida, controle biológico com *B. subtilis*, com os indutores fosfito de manganês, fosfito de potássio, fosfito de cobre e os micronutrientes High Roots®, V6®. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha.

High Roots® é composto pelo nutriente potássio, a aplicação deste tratamento segundo Huber e Graham (1999) diminuiu a suscetibilidade das plantas a doenças. Como já citado, o potássio possui funções importantes no metabolismo das plantas, auxiliando na síntese de compostos como proteínas, amido e celulose, além de promover o desenvolvimento de parede celular mais espessa nas células epidérmicas (MARSCHNER, 2002).

Tabela 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de canola (*Brassica napus*) em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Produtos                                  | AACPD lesão |
|-----------------|-------------------------------------------|-------------|
| Químico         | Testemunha                                | 114,58 a*   |
|                 | fungicida - procimidona                   | 81,04 b     |
| Biológico       | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 107,29 a    |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 44,1 b      |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 108,82 a    |
|                 | <i>Ascochyllum nodosum</i>                | 95,35 a     |
| Indutores       | acibenzolar-S-metílico                    | 119,52 a    |
|                 | fosfito de manganês                       | 64,50 b     |
|                 | fosfito de potássio                       | 46,57 b     |
|                 | fosfito de cobre                          | 41,22 b     |
| Micronutrientes | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)   | 105,01 a    |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 151,19 a    |
|                 | Manganês                                  | 122,085 a   |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 81,48 b     |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 64,625 b    |
| C.V. (%)        |                                           | 55,64%      |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação,

O tratamento V6® (Tabela 6), teve uma resposta semelhante ao fosfito de manganês, possuindo em sua formulação manganês (2,5%), zinco (1,9%) e molibdênio (0,16%).

O zinco tem papel fundamental na proteção contra oxidação da membrana plasmática e das proteínas. Ao manter a estrutura e a integridade da membrana plasmática, controla a permeabilidade e protege a planta contra vários patógenos (GREWAL; GRAHAM; RENGEL, 1996). A aplicação de zinco pode ainda reduzir a severidade da doença pelo seu efeito tóxico no patógeno e não pelo metabolismo da planta (GRAHAM; GRAHAM 1991).

O molibdênio é um micronutriente essencial a planta e catalisa reações de redução em algumas enzimas do tecido foliar. Dentre estas enzimas estão a nitrato redutase e a sulfoxidase (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O cálcio reduz a severidade de muitas doenças causadas por patógenos que atacam raiz e colmo, como *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Botrytis*, *Fusarium oxysporum* e o nematóide *Ditylenchus dipsaci*. O efeito do cálcio na resistência às doenças está relacionado ao seu efeito na composição das paredes celulares das células gerando resistência à penetração pelos patógenos (AGRIOS, 2005).

Os demais tratamentos (Tabela 6) *B. thuringiensis*, *T. asperellum*, *A. nodosun*, ASM, Wert Plus®, manganês e Maxi Flor®, apresentaram os maiores valores de

lesão, sendo os dois últimos tratamentos com valores superiores a testemunha, o que indica que ao invés de inibirem o crescimento do patógeno, estimularam o mesmo, resultado que se confirma aos encontrados na avaliação de crescimento micelial, observado pelo teste *in vitro*.

Um exemplo disso foi observado no tratamento com a alga *A. nodosum*, assim como no presente trabalho, alguns autores, não obtiveram resultados satisfatórios com o uso do extrato de alga, a exemplo de Gabardo (2015) no controle do oídio e da ferrugem asiática na cultura da soja.

Nesi et al., (2013) também avaliaram o efeito de indução de resistência de *A. nodosum* em variedades de morango, os autores concluíram que a aplicação do extrato de alga não foi eficiente no controle do patógeno *Mycosphaerella fragariae*, assim como Jacques (2015) que também não obteve resultado positivo com esse tratamento no controle de *Colletotrichum graminicola* em plantas de milho.

## 5.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

### 5.4.1 Peroxidase

A atividade de peroxidase foi alterada em função dos tratamentos utilizados entre as folhas, da planta de canola, tratadas e não tratadas. Foram observadas também diferenças estatísticas significativas entre os intervalos de coleta das amostras a 24, 48 e 72 horas após a inoculação do patógeno (Figura 18).

Quando comparados os tratamentos em cada horário de coleta, observa-se que na coleta de 24 horas (Figura 18), os tratamentos que apresentaram menor atividade da peroxidase foram as folhas tratadas com *B. subtilis*, testemunha (sem inoculação do fungo) e as folhas pulverizadas e não pulverizadas com fungicida.

Na coleta de 48 horas houve uma redução na atividade de peroxidase em alguns tratamentos (Figura 18). As plantas que apresentaram maior atividade enzimática, foram as folhas pulverizadas com o indutor ASM, fosfito de cobre e fungicida. Porém a maior atividade foi observada nas folhas não pulverizadas nos dois últimos tratamentos.

Na coleta de 72 horas não houve diferença significativa entre os tratamentos, mas pode-se observar redução da atividade de peroxidase no tratamento com fosfito de cobre, nas folhas não pulverizadas, diferente da coleta às 48 horas (Figura 18C).

Possivelmente essa baixa atividade em folhas pulverizadas pode ter ocorrido devido a fitotoxidez observada nas plantas, principalmente nas tratadas com fosfito de potássio e cobre.

Ao analisar cada tratamento, observa-se que não houve diferença estatística dentro dos três tempos de coleta, para a maioria dos tratamentos. Os tratamentos que tiveram mudanças na atividade enzimática fosfito de cobre e fungicida (folha não tratada) no período de 24 horas, com uma baixa atividade enzimática. Esses tratamentos tiveram um aumento da atividade durante a coleta de 48 horas, sendo reduzida novamente essa atividade na coleta de 72 horas, quando comparados aos demais tratamentos.

Diversos trabalhos têm demonstrado efeitos positivos das peroxidases sobre a indução de resistência de plantas (CAMPOS et al., 2004; CAVALCANTI et al., 2008). Ávila (2009) avaliou o efeito do fornecimento de fosfito sobre o crescimento, nutrição fosfatada e aspectos da indução de resistência em milho e relatou como resultado que a substituição de 1/4 de fosfato por fosfito na adubação fosfatada promoveu a elevação dos teores de lignina nos tecidos foliares da planta, apresentando o mesmo efeito para a atividade de peroxidases. O autor afirmou que esse comportamento evidencia o efeito eliciador do fosfito nos mecanismos de defesa do milho. Já Ribeiro Júnior et al. (2006) não observaram influência de fosfito na atividade de peroxidase em cacaueiro.

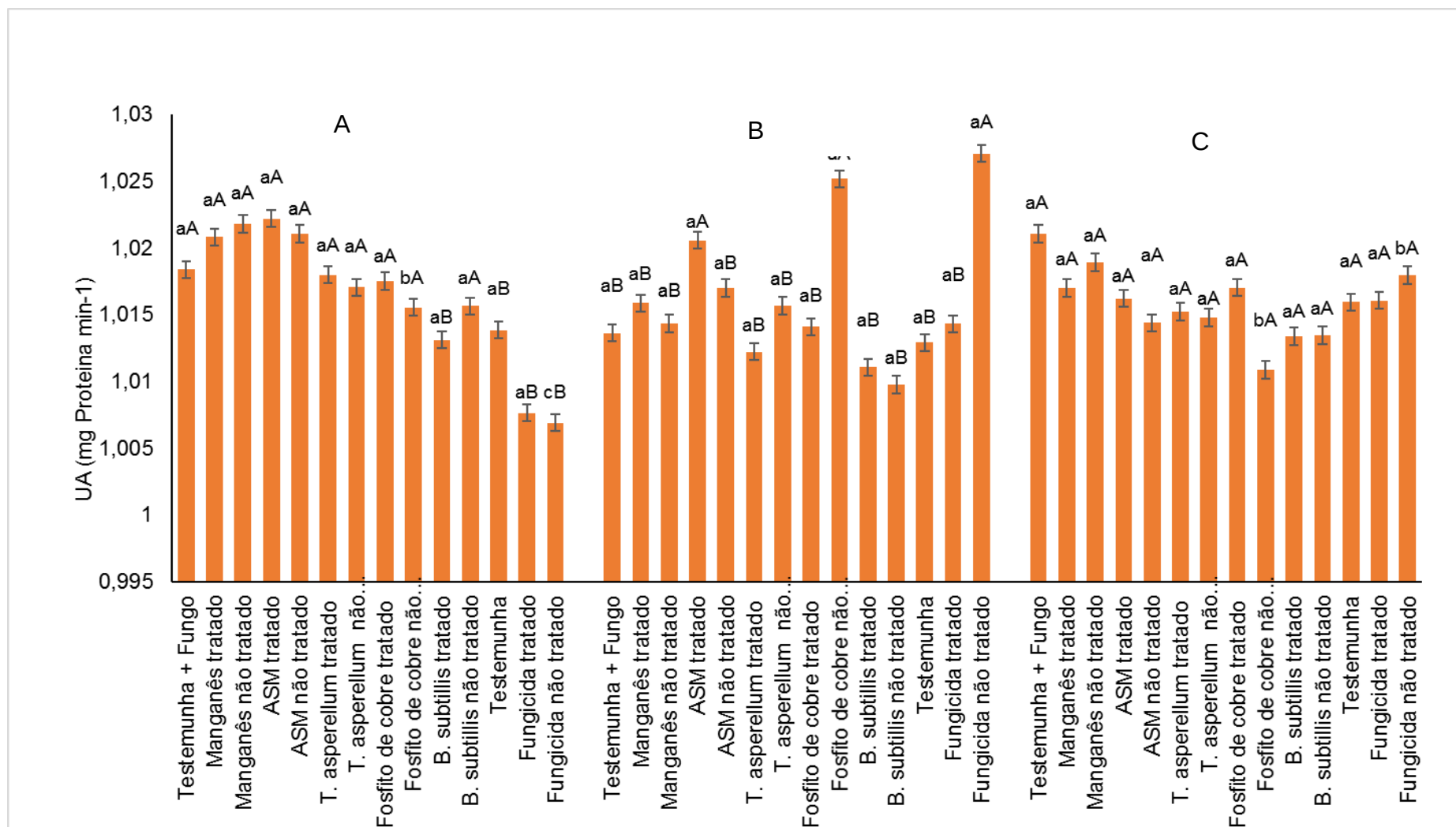


Figura 18 - Atividade de peroxidase em plantas de canola (*Brassica napus*) tratadas e inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*, 24 horas (A) 48 horas (B) e 72 horas (C) após a inoculação do patógeno. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0.05$ ). Letras minúsculas comparam o mesmo tratamento entre os horários de coleta e letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro do mesmo tempo de coleta. Ponta Grossa – PR, 2017.

#### 5.4.2 Polifenoloxidase

Não foi relatado no presente trabalho a atividade da enzima polifenoloxidase nas plantas de canola, não sendo significativo a diferença para os tratamentos utilizados nos três períodos de coleta (24, 48 e 72 horas) (Figura 18). O mesmo resultado foi relatado por Kuhn (2007), onde o autor verificou alterações bioquímicas e fisiológicas correlacionando-as com parâmetros de produção do feijão entre a indução mediada por ASM e *B. cereus*, no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. O autor relatou que a atividade de polifenoloxidase não foi alterada em função dos indutores (ASM e *B. cereus*) bem como em função do número de aplicações ao longo do ciclo da cultura, resultado contrário ao da enzima peroxidase, que foi ativada pelo uso dos tratamentos.

#### 5.5 EXPERIMENTO A CAMPO

Foram realizadas três épocas de semeadura, duas na Fazenda Escola Capão da Onça, ano 2015 e 2016 e uma na Fazenda Limeira, 2016. A primeira época na Fazenda Escola Capão da Onça (2015) não teve ocorrência da doença. Isso ocorreu provavelmente pelas condições ambientais que não foram favoráveis ao patógeno (Anexo 1) e/ou ausência de inóculo no campo.

Somente na segunda época (2016) houve incidência do fungo *S. sclerotiorum*, sendo assim, os resultados a AACPD, estão divididos de acordo com o local do experimento.

Houve diferença nos tratamentos de melhor controle entre as localidades, segundo Walters; Ratsep e Havis (2013) vários fatores influenciam na indução de resistência das plantas, podendo fatores como genética do hospedeiro, presença de microrganismos simbiotes e micorrizicos na área, tratamento de sementes, doenças pós colheita, uso de material transgênico, frequência de aplicação do elicitor, combinação da indução de resistência a outros fatores biológicos, assim como a influência de fatores abióticos como o ambiente.

Todos esses fatores podem interferir aumentando ou não a resistência no hospedeiro, é provável, portanto, que no campo, as plantas serão pelo menos parcialmente induzidas através da interação com fatores biótico e abiótico.

### 5.5.1 Área experimental Fazenda Limeira - Guaragi

Aos 45 DAE (dias após a emergência) os primeiros sintomas foram visualizados ainda nas folhas (Figuras 19 A e B) com apodrecimento das mesmas, ainda sem ocorrência na haste. Após dez dias pode-se observar as primeiras lesões na haste (Figura 19 C) de coloração acinzentada, ainda sem desenvolvimento de micélio. Posteriormente ocorreu desenvolvimento de uma lesão encharcada que mais tarde progrediu com a seca total da planta (Figura 19 D). Foi observada também, a ocorrência de micélio do fungo nas sílicas da planta (Figura 19 E).

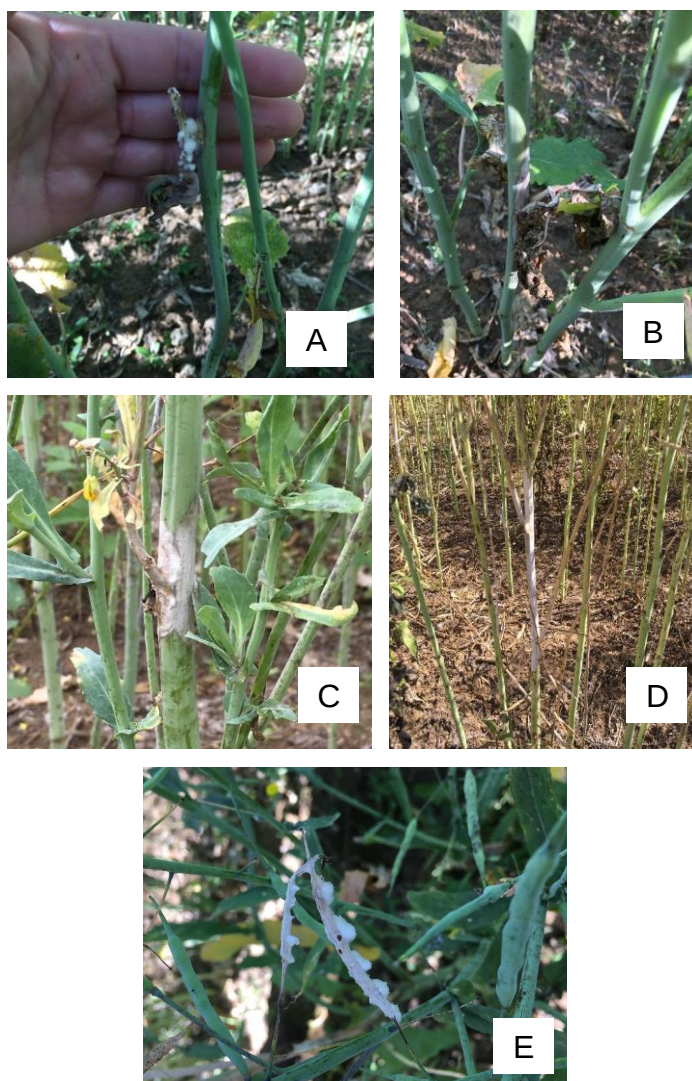


Figura 19 - Planta de canola (*Brassica napus*) com infecção do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* nas folhas (A), início da lesão na haste (B) lesão já formada na haste (C) desenvolvimento do fungo em toda a haste da planta com posterior seca da mesma (D) sílica com micélio do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (E). Ponta Grossa-PR, 2017.

Foi observado que a ocorrência da doença teve início na fase de floração plena da cultura, visto que há relatos na literatura que o período de infecção ocorre em plena floração, já que o fungo infecta as flores da planta (KAMAL, 2015). O clima estava favorável para a ocorrência da doença, com maior ocorrência de chuvas e umidade relativa, juntamente com temperaturas mais baixas (Anexo 2).

As parcelas sem tratamento (testemunha) apresentaram os maiores valores de severidade da doença (Tabela 7), não diferindo dos tratamentos Maxi Flor®, manganês e High Roots®. Os demais tratamentos apresentaram menor severidade da doença quando comparados a testemunha.

Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) *Sclerotinia sclerotiorum* em função dos tratamentos realizados em canola (*Brassica napus*) na área experimental Fazenda Limeira – Guaragi, safra 2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamento                                | AACPD     |
|-----------------|-------------------------------------------|-----------|
| Químico         | Testemunha                                | 295,42 a* |
|                 | fungicida - procimidona                   | 172,23 b  |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 133,84 b  |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 147,81 b  |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 142,81 b  |
| Biológico       | <i>Ascohyllum nodosum</i>                 | 143,46 b  |
|                 | fosfito de manganês                       | 117,21 b  |
|                 | fosfito de potássio                       | 147,83 b  |
|                 | fosfito de cobre                          | 48,48 b   |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 83,41 b   |
| Micronutrientes | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 162,36 b  |
|                 | Manganês                                  | 202,63 a  |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 225,00 a  |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 135,84 b  |
| C.V. (%)        |                                           | 25,62     |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação,

O uso de fosfitos no controle de doenças vem tomando cada vez mais espaço na agricultura. Esses compostos, sustentáveis, não causam impacto ambiental, fornecem nutrição para planta, visto que são tipos de fertilizantes (PACHECO, 2012), por apresentarem alta solubilidade em água, são absorvidos mais rapidamente por raízes e folhas (RIBEIRO JUNIOR, 2006).

Os estudos sobre a utilização desses compostos para o controle de doenças são recentes, como por exemplo, o trabalho de Brackmann et al., (2004) em frutos

de maçã (*Malus domestica* Borkh.) para o controle de *Penicillium* e Ribeiro Júnior et al. (2006) para o controle de *Verticillium dahliae* Kleb em cacauero.

Fosfitos de potássio possuem excelentes qualidades sanitárias, com atividades fungicidas, atuando diretamente sobre os fungos ou ativando o mecanismo de defesa das plantas (REUVENI, 1997). Segundo alguns autores, existem dois modos de ação dos fosfitos relacionados ao controle de doenças de plantas, ação direta na inibição do crescimento dos patógenos quando estes entram em contato com o fosfito acumulado nos tecidos das plantas (WILKINSON et al., 2001; De NARDI et al., 2010; WALTERS; RATSEP; HAVIS 2013) e o estímulo da defesa das plantas, na ausência ou presença dos patógenos (JACKSON et al., 2000).

Além de favorecer a prevenção e a cura das doenças produzidas por fungos, associa-se o uso de fosfito à melhoria do estado nutricional das plantas (NOJOSA; RESENDE; RESENDE, 2005), sabe-se que plantas bem nutridas apresentam uma menor predisposição ao ataque de patógenos (BENDENDO; AMORIM, 2011). Existem vários trabalhos na literatura que relatam o uso de fosfitos para o controle de Oomycotas, entretanto, os mecanismos através dos quais esse controle ocorre ainda são inconclusivos (DALIO et al., 2012). Pode-se citar o trabalho de Galvão et al. (2006) no qual o uso de fosfito controlou *Plasmopara viticola* em videira, no controle de *Phytophthora* spp em citrus e faia, por Passos; Rezende; Carvalho, (2014). Estes autores relataram controle de 100% desse patógeno nas respectivas culturas com o uso de fosfito de potássio nas doses de 5 e 2mL L<sup>-1</sup>, observaram redução do DNA do patógeno em ambas as culturas além de maiores concentrações de proteínas totais e atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase.

Os fosfitos se mostraram eficazes no controle de doenças como *Asperisporium caricae* e *P. palmivora* no mamoeiro (DIANESE et al., 2007) e *Sclerotinia rolfsi* na cultura do feijão (PACHECO, 2012).

Os fosfitos são capazes de influenciar negativamente no desenvolvimento dos fitopatógenos e sua fungitoxicidade varia entre as espécies e depende principalmente da exposição do patógeno a estes compostos (DALIO et al., 2012). Devido à capacidade dos fosfitos em afetar a síntese da parede celular, esses produtos reduzem a esporulação e o crescimento micelial dos fitopatógenos, exercendo atividade fungistática resultando na redução de doenças (ROMA, 2013).

Outro tratamento muito utilizado no controle de doenças é indutor acibenzolar-S-metilíco (ASM), sabe-se da importância desse elemento na indução de resistência das plantas e os relatos do mesmo no uso de diversas culturas no controle de diferentes patógenos. Gabardo (2015) usando esse tratamento, obteve controle na severidade de oídio na cultura da soja, entretanto não obteve os mesmos resultados para o controle de míldio e ferrugem asiática. Mesmos resultados foram relatados por Silva; Santos e Gomes (2014) e Friedrich et al. (1996), tendo esses últimos autores avaliado míldio na cultura do fumo.

Segundo Yamaguchi (1998) o ASM não possui ação fungistática e desenvolve um papel semelhante ao ácido salicílico na via de transdução do sinal que leva à resistência sistêmica adquirida. É possível encontrar na literatura, autores que não obtiveram resultados satisfatórios com o uso de ASM. Gorlach et al. (1996) não tiveram controle sobre oídio na cultura do trigo.

Em termos de controle prático de doenças, a frequência de aplicação do indutor é uma consideração essencial e embora espera-se que a resistência induzida pudesse proporcionar um resultado duradouro de proteção, exigindo assim menor número de aplicações do elicitor, isso nem sempre ocorre. Por exemplo, em experiências de campo avaliando a eficácia do ASM contra podridão bacteriana no tomate, Huang et al. (2012) descobriram que as aplicações semanais proporcionaram um controle da doença, consideravelmente melhor do que as aplicações a cada duas semanas. A redução significativamente da eficácia da resistência induzida fornecida por ASM foi relatada 9-12 dias após a aplicação (CAVALCANTI et al., 2006), e embora a reaplicação do ASM possa levar a rápida (dentro de 2 dias) expressão de PR-1, a expressão diminuiu consideravelmente depois disso (HARMAN et al., 2007).

Os trabalhos com micronutrientes, no controle de doenças de plantas, ainda são escassos na literatura. No presente experimento, os micronutrientes que apresentaram controle na severidade de mofo branco na cultura da canola, foram Wert Plus® e V6® (Tabela 7).

Wert Plus® é composto por toxinas produzidas pelo cultivo de diferentes microrganismos: *B. subtilis*, *Gliocladium catenulatum*, *Trichoderma* sp., *Trichoderma harzianum*, *Azotobacter chroococcum*, e micronutrientes Cu, Zn e Mg. Sabe-se da importância do uso de microrganismos antagonistas e dos nutrientes para um melhor desenvolvimento da planta, fornecendo resistência a ocorrência de doenças.

Resultados satisfatórios com o uso desse tratamento foi obtido por Gabardo (2015) na cultura da soja no controle de oídio, Truyllo (2015) no controle da antracnose no feijão e Jacques (2015) no controle da antracnose no milho.

Segundo Marschner (1995) a proteção promovida pela nutrição mineral equilibrada tem como consequência a formação de uma eficiente barreira física, com inibição à penetração das hifas, ou melhor, controle da permeabilidade da membrana citoplasmática. Isso evita a saída de açúcares e aminoácidos para os espaços intercelulares e constitui barreira química, com a produção ou a formação de compostos fenólicos.

Na variável produtividade, os melhores resultados foram observados nos tratamentos biológicos, os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha (Tabela 8).

Tabela 8 - Produtividade (Kg ha<sup>-1</sup>) em função dos tratamentos realizados em canola (*Brassica napus*), área experimental Fazenda Limeira - Guaragi, safra 2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamento                                | Produtividade |
|-----------------|-------------------------------------------|---------------|
| Químico         | Testemunha                                | 291,50 b *    |
|                 | fungicida - procimidona                   | 300,27 b      |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 336,67 a      |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 337,213 a     |
| Biológico       | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 393,78 a      |
|                 | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 366,855 a     |
| Indutores       | fosfito de manganês                       | 298,70 b      |
|                 | fosfito de potássio                       | 284,35 b      |
|                 | fosfito de cobre                          | 279,11 b      |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 243,95 b      |
| Micronutrientes | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 280,09 b      |
|                 | Manganês                                  | 311,86 b      |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 303,10 b      |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 317,6 b       |
| C.V. (%)        |                                           | 11,86         |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

Entre os tratamentos biológicos, o tratamento com *T. asperellum* foi o que apresentou maior produtividade, mas não diferiu estatisticamente dos demais produtos biológicos. Resultado semelhante foi encontrado Harman (2000) na cultura do pimentão. A interferência de *Trichoderma* em plantas e o aumento na produtividade ocorrem devido à sua capacidade em colonizar raízes (HARMAN et

al., 2004), sendo um fungo facilmente isolado do solo. Auxilia no controle de vários fitopatógenos do solo, agindo por antibiose, competição, parasitismo ou até mesmo induzindo defesas na planta (HOWELL, 2003).

*Trichoderma* spp, pode agir através do micoparasitismo na inativação de escleródios no solo, ou então através do parasitismo de hifas de *S. sclerotiorum*, reduzindo a incidência e severidade na cultura e menor produção de escleródios nas plantas (VRISMAN et al., 2010). Isso é possível devido à produção de enzimas como quitinases e glucanases que ajudam na degradação de substâncias como polissacarídeos, quitinas e  $\beta$  glucanos, que são compostos que conferem rigidez a parede celular de fungos fitopatogênicos, com a quebra desses compostos a integridade da parede celular do fungo é destruída (HOWELL, 2003).

Entretanto esse fungo apresenta grande diversidade, por estar presente em grande parte do mundo, uma espécie de *Trichoderma* isolada em uma região quente pode não ter a mesma eficácia no controle de patógenos em regiões mais frias, e vice-versa (BERGER, 2015). Paula Junior et al., (2009), observaram que em experimento realizado em feijão na estação de inverno, em que a temperatura média durante o experimento foi ao redor de 20°C, na região de Viçosa – MG, o uso de *Trichoderma* spp, não mostrou eficiência no controle do mofo branco. Porém, Görgen et al. (2009) obteve sucesso ao utilizar *Trichoderma* spp, no controle do mofo branco na soja, em Jataí-GO, no verão, onde a temperatura é mais alta, demonstrando alta colonização de escleródios no solo.

Berger (2015) avaliou o efeito de diferentes microrganismos antagonísticos à *S. sclerotiorum* aplicados tanto no inverno, como no verão, além de avaliar a viabilidade de escleródios no solo, assim como incidência e severidade da doença nas culturas de soja e canola e obteve como resultado que os agentes de controle biológico de mofo branco *T. harzianum*, *T. asperellum*, *Coniothyrium minitans* e *B. subtilis* foram eficientes na redução da viabilidade de escleródios do solo. A bactéria *B. subtilis* foi a mais eficaz na inviabilização de escleródios, tanto no verão como no inverno, *T. harzianum* e *T. asperellum* se mostraram eficazes na redução da viabilidade de escleródios somente no verão, não mostrando a mesma eficácia no inverno, e as aplicações isoladas de todos os microrganismos antagonísticos ao mofo branco testados mostraram redução da incidência do patógeno na cultura da soja e da canola.

Não diferindo estatisticamente do tratamento *T. asperellum*, os tratamentos com *A. nodosum*, *Bacillus thuringiensis* e *subtilis*, também apresentaram os maiores valores de produtividade. Resultado semelhante foi encontrado por Kamal (2015) na cultura da canola, quando usado os tratamentos biológicos com a bactéria do gênero *Bacillus*. No presente trabalho, em todas as avaliações realizadas no controle do fungo *S. sclerotiorum*, a espécie *B. subtilis* mostrou eficiência no controle do patógeno, *in vitro* por antibiose (Tabela 3) *in vivo* na avaliação em casa de vegetação (Tabela 5) e campo (Tabela 7).

### 5.5.2 Área experimental Fazenda Escola Capão da Onça

As primeiras incidências da doença foram observadas aos 56 DAE, sendo os primeiros sintomas visualizados ainda nas folhas, na semana posterior observado nas hastes da planta. Para a AACPD do mofo branco na área capão da onça, os tratamento com os menores valores da AACPD, foram encontrados nas parcelas com fungicida, fosfito de manganês, *B. subtilis*, *A. nodosum*, acibenzolar-S-metilico, micronutriente Maxi flor®, V6®, *T. asperellum* e *B. thuringiensis*. Os tratamentos com fosfito de potássio, manganês, Hight Roots®, não diferenciaram estatisticamente entre si, sendo intermediários no controle do patógeno. Todos os tratamentos apresentaram valores menor que a testemunha, exceto o fosfito de cobre (Tabela 9).

Tabela 9 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) *Sclerotinia sclerotiorum* em função dos tratamentos realizados em canola (*Brassica napus*) na área experimental do Fazenda Escola Capão da Onça, safra 2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Produto                                   | AACPD     |
|-----------------|-------------------------------------------|-----------|
| Químico         | Testemunha                                | 295,93 a* |
|                 | fungicida - procimidona                   | 18,38 d   |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 50,83 d   |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 93,00 d   |
| Biológico       | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 45,26 d   |
|                 | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 76,00 d   |
|                 | fosfito de manganês                       | 35,50 d   |
|                 | fosfito de potássio                       | 134,33 c  |
|                 | fosfito de cobre                          | 337,40 a  |
|                 | acibenzolar-S-metilico                    | 53,25 d   |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 206,63 b  |
| Micronutrientes | Manganês                                  | 154,17 c  |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 138,25 c  |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 75,66 d   |
| C.V. (%)        |                                           | 25,43     |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

O uso de fungicidas é a forma de manejo mais optada por produtores, visto a rapidez nos resultados obtidos, entretanto na doença do mofo branco, estes têm pouco efeito sobre a germinação de escleródios e liberação de ascósporos (HUANG et al., 2000). Na China, aplicações frequentes levaram o patógeno a se tornar resistente aos agrotóxicos (ZHANG et al., 2003) sendo a aplicação de fungicidas foliares uma prática amplamente utilizada (HIND-LANOISELET; LEWINGTON, 2004).

A eficácia dos fungicidas foliares depende de vários fatores, incluindo o tempo de aplicação, a fenologia das colheitas, as condições climáticas, o ciclo da doença, a cobertura de pulverização, a duração da proteção (MUELLER; PEDERSEN; HARTMAN, 2002). O fracasso no manejo da doença é o momento incorreto da aplicação do fungicida (MUELLER; PEDERSEN; HARTMAN, 2002; HUNTER; ABAWI; CROSIER, 1978; STEADMAN, 1983), sendo recomendado a aplicação de fungicidas protetores na fase pré-infecção.

Berger (2015) avaliando o uso de diferentes fungicidas no controle de *S. sclerotiorum* na cultura da canola e da soja, o fungicida procimidona (sistêmico) foi superior ao fungicida fluazinam (protetor) e reduziu a produção de inóculo que será adicionado ao solo.

Devido a vários fatores já mencionados, tem-se buscado optar por tratamentos alternativos aos químicos. Os indutores de resistência, para poderem ocupar um lugar de privilegio na opção dos produtores, devem superar métodos de controle já existentes ou fornecer outros benefícios, como a redução da quantidade de fungicida necessário para o controle das doenças. Segundo Walters; Fountaine (2009) a combinação de elicitores mostrou que, embora o controle da doença fornecido pelo elicitor foi inferior ao obtido pelos fungicidas, o uso do elicitor em conjunto com o controle químico, pode fornecer níveis muito mais elevados de controle de doenças.

Resultados positivos do uso combinado de ASM e fungicidas foram encontrados também no controle de *Phytophthora capsici* em abóbora, em condições de campo, este controle foi superior quando comparado a uso do ASM e fungicidas aplicados individualmente (JI; YIN; KONÉ, 2011).

Existem inúmeras espécies, entre fungos e bactérias, utilizados como microrganismos de controle biológico para mofo branco que já foram descobertos e testados em diferentes lugares do mundo e nas mais variadas culturas. Esses

microrganismos parasitam escleródios no solo ou podem até parasitar hifas do fungo que crescem sobre os tecidos da planta reduzindo a produção de escleródios e, com isso, acarretam uma redução do potencial de inóculo para safras seguintes (BERGER, 2015).

No presente trabalho as duas áreas experimentais apresentaram redução na severidade do mofo branco, quando utilizado o uso de controle biológico (Tabelas 7 e 9). As bactérias *B. subtilis* e *B. thuringiensis*, apresentaram controle do patógeno no campo assim como em casa de vegetação (Tabela 5) e no teste *in vitro*, reduzindo o crescimento micelial do patógeno (Tabela 3).

Bactérias do gênero *Bacillus* também são amplamente estudadas no controle de doenças de planta, em especial na cultura da canola, o maior foco do controle biológico tem se voltado para esse gênero de bactéria.

Gao et al., (2014) avaliando a aplicação da bactéria *B. subtilis* no controle de *S. sclerotiorum*, obteve redução da podridão do caule na cultura da canola, em 50-70%. O autor observou via microscopia de varredura que a estirpe avaliada causou vazamento e inchaço de citoplasma de hifas e subsequente desintegração e colapso da célula. O mesmo resultado foi relatado por Hu et al. (2014), onde, a aplicação de *B. Subtilis*, estirpe BY-2, demonstrou supressão no crescimento do fungo *S. sclerotiorum*, em campos de canola na China.

O uso dessa bactéria no tratamento de sementes ou durante a fase de floração, por pulverização, ou ainda a aplicação combinada de ambos os tratamentos, proporcionou redução significativa de incidência de doença. A aplicação dessa bactéria no solo também pode trazer redução na ocorrência da doença, visto que a pulverização de *Bacillus* no solo reduziu significativamente a formação de apotécio e reduziu os danos de rendimento na canola (LÜTH; SCHULZ; PFEFFER 1993). O mecanismo de supressão do crescimento micelial *in vitro* e a inibição da germinação dos escleródios é considerada como uma forma de antibiose, indicando que o antibiótico inibidor metabolizado por bactérias, podem estar envolvidos na formação de condições adversas para o patógeno (KAMAL, 2015).

Segundo Maheshwari (2013), a bactéria *B. thuringiensis*, mais utilizada como inseticida, induz o acúmulo de proteínas PR em plantas de café, reduzindo a incidência e severidade de *H. vastatrix*. Ainda segundo o mesmo autor, em plantas de milho, *B. thuringiensis* possui capacidade de indução de resistência contra

podridões de colmo causadas por *Erwinia carotorovora*, pois suprime a percepção de quorum (quorum sensing) de virulência do patógeno, mecanismo de comunicação entre as bactérias que determinam a patogenicidade.

Bactérias do gênero *Bacillus*, demonstraram capacidade de reduzir a viabilidade de escleródios no solo abaixo de 13%, Isso indica que as bactérias colonizadoras podem desintegrar ou matar os escleródios que sobrevivem no solo (FERNANDO et al., 2004). Duncan; Fernando; Rashid (2006) relataram que a viabilidade dos escleródios depende do tempo, profundidade de enterro e população bacteriana presente no solo. O parasitismo de escleródios, com agentes de controle biológico, é uma alternativa para inibir a germinação de escleródios erradicando doença do mofo branco, causado por *S. sclerotiorum* (SAHARAN; MEHTA, 2008).

O fungo *Trichoderma* também se destaca como um importante agente biológico. Muitas linhagens de *Trichoderma* são naturalmente tolerantes a agrotóxicos pela capacidade de degradá-los, o que possibilita um manejo integrado com adoção de produtos químicos e biológicos simultaneamente (MELO et al., 2001).

O uso da alga *A. nodosum*, também apresentou resultados satisfatórios no controle do mofo branco (Tabela 9). Outros autores também obtiveram sucesso com esse tratamento, a exemplo de Gabardo (2015) no controle de míldio na soja, Lizzi et al. (1998) controlando doenças na pimenteira e da videira, causados por *Phytophthora capsici* e *Plasmopara viticola*, respectivamente. Entretanto Jacques (2015) não obteve controle de *C. graminicola* quando aplicado o extrato desta espécie de alga na cultura do milho.

Nesi et al. (2013) avaliaram o efeito de indução de resistência de *A. nodosum* em variedades de morango sobre a expressão de sintomas de *Mycosphaerella fragariae*, causador de manchas foliares na planta. Os autores concluíram que a aplicação do extrato de alga não foi eficiente no controle da doença, resultado que se assemelha ao encontrado no presente trabalho.

Já Uppal et al. (2008) encontraram resultados diferentes ao testarem o efeito da aplicação de *A. nodosum* em plantas de batata contra murcha de *Verticillium*. Os autores constataram que tanto a aplicação via semente, como a incorporação do tratamento no solo diminuíram a incidência e a severidade da doença nas plantas em condições controladas

Para a variável produtividade, os tratamentos com *T. asperellum*, *B. subtilis*, fosfito de potássio, manganês, fungicida e ASM, aumentaram a produtividade quando comparados a testemunha, que não diferiu estatisticamente dos tratamentos *A. nodosum*, Maxi Flor®, Wert Plus® e Hight Roots® (Tabela 10).

Tabela 10 - Produtividade (Kg ha<sup>-1</sup>) em função dos tratamentos realizados em canola (*Brassica napus*), área experimental Fazenda Escola Capão da Onça, safra 2017. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamento                                | Produtividade |
|-----------------|-------------------------------------------|---------------|
| Químico         | Testemunha                                | 425,70 b*     |
|                 | fungicida - procimidona                   | 491,06 a      |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 312,11 c      |
| Biológico       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 574,77 a      |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 635,74 a      |
|                 | <i>Ascochyta nodosum</i>                  | 470,01 b      |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 523,59 a      |
| Indutores       | fosfito de manganês                       | 312,49 c      |
|                 | fosfito de potássio                       | 568,33 a      |
|                 | fosfito de cobre                          | 511,69 a      |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)   | 409,84 b      |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 445,25 b      |
| Micronutrientes | Manganês                                  | 619,65 a      |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 434,73 b      |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 370,89 c      |
| C.V. (%)        |                                           | 17,49         |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

Há relatos do uso de fosfitos no aumento de produtividade na cultura da soja (PASSOS; REZENDE; CARVALHO, 2014) e trigo (HAJAR et al., 2014). Entretanto, Neves e Blum (2014), estudando a influência da aplicação de fungicidas isolados ou em associação com fosfito de potássio no controle da ferrugem asiática em soja, não encontraram incremento na produtividade e massa de 1000 grãos quando foi utilizado somente fosfito, em relação à testemunha.

O indutor de resistência ASM (Tabela 10), também proporcionou resultados significativos, resultados estes que contradizem aos de Tomazeli (2010) que não encontrou diferença significativa na produtividade de morango quando utilizado o indutor ASM.

Barros (2011) ao avaliar o efeito de ASM para controle de manchas foliares na cultura do milho, não encontrou diferença significativa entre esse tratamento e a testemunha. Tal fato foi justificado pela necessidade da aplicação do produto ser em um período anterior ao da infecção dos patógenos na planta para que haja resposta,

o que não pode ser controlado em condições de campo, e também pela necessidade da manutenção das plantas elicítadas, exigindo uma reaplicação de ASM, fato que não ocorreu em seu experimento.

Dias et al., (2010) também não encontraram resultados positivos com a utilização de ASM para diminuição da severidade de manchas foliares em plantas de milho, porém, quando seu uso foi associado à aplicação de fungicidas, o controle de doenças e a produtividade foi melhor até para os tratamentos com apenas a aplicação de fungicidas.

Segundo Mckenzie (2001) o ASM quando incluído como parte integral do programa de manejo de culturas, não melhora apenas o controle de doenças, mas aumenta o rendimento e diminui os níveis de doenças na pós-colheita. Pode-se destacar também ser fundamental ter genótipos que respondem a indutores de resistência ou genótipos com maior resistência basal.

O micronutriente manganês, não diferiu estatisticamente dos tratamentos *T. asperellum* e ASM, apresentando também alta produtividade na cultura da canola (Tabela 10). Entretanto resultado inverso foi obtido por Carvalho et al. (2013) onde a utilização de apenas ativador de defesa no número máximo de três aplicações não foi eficiente no controle da ferrugem asiática na cultura da soja.

De acordo com Bettiol e Astiarraga (1998), os nutrientes minerais exercem valiosas funções no metabolismo das plantas, influenciando não só o crescimento e produtividade como também aumentando a indução de resistência da mesma à patógenos. O uso de biofertilizantes, por exemplo, tem sido indicado para a agricultura orgânica como forma de manter o equilíbrio nutricional das plantas e torná-las menos predispostas à ocorrência de pragas e patógenos (FALDONI, 2011).

## 5.6 QUALIDADE SANITÁRIA

As sementes podem ser atacadas por microrganismos no campo e/ou durante operações de colheita, secagem, beneficiamento afetando a qualidade e reduzindo a capacidade germinativa, bem como causando “damping - off” também conhecido por tombamento de mudas (CARNEIRO, 1995). O estado sanitário de uma amostra de sementes é de grande importância, pois fornece informações que podem ser usadas

para diferentes finalidades, como comparar a qualidade de diferentes lotes de sementes ou determinar a sua utilização comercial (BRASIL, 2009).

Vários gêneros de fungos, patogênicos e saprofíticos, foram identificados associados às sementes de canola (Tabelas 11 e 12). Nas duas áreas ocorreram fungos do gênero: *Fusarium* sp; *Trichoderma* sp; *Alternaria alternata*; *Penicillium* sp; *Aspergillus* sp; *Cladosporium* sp, entretanto não ocorreu incidência do fungo *S. sclerotiorum* nas sementes de canola em ambas as áreas experimentais. Os resultados serão apresentados separadamente para cada área de avaliada,

#### 5.6.1 Área experimental Guaragi

No lote de sementes de Guaragi (Tabela 11) foi encontrado o fungo do gênero *Gonatobotrys* sp, trata-se da fase anamórfica do fungo *Melanospora damnosa* (VAKILI, 1989), considerado um fungo biotrófico descrito pela primeira vez em 1843 (WHALEY; BARNETT, 1963). Esse patógeno foi isolado pela primeira vez na cultura do milho (SHURTLEFF, 1980), também há relatos na literatura do seu uso como controle biológico de podridão de caule na cultura do milho, assim como associado no controle de fungos como *A. alternata*, *Fusarium moniliforme*, *C. graminicola* e *Epicoccum nigrum* (VAKILI, 1989). Esse fungo apareceu em maior porcentagem no tratamento com o nutriente manganês. O segundo tratamento com maior incidência de fungo foi o nutriente Maxi Flor®, seguido por Wert Plus, fosfito de potássio, fosfito de manganês e *A. nodosun*.

Foram encontrados também os fungos do gênero *Fusarium* sp e *A. alternata*, sendo estes potencialmente patogênicos a diversas culturas. Há relatos de desses patógenos como agentes causais de podridão de raiz e manchas foliares (TRIGO et al., 1997). Espécies de *Fusarium* já foram detectados em sementes de diversas culturas como: pepino (MENEZES et al., 2011); feijão caupi (SILVA; SANTOS; GOMES, 2014); milho (MARQUES et al., 2009; RAMOS et al., 2014). Já o fungo *Alternaria* foi relatado em sementes de canola, colza e crambe (PONTIM, 2011), coentro (REIS et al., 2006) feijão (MORAES; MENTEM, 2006) entre outras culturas. Os tratamentos com maior incidência de *Fusarium* sp, foram o controle biológico com a alga *A. nodosun*, seguido pela testemunha, e os micronutrientes manganês e V6®. Já *A. alternata* teve maior incidência nos tratamentos testemunha, *B. subtilis*, fosfito de manganês, High Roots®, manganês e V6® (Tabela 11).

A presença dos fungos *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp é comum em lotes de sementes, visto que são fungos que causam deterioração das mesmas, conhecidos como fungos de armazenamento. Há relatos de ocorrência desses organismos em diversas culturas como canola (PONTIM, 2011); feijão (BORÉM et al., 2006) e milho (MARQUES et al., 2009; HENNING et al., 2011). Além disso, juntamente com o *Fusarium*, são fungos que produzem micotoxinas.

Kryzanowski et al. (2008) ressaltam que o desenvolvimento de fungos de armazenamento (*Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.) pode causar rápida deterioração das sementes e interferir negativamente na sua germinação.

Houve ocorrência também dos gêneros *Gliocladium* e *Trichoderma* (Tabela 11), ambos estudados como possíveis agentes de controle biológico no tratamento de sementes a exemplo de controle de mofo cinzento em tomateiro (LISBOA et al., 2007). Chagas et al (2014) usou *Gliocladium* no controle de mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*) no mamão, *Trichoderma* e *Gliocladium* foram associados às sementes de ipê-amarelo, ipê-roxo, aroeira-pimenteira e aroeira-salsa (BOTELHO, 2006).

Na cultura da canola, Pontim (2011) relatou a incidência de *Aspergillus* spp., *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp. A ocorrência de *Gliocladium* foi maior na testemunha e no tratamento com fosfito de manganês, não sendo encontrado esse fungo no tratamento com fungicida.

Já o fungo *Trichoderma* teve maior incidência no tratamento com o micronutriente V6® (Tabela 11), sendo encontrado também nos tratamentos testemunha, *B. thuringiensis*, High Roots® e manganês, mas a incidência foi tão baixa que não diferiu estatisticamente dos tratamentos onde não houve a ocorrência desse fungo.

Tabela 11 - Incidência (%) de fungos em sementes de canola (*Brassica napus*) colhidas em função dos tratamentos realizados em campo na área experimental Fazenda Limeira-Guaragi, safra 2017. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamento                                    | <i>Alternaria</i><br><i>alternata</i> | <i>Gliocladium</i><br>Sp | <i>Aspergillus</i><br>sp | <i>Penicillium</i><br>sp | <i>Fusarium</i><br>sp | <i>Gonabotrys</i><br>sp | <i>Trichoderma</i><br>sp |
|-----------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| Controle        | Testemunha                                    | 47 a*                                 | 39,5 a                   | 0 c                      | 0 d                      | 15 b                  | 4,5 d                   | 8,5 a                    |
| Químico         | fungicida - procimidona                       | 6,5 c                                 | 0 c                      | 0,5 c                    | 22,5 b                   | 0 c                   | 1 d                     | 0 b                      |
|                 | <i>Ascoyphillum nodosum</i>                   | 24 b                                  | 16 b                     | 0,5 c                    | 0 d                      | 42 a                  | 6 c                     | 0 b                      |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>                 | 8 c                                   | 3,5 c                    | 0 c                      | 16 c                     | 0 c                   | 0,5 d                   | 3,5 a                    |
| Biológico       | <i>Bacillus subtilis</i>                      | 49 a                                  | 7 c                      | 7,5 b                    | 22 b                     | 13 b                  | 4,5 d                   | 0 b                      |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>                 | 5 c                                   | 3,5 c                    | 0,5 c                    | 44 a                     | 0 c                   | 0,5 d                   | 3 b                      |
|                 | acibenzolar-S-metilíco                        | 19,5 b                                | 5,5 c                    | 0 c                      | 27 b                     | 0,5 c                 | 0 d                     | 0 b                      |
|                 | fosfito de Cobre                              | 21 b                                  | 16,5 b                   | 0 c                      | 21,5 b                   | 1 c                   | 1,5 d                   | 0 b                      |
| Indutores       | fosfito de Manganês                           | 37 a                                  | 43 a                     | 6,5 b                    | 11 c                     | 2 c                   | 14 c                    | 0 b                      |
|                 | fosfito de Potássio                           | 26 b                                  | 15 b                     | 0 c                      | 3,5 d                    | 0 c                   | 10,5 c                  | 0 b                      |
|                 | N - 18%, K <sub>2</sub> O - 6% (Hight Roots®) | 40,5 a                                | 7 c                      | 7 b                      | 12,5 c                   | 0 c                   | 1 d                     | 1,5 b                    |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)       | 23 b                                  | 6 c                      | 20 a                     | 7 b                      | 5 c                   | 31 b                    | 0 b                      |
| Micronutrientes | Manganês                                      | 50,5 a                                | 11,5 b                   | 1 c                      | 0 d                      | 19 b                  | 64,5 a                  | 1 b                      |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)              | 32 a                                  | 2 c                      | 0 c                      | 42,5 a                   | 15 b                  | 0,5 d                   | 14,5 a                   |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)            | 5 c                                   | 16 b                     | 1 c                      | 0 d                      | 0 c                   | 7 c                     | 0 b                      |
| C.V. (%)        |                                               | 23,90                                 | 18,56                    | 13,73                    | 25,68                    | 31,75                 | 17,32                   | 21,90                    |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; Dados originais, para análise, foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(x+0,5)/100}$ ; C.V.= coeficiente de variação.

### 5.6.2 Área experimental Fazenda Escola Capão da Onça

No lote de sementes colhidos da área experimental na Fazenda Escola da UEPG (Tabela 12), somente teve incidência dos fungos: *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. sendo este com menor incidência quando comparado a área experimental do Guaragi (Tabela 12).

O fungo potencialmente patogênico *A. alternata*, foi encontrado com maior incidência na testemunha, no tratamento com o indutor acibenzolar-S-metilíco e no micronutrientes High Roots® (Tabela 12). Os tratamentos que apresentaram menor incidência desse patógeno foram o controle biológico com *B. thuringiensis* e os fosfitos de manganês e potássio.

O gênero *Fusarium* sp. ocorreu em maior incidência nos tratamentos com *B. thuringiensis* (Tabela 12), valor superior ao encontrado na testemunha e no micronutriente Wert Plus®, que foram os tratamentos com a segunda maior incidência do patógeno. *Fusarium* sp. ocorreu com baixa incidência nos tratamentos com fosfito de cobre e potássio, já os demais tratamentos não houve a ocorrência do fungo. Este é um dos mais abundantes gêneros de fungos de solo, englobando espécies de importância ambiental, agrícola e até mesmo, relacionadas a doenças em humanos e animais (WAKELIN et al., 2008). Podem ser patogênicos a uma grande variedade de plantas, muitas delas de interesse econômico, provocando doenças como murcha vascular, "damping off" e podridões de raiz e colo (AGRIOS, 2005; WAKELIN et al., 2008).

Os fungos de armazenamento *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. ocorreram com maior frequência nos tratamentos fosfito de potássio e *T. asperellum*, e nos micronutrientes High Roots® e Maxi Flor®, respectivamente (Tabela 12).

Gabardo (2015) avaliando qualidade sanitária de sementes de soja, tratadas com fungicida, ASM e micronutrientes, constatou a presença dos fungos *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *R. solani*, *Rhizopus* spp. e *Cercospora kikuchii*. O fungo *Fusarium* sp. foi encontrado em maior porcentagem nas sementes, os demais fungos foram detectados nas sementes em porcentagens menores.

Tabela 12 - Incidência (%) de fungos em sementes de canola (*Brassica napus*) colhidas em função dos tratamentos realizados em campo na área experimental Fazenda Escola Capão da Onça, safra 2017. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamento                                | <i>Alternaria alternata</i> | <i>Cladosporium sp</i> | <i>Aspergillus sp</i> | <i>Penicillium sp</i> | <i>Fusarium sp</i> |
|-----------------|-------------------------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| Controle        | Testemunha                                | 58 b*                       | 1,0 b                  | 22,5 b                | 34 b                  | 11,5 c             |
| Químico         | fungicida - procimidona                   | 26 d                        | 0,0 b                  | 0,0 c                 | 6 d                   | 0 e                |
|                 | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 30 d                        | 1,0 b                  | 31 b                  | 0 d                   | 0 e                |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 18 e                        | 10,0 a                 | 18 c                  | 0 d                   | 18 b               |
| Biológico       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 47 c                        | 2,0 b                  | 4 c                   | 0 d                   | 0 e                |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 47 c                        | 3,0 b                  | 39 a                  | 0 d                   | 0 e                |
|                 | acibenzolar-S-metilíco                    | 58 b                        | 11,0 a                 | 0,3 c                 | 0 d                   | 0 e                |
| Indutores       | fosfito de Cobre                          | 35 d                        | 0,0 b                  | 2 c                   | 4 d                   | 7 d                |
|                 | fosfito de manganês                       | 9,5 e                       | 4,5 b                  | 24 b                  | 0 d                   | 28 a               |
|                 | fosfito de potássio                       | 19 e                        | 0,0 b                  | 44,5 a                | 23 b                  | 6,5 d              |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 60 b                        | 2,0 b                  | 7 c                   | 66 a                  | 2 e                |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (Maxi Flor®)   | 80 a                        | 2,0 b                  | 4 c                   | 71 a                  | 0 e                |
| Micronutrientes | Manganês                                  | 50 c                        | 1,0 b                  | 14 c                  | 0 d                   | 0 e                |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 28 d                        | 3,5 b                  | 26 b                  | 30 b                  | 1,5 e              |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 29 d                        | 0,0 b                  | 25 b                  | 0 d                   | 11 c               |
| C.V. (%)        |                                           | 22,01                       | 12,25                  | 30,14                 | 18,22                 | 9,95               |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; Dados originais, para análise foram transformados em  $\sqrt{(x+0,5)/100}$ ; C.V.= coeficiente de variação.

Além de causar redução na capacidade germinativa e mortalidade de plântulas, o patógeno presente na semente poderá resultar em um aumento progressivo de uma doença em campo, podendo reduzir o valor comercial da cultura. Outra possível consequência da associação de fitopatógenos com a semente é o uso de lotes de sementes contaminadas que podem introduzir patógenos em áreas isentas, fazendo com que testes de quarentena e de certificação para o comércio internacional possam ser necessários (MAPA, 2009). Por esses motivos a realização dos testes de sanidade é essencial para esclarecer as causas da baixa germinação em amostras com elevados índices de infecção/infestação por microrganismos (HENNING, 2005).

## 6 CONCLUSÃO

- Na avaliação *in vitro* houve um maior controle do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* com os tratamentos *B. subtilis*, fungicida procimidona e micronutriente Wert Plus®
- Em folha destacada os tratamentos procimidona e *B. subtilis* inibiram 100% o crescimento do fungo.
- Em casa de vegetação, os tratamentos com menor severidade do mofo branco foram procimidona, fosfito de cobre, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, fosfito de manganês, fosfito de potássio, fosfito de cobre, High Roots® e V6®.
- Na análise bioquímica, não houve atividade da enzima polifenoloxidase e uma maior atividade da peroxidase foi observada somente na coleta realizada 48 horas após a inoculação do patógeno, nos tratamentos acibenzolar-S-metílico, fosfito de cobre e fungicida.
- A campo, na área experimental do distrito Guaragi, os menores valores de severidade foram obtidos nas parcelas com fosfito de cobre e acibenzolar-S-metílico, entretanto não diferiram estatisticamente do fungicida, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, fosfito de manganês, fosfito de potássio e V6®. A maior produtividade foi obtida nos tratamentos com *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum* e *A. nodosum*.
- Na área experimental da UEPG, apresentaram menor severidade os fungicida procimidona, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *T. asperellum*, *A. nodosum*, fosfito de manganês e V6®. A maior produtividade foi obtida por *T. asperellum*, *B. subtilis*, fosfitos de potássio e manganês, micronutriente manganês, acibenzolar-S-metílico e procimidona.
- Na qualidade sanitária sementes do campo de Guaragi, apresentaram incidência de *Gonatobotrys* sp., *Alternaria alternata*, *Gliocladium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e *Trichoderma* sp. Sementes provenientes da área experimental da UEPG, apresentaram incidência de *A. alternata*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. p.922.

AGUIAR, R. A. **Manejo do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* L.) em tomateiro industrial**. 2011. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

ALVAREZ, F.; CASTRO, M.; PRÍNCIPE, A.; BORIOI, G.; FISCHER, S.; MORI, G.; JOFRÉ, E. The plant associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP<sub>2</sub>18 and ARP<sub>2</sub>3 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of *Sclerotinia* stem rot disease. **Journal of Applied Microbiology**, Washington, v. 112, n. 1, p. 159-174, 2011.

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

ARAÚJO, L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; STADNIK, M., J. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* e no controle pós-infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 54-59, 2010.

ÁVILA, F. W. **Fosfito no crescimento, nutrição fosfatada e aspectos da indução de resistência em milho**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

BAKKER, P. A. H. M.; DOORNBOS, R. F.; LOON, L. C. Induced Systemic Resistance (ISR) and plant disease control. In: X SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2010, Lavras. **Anais**. Lavras: 2010.

BARBETTI, M. J.; BANGA, S. K.; FU, T. D.; LI, Y. C.; SINGH, D.; LIU, S. Y.; GE, X. T.; BANGA, S. S. Comparative genotype reactions to *Sclerotinia sclerotiorum* within breeding populations of *Brassica napus* and *B. juncea* from India and China. **Euphytica**, Netherlands, v. 197, n. 1, p. 47–59, 2014.

BAILEY, K. L.; LAZAROVITS, G. Suppressing soil borne diseases with residue management and organic amendments. **Soil Till. Res**, Amsterdã, v. 72, p. 169-180, 2003.

BARILLI, E.; PRATS, E.; RUBIALES, D. Benzothiadiazole and BABA improve resistance to *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in *Pisum sativum* L. with an enhancement of enzymatic activities and total phenolic content. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 128, n. 4, p. 483–493. 2010.

BARNET, H.L., HUNTER, B.B. **Illustrated genera of Fungi imperfecti**: MacMillan Co. NewYork, 1986, 218p.

BARROS, R. Estudo sobre a aplicação foliar de acibenzolar-s-metil para indução de resistência à ferrugem asiática em soja e cercosporiose em milho. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 519-528, 2011.

BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L. Ambiente e Doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2011. v.2, p.133-147.

BERGER, A. N. **Controle do mofo branco: efeito de pontas e volumes de pulverização em soja e produtos biológicos em soja e canola**. 2015. 105f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2015.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melaço e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 7, p. 431-435. 1998.

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

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: Cavalcanti, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: Fealq, p. 11-28. 2005.

BORÉM, F. M.; RESENDE, O.; MACHADO, J. DA C., FONTENELLE, I. M. R.; SOUSA, F. F. DE. Controle de fungos presentes no ar e em sementes de feijão durante armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.3, p.651–659, 2006.

BOURDÔT, G.; HURRELL, G.; SAVILLE, D.; DEJONG, D. Risk analysis of *Sclerotinia sclerotiorum* for biological control of *Cirsium arvense* in pasture: ascospore dispersal. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 11, n.1, p. 119 – 139. 2001

BRACKMANN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C. A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs ‘Fuji’ durante o armazenamento refrigerado, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1039-1042, 2004.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRADLEY, C. A.; HENSON, R. A.; PORTER, P. M., LEGARE, D. G.; DEL RIO, L. E., KHOT, S. D. Response of canola cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum* in controlled and field environments. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, p. 215-219, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

BOTELHO, L. S. **Fungos associados as sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*), ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*), aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius*) e aroeira-salsa (*Schinus molle*): incidência, efeitos na germinação, transmissão para plântulas e controle**. 2006. 115 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – São Paulo, 2006.

CAIXETA, A. O.; VIEIRA, B. S.; CANEDO, E. J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogenicos do feijoeiro. **Cerrado Agrociências**, Patos de Minas, v. 3. p 35-43, 2012.

CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. v. 1, 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. cap. 6.p. 119-132.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P.; OSÓRIO, V.A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 637-643, jul. 2004.

CARDOSO, R. M. L.; LEITE, R. M. B. V. C.; BARBOSA, C. J. Doenças da Canola. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. M. A.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia. Volume 2: Doenças de plantas cultivadas**. 5ª ed. São Paulo: Ceres, 2016, p. 233-241.

CARDOSO, S. S.; LOPES, M. C.; SILVA JÚNIOR, J. F. DA; BORGES, B. M. M. N. Eficiência de fungicidas no controle do mofo branco na cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 1, p. 49-52, 2015.

CARNEIRO, F. F. **Estratégias visando a seleção de linhagens de feijão resistentes ao mofo branco**. 2013. 149 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. **Quantificação de danos causados por *Phaeoisariopsis griseola* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) no município de Londrina-PR**. Piracicaba, 1995. 102 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1995.

CARRÉ, P.; POUZET, A. RAPESEED - Tremendous potential for added value generation? Colza: haut potentiel de valeur ajoutée. **EDP Sciences**, v. 21, n. 1, p.1-12, 2014.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C.; Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. Universidade de São Paulo – USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Divisão de Biblioteca – DIBD. **Série Produtor Rural**, n. 56, p. 44. Piracicaba-SP, 2014.

CARVALHO, B. O.; OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, E. R.; ANDRADE, V.; FERREIRA, T. F.; REIS, L. V. Ação de ativador de defesa e fungicida foliar no controle da ferrugem asiática, na produção e na qualidade das sementes de soja. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 198-206. ISSN 2317-1537, 2013.

CAMOCHENA, R. C. **Desempenho de fosfitos de potássio no manejo de mofo branco em soja**. 2015. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; CARVALHO, C. P. S.; SILVEIRA, J. A. G.; OLIVEIRA, J. T. A. Induced defence responses and protective effects on tomato against *Xanthomonas vesicatoria* by an aqueous extract from *Solanum lycocarpum* infected with *Crinipellis perniciosus*. **Biological Control**, San Diego, v. 39, n. 3, p. 408-417, Dez. 2006.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; PEREIRA, R. B.; OLIVEIRA, J. T. A. Induction of resistance against *Verticillium dahliae* in cacao by a *Crinipellis perniciosus* suspension. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 90, n. 2, p. 271-278, July 2008.

CESSNA, S. G.; SEARS, V.E.; DICKMAN, M.B.; LOW, P.S. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. **The Plant Cell**, Lavras, v.12, n. 11, p. 2191-2199, 2000.

CHAGAS, H. A.; BASSETO, M. A.; ROSA, D. D.; TOPPA, E. V. B.; FURTADO, E. L.; ZANOTTO, M. D. Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 1, p. 42-48, 2014.

CHAHAL, S. S.; RAWLA, G. S. Influence of trace elements and organic growth factors on the growth of *Penicillium crustosum* Thorn. **Prec. Indian Acad. Science**, India, v. 89, n. 3, p. 301-306, 1980.

CHEN, Y.; GAO, X.; CHEN, Y.; QIN, H.; HUANG, L.; HAN, Q. Inhibitory efficacy of endophytic *Bacillus subtilis* EDR4 against *Sclerotinia sclerotiorum* on rapeseed. **Biological Control**, San Diego, v. 78, p. 67-76, 2014.

CHET I., BENHAMOU N., HARAN S.: **Mycoparasitism and lytic enzymes**. Trichoderma and Gliocladium, 2: 153–172. 1998

CLARKSON, J.P.; PHELPS, K.; WHIPPS, J. M.; YOUNG, C.S.; SMITH, J. A.; WATLING, M. Forecasting Sclerotinia disease on lettuce: toward developing a prediction model for carpogenic germination of sclerotia. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 3, p. 268–279. 2004

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Canola. Brasília-DF, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253>> Acesso em: 12 abr. 2017.

CÓRDOVA-CAMPOS, O.; ADAME-ÁLVAREZ, R. M.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; HEIL, M. Domestication affected the basal and induced disease resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 134, p. 367-379, 2012.

CUNHA, E. W. **Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene da oxalato descarboxilase de *Flammulina velutipes***. 2010, 96 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

DALIO, R. J. D.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V.; SILVA, A. C.; BLUMER, S.; PEREIRA, V. F.; OSSWALD, W.; PASCHOLATI, S. F. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. In: LUZ, W. C. (Org.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 20, p. 206-242, 2012.

DELOURME, R.; BARBETTI, M. J.; SNOWDON, R.; ZHAO, J.; MANZANARES-DAULEUX, M. Genetics and genomics of resistance. In 'Genetics, genomics and breeding of oilseed Brassicas'. (Eds D Edwards, J Batley, IAP Parkin, C Kole) pp. 276–318. **Science Publishers**, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2011.

DE NARDI, B.; DREOS, R.; TERRA, L. D.; MARTELLOSI, C.; ASQUINI, DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P.S.; HARE, M.C. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, p. 1059-1075, 2010.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F.; SENA, M. C.; FREITAS, L. F.; YAMANISHI, O. K. Redução da podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro (*Carica papaya*) por fosfitos, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 166, 2007.

DIAS, A. R.; BORGES, E. P.; GUAZINA, R. A.; OLIVEIRA, J. A. R.; FERREIRA, C. B.; BORGELT, L.; ABREU, A. B. L. Indutores de Resistência e Fungicidas na Cultura do Milho na Região dos Chapadões Alfredo. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2010.

DING, Y.; MEI J.; LI Q.; LIU Y.; WAN H.; WANG L.; BECKER H. C.; QIAN W. Improvement of *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in *Brassica napus* by using *B. oleracea*. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Germany, v. 60, n. 5, p. 1615–1619, 2013.

DUANGMAIL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, London, v. 64, p. 351-359, 1999.

DUNCAN, R. W.; FERNANDO, W. G. D.; RASHID, K. Y. Time and burial depth influencing the viability and bacterial colonization of sclerotinia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdã, v. 38, n.2, p.275-284, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, 2006.

ESKIN, N. A. M.; McDONALD, B. E. **Canola oil. Nutrition Bulletin**, Londres, v. 16, n. 3, p. 138-146, 1991.

EYLES, A.; BONELLO, P.; GANLEY, R.; MOHAMMED, C. Induced resistance to pests and pathogens in trees. **New Phytologist**, California, v. 185, p. 893-908, 2010.

FALDONI, L. **Efeito de Biofertilizante no Desenvolvimento de Porta-enxertos de citros e na indução de resistência à gomose de *Phytophthora***. 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural), UFSCAR, Araras, 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO stat. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>> Acesso em: 13 de maio de 2017.

FERNANDO, W. G. D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y. Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. In: **Recent Research in Developmental and Environmental Biology**, v.1, n.2. Research Signpost, Kerala, 2004, p. 329–347.

FERNANDO, W. G. D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y.; SAVCHUK, S. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. **Crop Protection**, Guildford, v. 26, n. 2, p. 100-107, 2007.

FILIPPI, M. A. C. C.; SILVA, G. B.; CÔRTEZ, M. V. B.; LOBO, V. L. S.; PRABHU, A. S. Indução de resistência e promoção de crescimento em arroz por agentes biológicos. In: VI REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS E PATÓGENOS, 2012, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2012, p. 51-78.

FRIEDRICH, L., LAWTON, K., RUESS, W., MASNER, P., SPECKER, N., GUTRELLA, M., MEIER, B., DINCHER, S., STAUB, T., UKNES, S., METRAUX, J.P., KESSMANN, H., RYALS, J., A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**, New York, v.10, p. 61-70. 1996.

GABARDO, G. **Controle de doenças na cultura da soja com produtos alternativos**. 2015, 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

GALVÃO, S.; STADNIK, M. J.; PERUCH, L. A. M.; BRUNA, E. D. Avaliação da eficiência de produtos alternativos para o controle do míldio e da antracnose em videira, cultivar Niágara branca. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.19, n.2, p.91-93, jul. 2006.

GAO, X.; HAN, Q.; CHEN, Y.; QIN, H.; HUANG, L.; KANG, Z. Biological control of oilseed rape *Sclerotinia* stem rot by *Bacillus subtilis* strain Em7. **Biocontrol Science Technology**, London, v.24, n. 1, p. 39-52, 2014.

GARG, H.; KOHN, L.; ANDREW, M.; LI, H.; SIVASITHAMPARAM, K.; BARBETTI, M. Pathogenicity of morphologically different isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* with *Brassica napus* and *B. juncea* genotypes. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v.126, n. 3, p. 305–315, 2010.

GASPERI, A. C. **Variabilidade de isolados, reação de cultivares e danos causados por *Fusarium solani* f. sp. *glycines***. 2000. 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2000.

GREWAL, H. S.; GRAHAM R. D.; RENGEL Z.; Genotypic variation in zinc efficiency and resistance to crown rot disease (*Fusarium graminearum* Schw. Group 1) in wheat. **Plant and Soil**, Crawley, v. 186, n. 2, p. 219-226, out. 1996.

GODOY, G.; STEADMAN, J.; DICKMAN, M.; 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**, Amsterdã, v. 37, n. 3, p. 179-191, 1990.

GÖRLACH, J.; VORATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENRY, G.; BECKHOVE, V.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; DESSMAN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, Lavras, v.8, p.629 - 643, 1996.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JÚNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

GRAHAM, T. L.; GRAHAM, M.Y. Cellular coordination of molecular responses in plant defense. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. v. 4, p. 415 - 422, 1991.

GRAHAM J. H.; LEITE JR, R. P. Lack of control of citrus canker by induced systemic resistance compounds. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 7, p. 745 – 750, 2004.

GRISON, R.; GREZESBESSET, B.; SCHNEIDER, M.; LUCANTE, N.; OLSEN, L.; LEGUAY J. J.; TOPPAN, A. Field tolerance to fungal pathogens of *Brassica napus* constitutively expressing a chimeric chitinase gene. **Nature Biotechnology**, v.14, p.643-646, 1996.

GUEST, D.; GRANT, B. The complex action of phosphonates anti-fungal agents. **Biological Review**, Cambridge, v. 66, n. 2, p. 159-187, 1991.

GUZZO, S. D.; HARAKAVA, R. Mecanismos envolvidos na resistência induzida em plantas a doenças: sinalização e expresso de genes de defesa, In: RODRIGUES, F. A.; ROMEIRO, R. S.; **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: Suprema, p. 281-301. 2007

HAJAR, A.S. PINHO, R. S. C.; VEY, R. T.; RODRIGUESK. R. R.; BANDEIRA, C. T.; PINHO, P. J. Produtos a base de fosfitos na produtividade de trigo. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 6, n.2, 2014.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol – changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 377-392, 2000.

HAYES, R. J.; WU, B. M.; PRYOR, B. M.; CHITRAMPALAM, P.; SUBBARAO, K. V. Assessment of resistance in lettuce (*Lactuca sativa* L.) to mycelial and ascospore infection by *Sclerotinia minor* Jagger and *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Hort Science**, Virginia, v. 45, n. 3, p. 333–341. 2010.

HENNING, A. A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1994. 43p. Documentos nº 90.

HENNING, A.A. **Patologia e Tratamento de sementes: noções gerais**. 2.ed.- Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 2005. p. 1-52 Documento 264.

HENNING, F. A.; JACOB JUNIOR E. A.; MERTZ, L. M.; PESKE, S. T. Qualidade sanitária de sementes de milho em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 33, n. 2 p. 316-321, 2011.

HIND, T. L.; ASH, G. J.; MURRAY, G. M. Prevalence of sclerotinia stem rot of canola in New South Wales. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Australia, v. 43, n.2, p. 163-168, 2013.

HIND-LANOISELET, T.; LEWINGTON, F. Canola concepts: managing sclerotinia. **NSW Department of Primary Industries AgNote**: 490. 2004.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HU, X.; ROBERTS, D. P.; XIE, L.; MAUL, J. E.; YU, C.; LI, Y.; JING, M.; LIAO, X.; CHE, Z.; LIAO, X. Formulations of *Bacillus subtilis* BY-2 suppress *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape in the field. **Biological Control**, San Diego, v. 74, p. 54-64, 2014.

HUBER, D. M.; GRAHAM R. D. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to disease, in: RENGEL, Z. (Ed.), Mineral nutrition of crops fundamental mechanisms and implications, **Food Product Press**, New York, 1999, p. 205–226.

HUANG, C. H., VALLAD, G. E., ZHANG, S., WEN, A., BALOGH, B., FIGUEIREDO, J. F. L., BEHLAU, F., JONES, J. B., MOMOL, M. T., OLSON, S. M. Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, p. 221–227. 2012.

HUANG, Y., DEVERALL, B. J., TANG, W. H., WANG, W., WU, F. W. Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest Rock melons and Hami melons from disease. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 106, p. 651–656. 2000.

HUNTER, J.; ABAWI, G.; CROSIER, D. Effects of timing, coverage, and spray oil on control of white mold of snap bean with benomyl. **Plant Disease Journal**, Saint Paul, v. 62, n. 7, p. 633-637, 1978.

HUTH, W.; BALKE, K. Bion - without effect on the development of BYDV infected plants of winter barley. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Germany, v. 109, p. 286-290, 2002.

IAPAR – Instituto Agronomico do Paraná. 2011. **Cartas Climáticas do Paraná**. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863> Acesso em: 02 jun. 2017.

IRIARTE, L.B; Z.B. LÓPEZ Y C. APPELLA. Red Nacional de Evaluación de cultivos de colza. Estación Experimental Integrada Barrow (INTA-MAA). 2008. <<http://www.inta.gov.ar/barrow/info/indices/tematica/colza.htm>> Acesso em 22 Jun. 2017

JACQUES, F. L. **Efeito de produtos alternativos *in vitro* e em casa de vegetação no controle de *Colletotrichum graminicola***. 2015, 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. Action of the fungicide phosphate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*, **Plant Pathology**, Seoul, v. 49, n. 1, p. 147-154, 2000.

JACOBSEN B. J.; ZIDACK N. K.; LARSON, B. J. The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems: Plant diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 11, p. 1272-1275, 2004.

JENSEN, B. D.; FINCKH, M. R.; MUNK, L.; HAUSER, T. P.; Susceptibility of wild carrot (*Daucus carota* ssp. *carota*) to *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 122, n. 3, p. 359-367, 2008.

JI, P., YIN, J., KONÉ, D..Application of acibenzolar-S-methyl and standard fungicides for control of *Phytophthora* blight on squash. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p.1601–1605. 2011

JULIATTI, F. C.; CRATO, F. F.; JULIATTI, F. C.; COUTO, K. R.; JULIATTI, B. C. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 676-680, 2013.

KAMAL, M. M. Progress towards biological control of sclerotinia diseases in Charles Sturt University. **Innovator, Graham Centre for Agricultural Innovation**, winter edition. p 11 - 12, 2015. Disponível em: <https://researchoutput.csu.edu.au/ws/portalfiles/portal/9316221>>. Acesso em: 20 mai. 2017.

KAMAL, M. M.; LINDBECK, K. D.; SAVOCCHIA, S.; ASH, G. J. Biological control of sclerotinia stem rot of canola using antagonistic bacteria. **Plant Pathology**, Seoul, v. 64, n. 6, p. 1375-1384, 2016.

KESSMAN, H. T.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KHANGURA, R.; VAN BURGEL, A.; SALAM, M.; ABERRA, M.; MACLEOD, W. J. Why Sclerotinia was so bad in 2013? Understanding the disease and management options. **Crop Updates**, Perth, Western Australia. 2014.

KIM, H. S., HARTMAN, G. L., MANANDHAR, J. B., GRAEF, G. L., STEADMAN, J. R., DIERS, B. W. Reaction of soybean cultivars to Sclerotinia stem rot in field, Renhouse, and laboratory evaluations. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 3, p. 665-669, 2000.

KIRKEGAARD, J. A.; ROBERTSON, M. J.; HAMBLIN, P.; SPRAGUE, S. J. Effect of blackleg and sclerotinia stem rot on canola yield in the high rainfall zone of southern New South Wales, Australia. **Aust Journal Agric Res**, v. 57, n. 2, p. 201–212, 2006

KRYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. **O controle de qualidade agregando valor à semente de soja** - Série Sementes. Londrina: Embrapa, 2008, p.12. (Circular técnica, 54).

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolarS-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de produção**. 2007. 140 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

KULL, L. S.; VUONG, T. D.; POWERS, K. S.; ESKRIDGE, K. M.; STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of resistance screening methods for Sclerotinia stem rot of soybean and diy bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p.1471 - 1476, 2003.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 3p. (Comunicado Técnico, 76).

LE TOURNEAU, D. Morphology, cytology, and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 8, p. 887–890. 1979.

LISBOA, B.B.; BOCHESE, C.C.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A.M.R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.

LIZZI, Y.; COULOMB, C.; COULOMB, P. J.; COULOMB, P. O.; POLIAN, C. L'algue face au Mildiou: que avenir? **Phytoma**, Paris, v. 508, p. 29-30, 1998.

LIU, S. Y.; LIU, Z.; FITT, B. D. L.; EVANS, N.; FOSTER, S. J.; HUANG, Y. J.; LATUNDE –DADA, A. O.; LUCAS, J. A. Resistance to *Leptopharia maculans* (phoma stem canker) in *Brassica napus* (oilseed rape) induced by *L. biglobosa* and chemical defence activators in field and controlled environments. **Plant Pathology**, Seoul, v. 55, n. 3, p. 401-412, 2006.

LOGANES, C.; BALLALI, S.; MINTO, C. Main Properties of Canola Oil Components: A Descriptive Review of Current Knowledge. **The Open Agriculture Journal**, v. 10, p. 69-74, 2016.

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**, Botucatu, v. 25, p. 244-249, 1999.

LÜTH, P.; SCHULZ, R.R.; PFEFFER, H. The influence of bacterial antagonists on the infestation of a soil as well as on the yield of winter oilseed rape affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Zentralblatt für Mikrobiologie**, Amsterdã, v. 148, n.1, p. 32-38, 1993.

MACAGNAN, D. **Seleção de procariotas residentes de filoplano de cacauero (*Theobroma cacao* L.) para o biocontrole da vassoura de bruxa (*Crinipellis pernicios* (STAHEL) SINGER)**. 2001, 57f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

MAIA, L. A.; REIS M. S.; ALVARENGA E. M. **A Cultura da Canola**. Viçosa: UFV. 1999, 50 p.

MARQUES, O. J.; VIDIGAL, FILHO P. S.; DALPASQUALE, V. A., SCAPIM, C. A., PRICINOTTO, L. F.; MACHINSKI JÚNIOR, M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 667-675, 2009.

MAHESHWARI, D. K. (Ed.). **Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. 495 p.

MARSCHNER H. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. Academic Press, MATIELLO, J. B.; FREITAS J. L.; MENDONÇA, S. M.; LOUBACK, A.; FILHO S. S. Competição de híbridos de café resistentes à ferrugem do cafeeiro, no sul de Minas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA CAFEEIRAS, 28, 2002, rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro, 2002. p. 27-29.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889p

MCGRATH, M. T. What are fungicides? The plant health instructor. 2004 Disponível: <<http://www.apsnet.org/education/introplantpath/topics/fungicides/pdfs.2004>>. Acesso em: 18 jun. 2017.

MCKENZIE, D. The development of Acibenzolar-S-Methyl (ASM) for use in crop management. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 256, Supl., 2001.

MEHTA, N.; HIEU, N.; SANGWAN, M. Efficacy of various antagonistic isolates and species of against causing white stem rot of mustard. **Journal Mycology Plant Pathol**, India, v.42, n. 2, p. 244-250, 2012.

MELO, I. S.; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* sp. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 55-59, 2000.

MELO, I. S.; LEVANTEZI, K.; SPESSOTO, A. M.; FEICHTENBERGER, E. Degradação do fungicida metalaxial por linhagens de *Trichodermas* spp. isoladas de solos rizosféricos. In: MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. (Org.). **Biodegradação**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2001.

MENEZES, V. O.; PEDROSO, D. C.; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B.; MENEZES, N. L. DE; GARCIA, D. C.; ETHUR, L. Z.; SANTOS, R. F. DOS; TUNES, L. M. Detecção e influência de *Fusarium* spp. na qualidade fisiológica de sementes de pepino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 193-199, 2011.

MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 107, n. 1, p. 13-18, 2001.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MACHADO, A. Q.; PIMENTA, C. B. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2013/2014 – resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa, 2015. (Circular Técnica 109).

MEYER, M. C. Manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* para a sustentabilidade de produção. **Informativo Abrates**, v. 21, n. 3, p. 15, 2011.

MIORINI, T. J. J. **Métodos de aplicação e de avaliação do residual de fungicidas no controle de mofo-branco em soja e feijão**. 2015, 151 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

MORAES, M. H. D., MENTEN, J. O. M. Transmission of *Alternaria* spp. by common bean seeds and its effects on physiological quality. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 381-383, 2006.

MORAES, W. B. C. Controle alternativo de fitopatogenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 175-190, 1992.

MORAES, S. A.; SALGADO, C. L. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Ev. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, n. 8, p. 39-55. 1982.

MÜLLER, I. **Indução de resistência e tratamento de sementes de soja com fosfitos de potássio**. 2015, 118 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

MUELLER, D.; PEDERSEN, W.; HARTMAN, G. Effect of crop rotation and tillage system on Sclerotinia stem rot on soybean. **Canadian Journal of Plant Pathology**, London, v. 24, n. 4, p. 450-456, 2002.

MUIS, A.; QUIMIO, A. J. Effectiveness of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn against *Rhizoctonia solani* Kuhn *in vitro*. **Journal Agroland**, v. 13, n. 3, p. 234-239, 2006.

NELSON, B. **Biology of Sclerotinia**. In: Proceedings of the Sclerotinia workshop. North Dakota State University, Fargo, North Dakota 9–12. 1998.

NESI, C. N.; KUHN, T. M. A.; ARAÚJO, E. S.; MÓGOR, A. F.; MAY DE MIO, L. L. Avaliação de extrato de algas no progresso temporal da mancha de *Mycosphaerella* em cultivares de morangueiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 1, p. 38-42, 2013

NEVES, J. 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, 2014.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos n indução de resistência. In: CAVALCANTE, L. S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.139-153.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 1991.

PACHECO, K. R. **Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da murcha-de-esclerócio em feijoeiro**. 2012, 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

PASCHOLATI, S. F.; BLUMER, S.; REZENDE, D. C.; BRAND, S. C. Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) x Resistência Sistêmica Induzida (ISR). In: X SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2010, Lavras. **Anais**. Lavras: 2010. p. 20-40.

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do Parasitismo: Como as Plantas se Defendem dos Patógenos. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011, v.1, cap. 35, p. 593-636.

PASSOS, A. M. A.; REZENDE, P. M.; CARVALHO, E. R. Doses e épocas de aplicação de fosfito comercial na cultura da soja, **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 2014.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R BERNARDES, A.; COSTA, E.L.; CARNEIRO, J.E.S.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 44–48, 2009.

PERVEEN, K.; HASEEB, A.; SHUKLA, P. K. Effect of *Sclerotinia sclerotiorum* on the disease development, growth, oil yield and biochemical changes in plants of *Mentha arvensis*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Amsterdã, v. 17, p. 291-294, 2010.

PONTIM, B. C. A. **Controle de patógenos associados as sementes de canola, cârtamo, colza e crambe**. 2011. 54 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – Mato Grosso do Sul. 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (2011). Disponível em: <http://www.R-project.org/>

RAMOS, D. P.; BARBOSA, R. M.; VIEIRA, B. G. T. L.; PANIZZI, R. DE C.; VIEIRA, R. D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, 2014.

REIS, A.; SATELIS, J. F.; PEREIRA, R. S.; NASCIMENTO, W. M. 2006. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 107-111, 2006.

REMUSKA, A. C.; DALLA PRIA, M. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicação UEPG Ciências Exatas Terra**, Ponta Grossa, v. 13, n. 3, p. 31-36, dez. 2007.

REUVENI, M. Post-infection applications of K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>, phosphorous acid and imethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapevines. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Baton Rouge, v. 5, n. 22, p. 27-38, 1997.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANINI, G. R.; CASTRO, R. M. Perspectivas da indução de resistência em cacaueiros contra *Crinipellis perniciosus* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 149-156, 2000.

RIBEIRO JUNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V de, PEREIRA JUNIOR, P. M.; PEREIRA, R. B.; CAVALCANTI, F. R.; PÁDUA, M. A. de; Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb. em mudas de cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciências agrotécnicas**, Lavras, v. 30, p. 629-636. 2006.

RODRIGUES, M. A. T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. 291 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

RODRIGUES, F. A.; DUARTE, H. S. S.; REZENDE, D. C.; WORDELL FILHO, J. A.; KORNDORFER, G. H.; ZAMBOLIM, L. Foliar spray of potassium silicate on the control of angular leaf spot on beans. **Journal of Plant Nutrition**, v. 33, n. 14, p.2082-2093, 21 out, 2010.

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***. 2013.116 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

ROMEIRO, R. S.; KIMURA, O. Induced resistance in pepper leaves infiltrated with purified bacterial elicitors from *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*. **Journal of Phytopathology**, v.145, n.4, p.495-498, 1997.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. Springer Science Business Media BV, the Netherlands. 2008

SCHURT, D. A.; RODRIGUES, F. A.; SOUZA, N. F. A.; REIS, R. D. Eficiência de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani* *in vitro*. **Revista Ceres**, Viçosa v. 60, n. 2, p. 221-225, 2013.

SHARMA, P.; MEENA, P. D.; VERMA, P. R.; SAHARAN, G. S.; MEHTA, N.; SINGH, D.; KUMAR, A. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary causing *Sclerotinia* rot in oilseed brassicas: A review. **Journal of Oilseed Brassica**, v. 6, p. 1-44, 2015.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SHUKLA A. Estimation of yield losses to Indian mustard (*Brassica juncea*) due to *Sclerotinia* stem rot. **Journal of Phytopathological Research**, Czech Republic, v. 18, n. 2, p. 267–268. 2005.

SHURTLEFF, M. C. Compendium of Corn Diseases. St Paul, MN, U.S.A.: **American Phytopathological Society**. 105 p. 1980.

SILVA, G. C.; SANTOS, C. C.; GOMES, D. P. Incidência de fungos e germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp) tratadas com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.16, n.4, p.850-855, 2014.

SILVA, M. B.; NICOLI, A.; COSTA, A. S. V.; BRASILEIRO, B. G.; JAMAL, C. M.; SILVA, C. A.; PAULA JÚNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 57-60, 2008.

SINGH, R.; SINGH, D.; LI, H.; SIVASITHAMPARAM, K.; YADAV, N. R.; SALISBURY, P.; BARBETTI, M. J. Management of Sclerotinia rot of oilseed Brassicas – a focus on India. **Brassica Journal of Oilseeds Research**, v. 10, p. 1-27, 2008.

SOLGI, T., MORADYAR, M., ZAMANI, M. R., MOTALLEBI, M. Transformation of canola by *chit33* gene towards improving resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Protect Science**, Czech Republic, v. 51, p. 6–12. 2015

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Atividades de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase,  $\beta$ -1,3 glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 26, n. 1, p. 34-42, 2000.

STEADMAN, J. R. White mold-A serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n.4, p. 346–350. 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAYLOR, A.; COVENTRY, E.; JONES, J. E.; CLARKSON, J. P. Resistance to a highly aggressive isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* in a *Brassica napus* diversity set. **Plant Pathology**, Seoul, v. 64, p. 932–940, 2015.

TOMAZELI, V. N. **Indução de resistência a doenças em morangueiro com o uso de acibenzolar-S-metil e harpina em pré e pós-colheita**. 2010. 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato branco, 2010.

TOMM, G. O.; WIETHOLTER, S.; DALMAGO, G. A.; SANTOS, H. P. **Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009.

TORNINCASA, E. P.; GASPERINI, D.; PACCHIONI, B.; RATHINAVELU, E. H. R. R. J.; KEMMITT, G. Periodic table of the fungicides. Indianapolis: **Dow Agrosciences**. 2002

TOMLIN, C.D.S. **The pesticide manual: a world compendium**. 12. ed. Surrey, Uk: British Crop Protection Council, 2002.

TOYOTA. M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008, 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

TRIGO, L. F. N.; PESKE, S. T.; GASTAL, M. F.; VAHL, L. C.; TRIGO, M. F. Efeito do conteúdo de fósforo na semente de soja sobre o rendimento da planta resultante. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 1, p.111-115, 1997.

TRUYLIO, C. E. C. **Efeito de produtos alternativos para o controle da antracnose em feijão** 2015, 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

TWIZEYIMANA, M.; OJIAMBO, P. S.; IKOTUN, T.; PAUL, C.; HARTMAN, G. L.; BANDYOPADHYAY, R. Comparison of field, greenhouse, and detached-leaf evaluations of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, n. 9, p. 1161-1169, 2007.

UPPAL, A. K.; EL HADRAMI, A.; ADAM, L. R; TENUTA, M.; DAAYF, F. Biological control of potato *Verticillium* wilt under controlled and field conditions using selected bacterial antagonists and plant extracts. **Biological Control**, San Diego, v. 44, p. 90-100, 2008.

USDA. **Department of Agriculture. USDA. gov - United States Department of Agriculture**. Disponível em: . Acesso em: 21 maio 2017.

VAKILI, N. G. *Gonatobotrys simplex* and its teleomorph, *Melanospora damnosa*. **Mycological Research**, v. 93, n. 1, p. 67-74, 1989.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, v. 44, n. 6 44: 1920-1934, 2003.

VAN DE WOUW, A. P.; IDNURM, A.; DAVIDSON, J. A.; SPRAGUE, S. J.; KHANGURA, R. K.; WARE, A. H.; LINDBECK, K. D.; MARCROFT, S. J. Fungal diseases of canola in Australia: identification of trends, threats and potential therapies. **Australasian Plant Pathology**, Australia, v. 45, p. 415-423, 2016

VENEGAS, F. SAAD, J. C. C. Fungigação no controle do mofo branco e produtividade do feijoeiro em condições de cerrado brasileiro. **Irriga**, Botucatu, v. 15, n. 2, p. 159- 172, 2010.

VENTUROSE, L. R. **Implicações da inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em culturas bioenergéticas**. 2012. 68 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2012.

VRISMAN, C. M.; JACCOUD FILHO, D. S.; MANOSSO NETO, M. O.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. Avaliação da eficácia de fungicidas e *Trichoderma* no controle do “Mofo Branco” (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. 63, 2010.

VIECELLI, C. A. **Controle da mancha angular e análise bioquímica de resistência em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus***, 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2008.

WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1263-1280, 2013.

WAKELIN, S. A.; WARREN, R. A.; KONG, L. E.; HARVEY, P.R. Management factors affecting size and structure of soil *Fusarium* communities under irrigated maize in Australia. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 39, n. 2, p. 201–209, 2008

WALTERS, D. R.; FOUNTAINE, J. M. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **Journal of Agricultural Science**, Canadá, v. 147, p. 523–535, 2009.

WANG, Z.; XIAOLI, T.; ZHIYAN, Z.; SHOULAI, G., GUANYING, L.; HAIFENG, S. Defense to *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape is associated with the sequential activations of salicylic acid signaling and jasmonic acid signalling. **Plant Science**, v. 184, p. 75– 82, 2012.

WHALEY, J. W.; BARNETT, H. L. Parasitism and nutrition of *Gonatobotrys simplex*. **Mycologia**, v. 55, p. 199-210, 1963.

WILKINSON, C. J.; HOLMES, J. M.; DELL B.; TYNAN, K. M.; MCCOMB, J. A.; SHEARER, B. L.; COLQUHOUN, I. J.; HARDY, G. E. S. Effect of phosphite on in planta zoospore production of *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, London, v. 5, p. 587-593, 2001.

WU, Y.; YUAN, J.; RAZA, W.; SHEN, Q.; HUANG, Q. Biocontrol traits and antagonistic potential of *Bacillus amyloliquefaciens* strain NJZJSB3 against *Sclerotinia sclerotiorum*, a causal agent of canola stem rot. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 24, n. 10, p. 1327-1336, 2014.

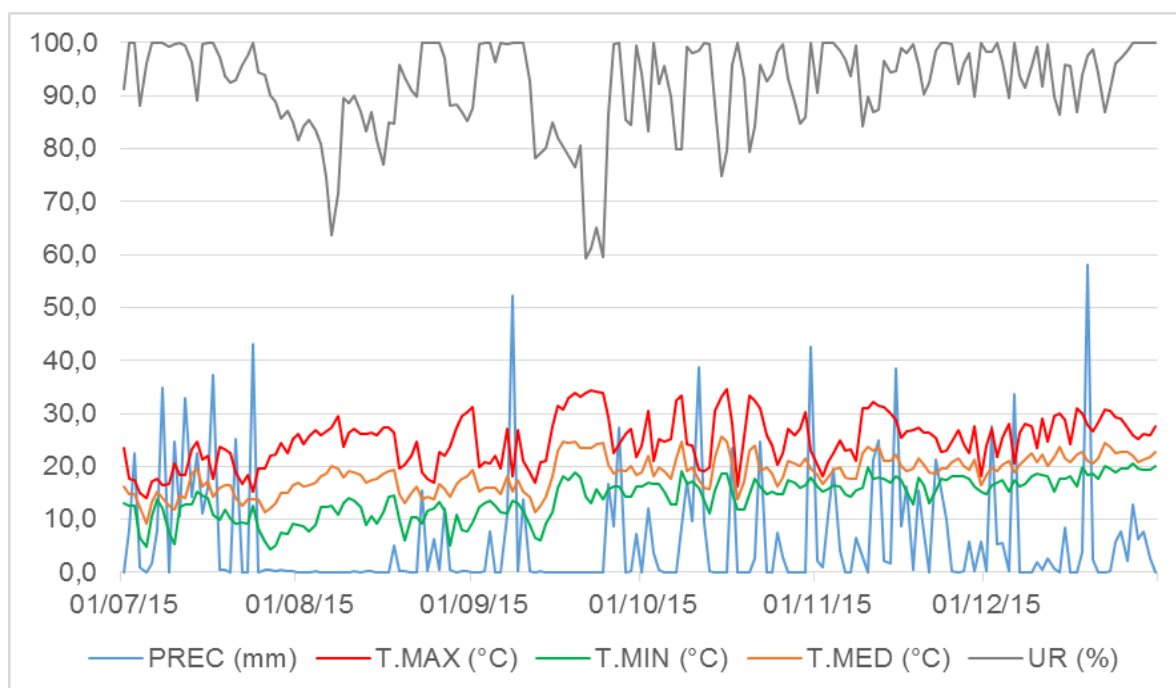
YAMAGUCHI, I. Activators for systemic acquired resistance. In: HUTSON D, MYAMAMAMOTO J. (Eds.). **Fungicidal Activity**. New York NY, USA. Wiley. 1998, p. 193-121.

YANG, D.; WANG, B.; WANG, J.; CHEN, Y.; ZHOU, M. Activity and efficacy of *Bacillus subtilis* strain NJ-18 against rice sheath blight and *Sclerotinia* stem rot of rape. **Biological Control**, San Diego, v. 51, n. 1, p. 61-65, 2009.

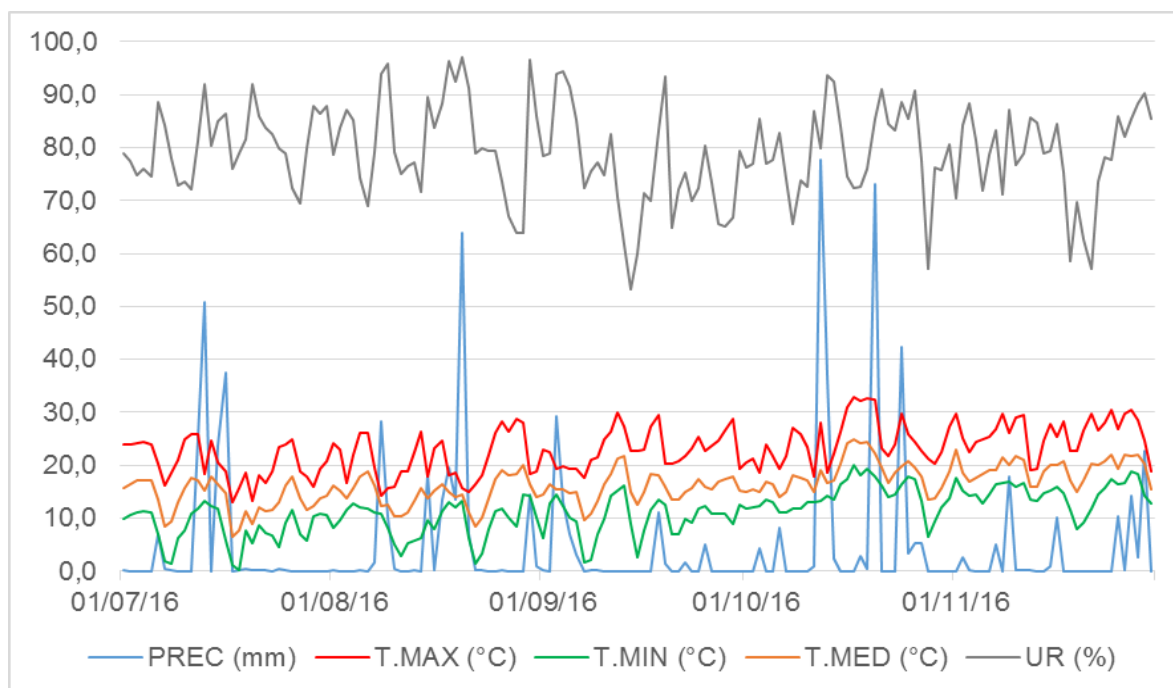
ZHANG, S.; REDDY, M. S.; KOKALIS-BURELLE, N.; WELLS, L. W.; NIGHTENGAL, S. P.; KLOEPPER, J. W. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth-promoting rhizobacteria and chemical elicitors. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 8, p. 879–884, 2001.

ZHAO, J.; PELTIER, A.J.; MENG, J.; OSBORN, T.C.; GRAU, C.R. Evaluation of *Sclerotinia* stem rot resistance in oilseed *Brassica napus* using a petiole inoculation technique under greenhouse conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p. 1033–1039. 2004.

## 8 ANEXO



Anexo 1 - Precipitação (mm), temperatura máxima, mínima e média (°C) e umidade (%), durante a condução do experimento da cultura da canola (*Brassica napus*) no campo experimental da UEPG, período de junho/2015 a dezembro/2015. Ponta Grossa/PR, safra 2015 (FUNDAÇÃO ABC, 2017).



Anexo 2 - Precipitação (mm), temperatura máxima, mínima e média (°C) e umidade (%), durante a condução do experimento da cultura da canola (*Brassica napus*), período de julho/2016 a novembro/2016. Ponta Grossa/PR, safra 2016 (FUNDAÇÃO ABC, 2017).

## CAPÍTULO 2

### USO DE TRATAMENTOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CONTROLE DE *Pseudocercospora griseola* NA CULTURA DO FEIJÃO

#### RESUMO

O feijão (*Phaseolus vulgaris*) é uma das culturas mais importantes na alimentação humana, porém a ocorrência de doença pode reduzir grandemente sua produtividade. Assim há uma maior preocupação em buscar meios menos impactantes ao ambiente e ao homem para controlar esses patógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a indução de resistência com produtos abióticos e bióticos no controle de mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) na cultura do feijão. Os tratamentos Hight Roots®; V6®; Wert Plus®, fosfito de potássio; fosfito de manganês; fosfito de cobre, manganês, fungicida (hidróxido de fentina), *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus thuringiensis*, foram utilizados nos experimentos de inibição do crescimento micelial em meio de cultura batata-dextrose-água (BDA), folha destacada, inoculação em casa de vegetação e em condições de campo, em duas épocas de semeadura. Para os três últimos experimentos adicionou-se os tratamentos acibenzolar-S-metilíco (ASM) e *Trichoderma asperillum*. O resultado *in vitro* mostrou que *B. subtilis* inibiu o crescimento micelial de *P. griseola*. Na avaliação em folha destacada, o tratamento ASM apresentou fitotoxidez nas folhas e somente o *B. thuringiensis* apresentou diferença estatística entre os lados aplicados, sendo o lado direito com menor severidade. O manganês apresentou maior severidade de mancha angular que os demais tratamentos. Em casa de vegetação foram observados na folha cotiledonar e no 1º trifólio maior severidade da doença; os tratamentos fosfito de cobre, fosfito de potássio e Wert Plus® causaram fitotoxidez nas folhas. Na folha cotiledonar menor severidade foi observada nas plantas tratadas com fungicida, *A. nodosum*, *T. asperillum* e fosfito de cobre. Todos os tratamentos reduziram a doença nos novos trifólios (não tratados), caracterizando resistência induzida. No campo, na primeira época de avaliação, os tratamentos com melhor controle da doença foram o fungicida, *A. nodosum*, *B. thuringiensis* e o fertilizante V6®. Também houve diferença entre os tratamentos para o número de vagem por planta e número de grãos por vagem. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para produtividade. Na segunda época não houve diferença estatística entre os tratamentos para produtividade, mas a maior média foi obtida com aplicação de fungicida. O número de plantas por metro não diferiu estatisticamente entre os tratamentos; o número de vagens por planta foi maior na testemunha, fungicida, *B. thuringiensis*, ASM, fosfito de cobre, fosfito de potássio e Hight Roots®; o número de grãos por vagem foi maior nos tratamentos fungicida, *B. thuringiensis*, ASM, fosfito de cobre, manganês, potássio e o nutriente Hight Roots®. Sementes colhidas na primeira época de semeadura apresentaram incidência de *Fusarium* sp, *Colletotrichum truncatum* e *Phomopsis* sp. Na segunda época de semeadura, a presença de *Alternaria alternata* e a ausência de *C. truncatum* diferiram da primeira.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris*, mancha angular, indução de resistência, controle biológico, fosfito.

## ABSTRACT

Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the most important crops in human food, but the occurrence of disease can greatly reduce its productivity. Thus, there is a greater concern to seek means less impacting the environment and man to control these pathogens. The objective of this research was to evaluate the induction of resistance with abiotic and biotic products to control angular spot disease (*Pseudocercospora griseola*) in the common bean crop. The treatments Hight Roots®; V6®; Wert Plus®, potassium phosphite; phosphite of manganese; copper phosphite, manganese, fungicide (fentin hydroxide), *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus thuringiensis*, were used in the experiments of inhibition of mycelial growth in potato-dextrose-agar (PDA) culture medium, fungus growth in leaf discs, inoculation in a greenhouse and under field conditions, in two sowing seasons. For the last three experiments the acibenzolar-S-methyl and *Trichoderma asperellum* treatments were added. The *in vitro* result showed that *B. subtilis* inhibited the mycelial growth of *P. griseola*. In the evaluation on leaf, the ASM treatment presented phytotoxicity in the leaves and only *B. thuringiensis* showed statistical difference between the applied sides, being the right side with less severity. Manganese presented greater angular spot severity than the other treatments. In greenhouse were observed in the leaf cotyledonar and in the 1st trefoil greater severity of the disease; the treatments copper phosphite, potassium phosphite and Wert Plus® caused leaf phytotoxicity. In the cotyledon leaf smaller severity was observed in the plants treated with fungicide, *A. nodosum*, *T. asperellum* and copper phosphite. All treatments reduced the disease in the new (untreated) trefoils, characterizing induced resistance. In the field, at the first evaluation period, the treatments with better control of the disease were the fungicide, *A. nodosum*, *B. thuringiensis* and fertilizer V6®. There was also a difference between treatments for the number of pods per plant and number of grains per pod. There was no statistical significant difference between treatments for productivity values. In the second season there was no statistical difference between treatments for yield values, but the highest average was obtained with fungicide application. The number of plants per meter did not differ statistically between treatments; the number of pods per plant was higher in treatment control, fungicide, *B. thuringiensis*, acibenzolar-S-methyl, copper phosphite, potassium phosphite and Hight Roots®; the number of grains per pod was higher in the treatments fungicide, *B. thuringiensis*, ASM, copper phosphite, manganese, potassium and the nutrient Hight Roots®. Seeds harvested in the first sowing season showed incidence of *Fusarium* sp., *Colletotrichum truncatum* and *Phomopsis* sp. In the second sowing season, the presence of *Alternaria alternata* and the absence of *C. truncatum* differed from the first one.

Key-words: *Phaseolus vulgaris*, angular leaf spot, induced resistance, biologic control, phosphite.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), onde a maior parte da produção é destinada para o consumo interno. O plantio da safra 2016/17 apontou crescimento na área plantada, estimada em 1.110 mil hectares, de 13,4% em relação à safra passada, que foi de 978,6 mil hectares. A produtividade média foi de 1.249 kg ha<sup>-1</sup>, na média nacional, 18,2% acima da obtida na última temporada. Com esses resultados de área e produtividade, a produção nacional é de 1.386,6 mil toneladas, representando acréscimo de 34,1% em relação à safra de 2015/16, que foi de 1.034,3 mil toneladas (CONAB, 2017).

Um dos fatores limitantes para produção de feijão é a incidência de doenças que acometem as lavouras, a exemplo da mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous e Braun (SARTORATO, 2006). Por muito tempo, a mancha angular foi considerada uma doença secundária, sem causar danos à cultura do feijão (VITAL, 2006), no entanto, a partir de 1990, a doença tem ocorrido com maior severidade.

A doença é particularmente importante em regiões onde temperaturas moderadas são acompanhadas por períodos de alta umidade e presença de inóculo durante o ciclo da cultura (ITO et al., 2004), principalmente em ausência de rotação de culturas, isto é, na semeadura sequencial de feijão na mesma área, principalmente no sistema de semeadura direta na palha (SARTORATO, 2006).

A busca por alternativas mais sustentáveis no controle de doenças vem tomando espaço na agricultura. Dentre os produtos alternativos que vem sendo pesquisado destacam-se os produtos biológicos, fosfitos e nutrientes, os quais podem apresentar duplo efeito no controle de doenças de plantas, efeito antifúngico e na ativação de respostas de defesa das plantas aos patógenos (STANGARLIN, 1999).

O uso de bactérias no controle de doenças e indução de resistência de plantas já foi relatado por outros autores (GAO et al.; 2013; BERGER, 2015), assim como o uso de fosfito (GADAGA, 2009; RIBEIRO JUNIOR, 2008) e nutrientes (POLANCO, 2011; JESUS JÚNIOR et al., 2004).

O conhecimento sobre a indução de resistência em plantas contra fitopatógenos vem de séculos e sabe-se que envolve a ativação de mecanismos

inativos ou latentes nas plantas (SILVA et al., 2008). A resistência a um determinado patógeno é a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada de um microrganismo em seu interior e criar condições adversas para a colonização de seus tecidos (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Alguns autores salientam que, a atividade do agente indutor não é devida à ação antimicrobiana ou a sua transformação em agentes antimicrobianos, mas sim devido à capacidade do mesmo em induzir a planta a ativar os seus mecanismos de defesa estruturais e bioquímicos, em resposta à presença de um patógeno em potencial (SILVA et al., 2008).

Poucas são as pesquisas com esses produtos no controle de *P. griseola* em plantas de feijão. Assim faz necessário estudos para melhor compreensão do modo de ação destes produtos.

## 2 OBJETIVO

Avaliar diferentes tratamentos bióticos e abióticos no controle de *Pseudocercospora griseola* e possível indução de resistência em plantas de feijão.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Avaliar índice de velocidade de crescimento micelial do fungo *Pseudocercospora griseola*;
- ii. Avaliar indução de resistência pelo método de folha destacada;
- iii. Avaliar severidade da mancha angular em casa de vegetação;
- iv. Avaliar severidade da mancha angular, componentes de produção e produtividade em campo;
- v. Avaliar qualidade sanitária de sementes.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CULTURA DO FEIJÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de ampla distribuição geográfica podendo ser encontrado desde o norte do México até o Nordeste da Argentina (FREITAS, 2006), no Brasil a cultura foi introduzida a partir do Norte da América do Sul ou da América Central.

Taxonômicamente, a planta de feijão pertence ao gênero *Phaseolus*, que inclui aproximadamente 100 espécies, das quais apenas quatro são cultivadas: *Phaseolus vulgaris* (feijão comum); *Phaseolus coccineus* L. (feijão ayocote); *Phaseolus acutifolius* (feijão tepari) e *Phaseolus lunatus* L (feijão de lima). O feijão comum é a principal espécie do gênero, é uma planta anual herbácea e termófila, ou seja, não suporta geada. Seu cultivo visa principalmente a produção de grãos (SANTOS; GAVILANES, 2006).

A planta de feijão pertence à família Fabaceae (APGII) e subfamília Faboideae (SOUZA; LORENZI, 2008). É uma planta herbácea e pode apresentar hábito de crescimento determinado ou indeterminado, com ciclo anual variando de 60 a 120 dias (SANTOS; GAVILANES, 2006).

Segundo dados da SEAB (Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, 2015) o feijão é um alimento de grande importância econômica e social. O mercado mundial de feijão movimenta por ano, aproximadamente 23,9 milhões de toneladas de grãos. Os sete principais países produtores que juntos respondem por cerca de 64% da produção média mundial são: Índia e Mianmar (16%), Brasil (13%), EUA, México e Tanzânia (5%) e China (4%).

Tradicionalmente no Brasil, o cultivo do feijão é feito em três safras, a primeira popularmente conhecida como feijão "das águas", onde se produz a safra de verão, geralmente semeada nos meses entre agosto e dezembro e colhida entre novembro e março. Essa época se caracteriza por temperaturas mais altas e elevada ocorrência de chuva, fatores ambientais que favorecem a ocorrência de doenças especialmente as fúngicas e bacterianas. As outras duas safras, "safra da seca" semeada entre janeiro e abril e safra de outono – inverno, semeada a partir de maio e colhida entre agosto e outubro, o clima favoreceu a ocorrência de doenças como

mancha angular [*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun (sin. *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris)] e mosaico dourado são as doenças de maior incidência e maiores danos (WENDLAND et al., 2016).

As culturas de maior expressão no país são a soja (*Glycine max* (L.) Merr) e o milho (*Zea mays* L.), porém o feijão vem se destacando cada vez mais, por fazer parte da alimentação diária do brasileiro. Embora no Brasil essa espécie seja exótica, com prováveis centros de origem da América Central e Região Andina da América do Sul (ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1988), esta se encontra amplamente adaptada as condições de clima e solos brasileiros (VIECELLI, 2008) podendo ser encontrada nos Estados da Bahia, Piauí, Paraná e Minas Gerais.

O levantamento realizado pela CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento, 2017) safra 2016/17, aponta para um crescimento na área plantada em 1.115,2 mil hectares, aumento de 14% em relação à safra passada, que foi de 978,6 mil hectares. A produtividade média obtida para esta cultura está estimada em 1.268 kg ha<sup>-1</sup>, 19,9% acima da obtida na safra 2015/16. Na Região Sul é esperado incremento na área plantada de 299,7 mil hectares, 10,6% em relação à safra anterior, que foi de 270,9 mil hectares, com um aumento na produtividade de 6,9%, e também aumento na produção de 537,9 mil toneladas, 18,2% em relação à safra anterior, que foi de 455 mil toneladas. O Paraná é um dos Estados que se destaca no cultivo dessa leguminosa, sendo a área plantada na primeira safra 2016/17 de 198 mil hectares, com rendimento de 1.774 kg ha<sup>-1</sup>, ou seja, 12,6% maior do que a safra 2015/16, produção de 351,2 mil toneladas, 22,9% maior que a safra anterior, que ficou em 285,7 mil toneladas. Ainda assim, a produtividade ficou abaixo do potencial produtivo em algumas regiões, um dos motivos foi a estiagem e as altas temperaturas no final do ano de 2016, mais precisamente no mês de novembro, bem como o excesso de chuvas na época da colheita. Assim como o feijão primeira safra, a segunda safra também tem a maior parte de sua produção na Região Centro-Sul. Considerando a safra 2015/16, este volume da região é quase 80% da produção total, destacando os Estados do Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais e Ceará, mesmo ocupando apenas 45,5% das áreas cultivadas com a cultura. A área de feijão segunda safra está estimada para este ano em 1.333,2 milhão de hectares, o que configura um incremento de 1,5% em relação à safra passada (CONAB, 2017).

Apesar de ser uma cultura de grande importância no nosso país, seu cultivo enfrenta dificuldades, principalmente em relação a oscilação de preço no mercado.

De uma maneira geral é cultivada por pequenos produtores e exige grandes investimentos quando comparada a outras culturas, além de apresentar grande sensibilidade a fatores ambientais, tornando-se uma cultura de risco. Aspectos fitossanitários estão entre os principais fatores que corroboram para a oscilação da produção de feijão.

A cultura pode ser afetada por mais de 300 doenças causadas por vírus, bactérias, nematóides e fungos (VIECELI et al., 2010), que dependendo das condições ambientais podem causar dano total da produção, depreciar a qualidade do produto ou até inviabilizar determinadas áreas para o cultivo (ABREU, 2015). As características climáticas do Estado do Paraná favorecem a ocorrência de doenças que causam prejuízos aos agricultores, como exemplo a mancha angular, *P. griseola*, patógeno da parte aérea da planta que representa uma das principais doenças da cultura do feijão (VIECELLI, 2008; DALLA PRIA; SILVA, 2010).

### 3.2 MANCHA ANGULAR

Entre as várias doenças fúngicas da cultura do feijão, pode-se destacar a mancha angular, causada pelo fungo *Pseudocercospora griseola*. Essa doença é de comum ocorrência nos principais países produtores das Américas, Ásia e Oceania. No Brasil a ocorrência aumentou nas últimas duas décadas, principalmente nos Estados do Paraná, Minas Gerais, Goiás e São Paulo (WENDLAND, et al., 2016). Por muito tempo foi considerada uma doença secundária devido ao seu aparecimento tardio na lavoura, e por causar poucos danos na produção, porém, a partir de 1990 tornou-se uma das principais doenças que acarretam redução da produtividade, isso pode ter ocorrido devido ao uso de materiais suscetíveis aliados ao ambiente favorável ao patógeno (DALLA PRIA; SILVA, 2010).

No Brasil, a maior parte da cultura do feijão é cultivada sob condições climáticas de ventos secos e moderados, temperaturas amenas, intensa formação de orvalho e grande amplitude diária de temperatura, com a ocorrência de noites frias, característica que podem ser observadas no Estado do Paraná. Estas condições associadas à presença do patógeno e plantio de cultivares suscetíveis, formam um ambiente ideal, favorecendo o desenvolvimento da doença (HEMP; MASSIGNMA, 2004; VITAL, 2006).

Dependendo da severidade da doença e da época de infecção, a mancha angular pode causar redução da área foliar sadia e queda precoce das folhas, antes do completo desenvolvimento dos grãos, o que acarreta em menor peso de grãos e, conseqüentemente, queda na produtividade (VITAL, 2006). Os danos causados por esse patógeno variam dependendo da suscetibilidade da cultivar, das condições ambientais e da patogenicidade dos isolados (SARTORATO, 2006; VITAL, 2006).

### 3.2.1 Etiologia

O agente etiológico da mancha angular, era considerado o fungo *Phaeoisariopsis griseola* Sacc. Ferraris [Sin. *Isariopsis griseola* (Sacc.)] até o ano de 2007, posteriormente passou a ser denominado *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous e Braun (SINGH; SAINI, 1980, citado por DALLA PRIA; SILVA, 2010).

*Pseudocercospora griseola* pertence ao grupo dos fungos mitospóricos, forma estrutura reprodutiva composta por feixes de conidióforos de coloração escura, denominados sinêmios, na face abaxial das folhas, formando tufo visíveis a olho nu. Os conidióforos produzem conídios cilíndricos, em alguns casos curvos, septados, com dimensões variando de 30-70 µm de comprimento, com 5-8 µm de largura central e aproximadamente 1,5 µm de largura basal (WENDLAND et al., 2016).

### 3.2.2 Sintomatologia

Os sintomas típicos da mancha angular podem ser observados nas folhas, hastes e vagens das plantas. Nas folhas primárias, as lesões são normalmente circulares de coloração castanha ou marrom acinzentada, já nos trifólios, as lesões aparecem como manchas delimitadas por ângulos (o que deu o nome a doença) de coloração marrom acinzentada de aproximadamente 0,3 a 0,63 cm de diâmetro, circundada por um halo amarelado delimitado pelas nervuras. O fungo produz sinêmios e conidióforos escuros sobre as lesões após períodos de 24 a 48 horas de contínua umidade (SARTORATO et al., 1996), quando um grande número de lesões ocorre, pode ocorrer o coalescimento das mesmas, causando necrose e desfolha prematura (BIANCHINI et al., 2005).

Nos ramos e hastes, as lesões são alongadas e escuras, já nas vagens, inicialmente formam-se lesões superficiais com os bordos enegrecidos e coloração vermelha no centro. A infecção nas vagens é menos frequente que nas folhas (DALLA PRIA; SILVA, 2010), as lesões podem ser diferenciadas das lesões de antracnose por não serem deprimidas e não apresentarem o centro mais claro. Sementes podem ser infectadas principalmente através do hilo reduzindo a germinação e o desenvolvimento das plântulas.

### 3.2.3 Epidemiologia

A mancha angular tem como principal fonte de inóculo restos de plantas, onde o patógeno pode sobreviver por um período de até 19 meses (WENDLAND et al.; 2016) e a utilização de sementes infectadas com patógeno. Ocorre sobre a parte aérea das plantas e durante seu desenvolvimento geralmente há amarelecimento, necrose e queda prematura das folhas. A principal forma de disseminação dos esporos produzidos pelo fungo é pelo vento e por respingos de chuva. Temperaturas entre 16 e 28°C favorecem a infecção, e condição ótima de 24°C que pode ser até 3 horas após o contato do patógeno com o hospedeiro, via estômato. Além desses fatores, longos períodos de alta umidade relativa alternados com períodos com baixa umidade e ação dos ventos favorecem o surgimento de epidemias (DALLA PRIA; SILVA, 2010; BIANCHINI et al., 2005; WENDLAND et al., 2016). Temperaturas acima de 32°C impedem a infecção, o período de incubação da doença varia de 9 a 12 dias e a esporulação é favorecida por períodos longos de umidade, 24 a 48 horas, alternados por período de baixa umidade (WENDLAND et al., 2016).

Os danos no rendimento da cultura podem variar de 7 a 70% e são maiores quanto mais cedo for a ocorrência da doença na cultura e são dependentes da suscetibilidade das cultivares, das condições do ambiente e da agressividade do patógeno. A doença apresenta maior severidade na safra da seca, em áreas com ausência de rotação de culturas, principalmente no sistema de plantio direto na palha (SARTORATO et al., 1996). Embora a mancha angular possa ocorrer nas folhas primárias da planta de feijão, de modo geral, tem se caracterizado como uma doença de ocorrência no final do ciclo da cultura (HEMP; MASSIGNA, 2004). Entretanto, a doença pode ocorrer desde a emergência, sendo que a cultura tem se

mostrado mais vulnerável ao desenvolvimento da doença na fase reprodutiva (VITAL, 2006).

#### 3.2.4 Manejo da mancha angular

O controle da mancha angular pode ser realizado pela utilização de cultivares resistentes, integração de práticas culturais, como uso de sementes de boa qualidade, rotação de culturas com gramíneas, preparo do solo com a incorporação profunda de restos culturais e a manutenção da cultura no limpo (VITAL, 2006). No entanto, o método mais usado é o controle químico, como aplicação de fungicidas nas sementes e parte aérea, devido a rápida resposta no controle do patógeno.

O uso indiscriminado de agrotóxicos, pode trazer prejuízos ao meio ambiente, ao homem, além de poder causar pressão de seleção sob o patógeno, sendo a resistência genética das cultivares, dificultada pela alta variabilidade do fungo (REIS - PRADO et al., 2006), o que pode ser observado no patógeno *P. griseola* (VITAL, 2006). Já foram identificados mais de 50 patótipos isolados em diferentes regiões produtoras no Brasil, a maior diversidade foi encontrada nos Estados de Goiás e Minas Gerais (WENDLAND et al., 2016).

Diante destes fatores, tem-se buscado alternativas no controle das doenças com o uso de indutores de resistência, capazes de proteger a planta antes de um possível ataque do patógeno, ou até mesmo após sua infecção.

#### 3.2.5 Controle alternativo de doenças

Buscando um menor impacto ambiental e pressão de seleção de microrganismos, causado pelo uso indiscriminado de fungicidas, o controle biológico tem sido apontado como um método para minimizar o uso de agrotóxicos e promover a proteção das culturas (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000; SLININGER et al., 2003).

O controle biológico de patógenos possui uma série de vantagens em relação ao controle químico. Enquanto os fungicidas apresentam somente um efeito temporário e necessitam de aplicações repetidas durante o período de crescimento da cultura, os agentes de controle biológico são capazes de se estabelecer,

colonizar e de se reproduzir no ecossistema (ÁVILA et al., 2005), além de constituírem uma alternativa para diminuir o potencial de inóculo no solo sem trazer danos ao meio ambiente (MELLO et al., 2007).

Além disso, os antagonistas podem atuar com agentes indutores de resistência (VIEIRA et al., 2006). O fenômeno de indução pode ser desencadeado utilizando-se tanto elicitores abióticos quanto bióticos (HEIL et al., 2000). Esses agentes, não atuam da mesma forma que fungicidas, nematicidas e inseticidas, matando o organismo alvo, e sim ativando os mecanismos de defesa da planta.

Dentro dos indutores bióticos pode-se citar o uso de rizobactérias e fungos como o *Trichoderma* (ROMEIRO; KIMURA, 1997; SILVA et al., 2004; GAO et al., 2013; BERGER, 2015).

O fungo *Trichoderma* é sem dúvida, o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado e utilizado no Brasil e em outros países (BETTIOL et al., 2008). Segundo Howell (2003), as quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases produzidas por algumas espécies de *Trichoderma*, são as enzimas chave no processo de lise das paredes celulares durante a ação micoparasítica contra fungos patogênicos.

Esse gênero inclui espécies antagonistas a vários fitopatógenos, sendo que os principais mecanismos empregados por esses fungos são o micoparasitismo e a antibiose (WOO et al., 2006; HERMOSA et al., 2012).

Além de indutores bióticos, existem indutores abióticos, sendo que na década de 1990 houve a identificação do agente indutor éster- S –metil do ácido benzo – (1,2,3) – tiadiazole -7 – carbótico (acibenzolar-S-metílico - ASM) utilizado como indutor de resistência em diversas espécies vegetais (RESENDE et al., 2010). Essa descoberta contribuiu para um grande avanço nos estudos voltado para a indução de resistência em plantas, a partir disso vários ativadores químicos de mecanismo de resistência foram testados a exemplo de trabalhos de Aguilar et al. (1998), Resende (2000), Ram e Castro (2000), Baysal; Turgut; Mao (2005) e Liu et al. (2006). Há também relato do uso de fosfito no controle de doenças do cacaueteiro e soja (NOJOSA et al., 2009; GADAGA, 2009; MONTEIRO, 2011) nos patógenos causadores da vassoura de bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer) e ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Syd).

O uso de fosfitos (fertilizantes a base de fósforo -  $\text{H}_2\text{PO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_3^{2-}$ ) está se tornando uma alternativa cada vez mais comum na agricultura, não só por induzirem

a proteção às plantas contra determinados patógenos, mas também por proporcionarem benefícios nutricionais a planta (NOBRE, 2005). Já foram constatadas eficiências no uso de fosfito, na indução de resistência na cultura do mamoeiro contra *Asperisporium caricae* (DIANESE et al., 2008) entre outras culturas. Os fosfitos podem atuar diretamente, inibindo o crescimento micelial e esporulação do patógeno e indiretamente, ativando mecanismo de defesa da planta, através da produção de fitoalexinas (JACKSON et al., 2000)

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 EXPERIMENTOS *in vitro*

Os experimentos *in vitro* foram conduzidos no laboratório do curso de Agronomia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa e foram repetidos duas vezes, com os seguintes tratamentos: V6® (Mn - 2,5%; Zn - 1,9%; Mo - 0,16%), fosfito de potássio (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 26%; K<sub>2</sub>O 19%) fosfito de manganês (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 36%, Mn - 7,0%), fosfito de cobre (N 11%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%), manganês (Mn 10%; S 5,48%), fungicida (hidróxido de fentina, 40%) o extrato de alga *Ascophyllum nodosum* (Acadian® - K<sub>2</sub>O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0 %) e os produtos biológicos à base de *Bacillus subtilis* (Serenade® - 13,68 g L<sup>-1</sup> (1,34%) - 1 x 10<sup>9</sup> CFU g<sup>-1</sup>) e à base de *Bacillus thuringiensis* (Dipel® - 32 g Kg<sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bilhões de esporos viáveis g<sup>-1</sup>).

#### 4.1.1 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DO INÓCULO

O isolado de *Pseudocercospora griseola*, foi obtido do Instituto Biológico de São Paulo, cultivado em meio de cultura Batata - Dextrose - Ágar (BDA) em tubo de ensaio. Este foi repicado em placa de Petri com meio de cultura de suco de tomate - MSTO (200 mL de suco de tomate integral + 20 g de ágar + 4,5 g de carbonato de cálcio + 800 mL de água destilada) (DALLA PRIA et al., 1997) para posterior multiplicação e produção de conídios. As placas com as colônias permaneceram incubadas em câmara tipo BOD a 24 ± 2 °C, no escuro.

Foi utilizado o meio de cultura de tomate, como descrito por Dalla Pria et al. (1997) como o melhor meio para a esporulação do fungo. Os produtos foram incorporados no meio de cultura fundente, nas concentrações 1, 10, 100 e 1.000 ppm por diluição em série a partir de uma solução contendo 100 mL do meio de cultura na concentração de 1.000 ppm (Figura 1).

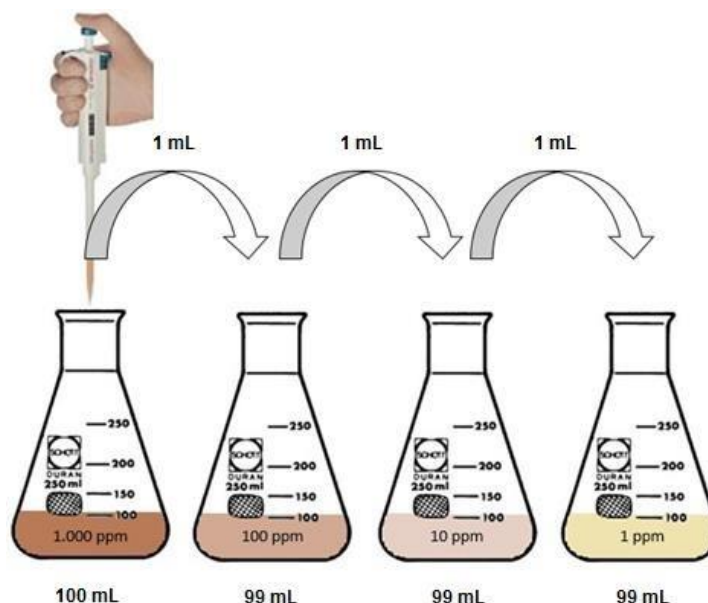


Figura 1 - Esquema representativo do método de diluição em série para a obtenção das concentrações dos produtos utilizados nos experimentos *in vitro* com *Pseudocercospora griseola* (JACQUES, 2015). Ponta Grossa - PR, 2017.

Após a incorporação dos produtos e solidificação do meio de cultura nas placas de Petri, foram transferidos para o centro das mesmas discos de micélio do fungo de 0,6 cm de diâmetro proveniente de uma placa com colônia do fungo com 26 dias de idade, completamente desenvolvida e esporulada (Figura 2). A testemunha correspondeu a placas contendo apenas meio de cultura MSTO, com um disco de micélio no centro, sem a incorporação dos produtos. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em câmara tipo BOD a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  no escuro.

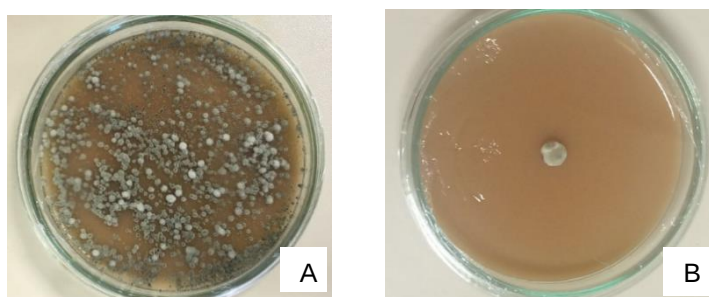


Figura 2 - Colônia de *Pseudocercospora griseola* completamente desenvolvida e esporulada, com idade de 45 dias, repicada a partir de suspensão de esporos (A); disco de micélio do mesmo fungo repicado em placa de Petri com meio de cultura de suco de tomate - MSTO com incorporação dos produtos (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

O crescimento micelial foi avaliado através de medição semanal do diâmetro da colônia do fungo, por 45 dias, em dois eixos diametralmente opostos, com auxílio de régua milimetrada calculando-se a média para cada repetição.

Foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) através da fórmula descrita por Oliveira (1991), onde D = diâmetro médio atual da colônia, Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior, N = número de dias de avaliação.

$$IVCM = \sum (D - D_a) / N$$

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, 10 produtos x cinco concentrações, com cinco repetições para cada tratamento. Cada placa de Petri contendo as colônias foi considerada uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias quando significativas comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando o sistema estatístico R, versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

#### 4.2 EXPERIMENTO EM FOLHA DESTACADA

Em todos os experimentos foram utilizadas folhas de feijão da cultivar IAPAR Uirapuru, destacadas de plantas no estágio fenológico V3 (segundo trifólio aberto), cultivadas em vasos na casa de vegetação da UEPG. Depois de destacadas com o auxílio de tesoura desinfestada, as folhas foram levadas ao laboratório, onde metade da sua superfície foi pulverizada até o ponto de molhamento foliar com os produtos listados na Tabela 1, acrescidos dos tratamentos *Trichoderma asperellum* – Isolado SF ( $1,0 \times 10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup>) e acibenzolar-S-metílico (Bion®), em relação ao experimentos conduzidos *in vitro*.

Após a aplicação dos produtos, as folhas foram acondicionadas em caixas do tipo gerbox (desinfestadas em hipoclorito de sódio a 5%) contendo 3 folhas de papel filtro (esterilizado) previamente umedecidas com 20 mL de água destilada e autoclavada. Foram acondicionadas duas lâminas de microscopia para evitar o contato direto da folha com o papel úmido e no pecíolo da folha foi colocado uma porção de algodão umedecido com água destilada e autoclavada para garantir que a folha permaneça viva, conforme metodologia descrita por Reis e Kimati (1974) citado

por Kamikoga (2002) (Figura 3). As caixas gerbox com as folhas foram acondicionadas em câmara tipo BOD com temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h, durante todo o experimento.

Tabela 1 - Tratamentos do experimento de indução de resistência pelo método da folha destacada, em feijão (*Phaseolus vulgaris*) e suas respectivas dosagens acrescentados em 200 mL de água. Ponta Grossa - PR, 2017.

| TRATAMENTO                    | CONCENTRAÇÃO                                                                     | DOSAGEM<br>200 mL água |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| High Roots®                   | N 18%, K <sub>2</sub> O 6%                                                       | 400 µL                 |
| Wert Plus®                    | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9%                                                            | 400 µL                 |
| Fosfito de potássio           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 26%; K <sub>2</sub> O 19%                          | 6000 µL                |
| Fosfito de manganês           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 36%, Mn 7,0%                                       | 560 µL                 |
| Fosfito de cobre              | N 11%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%                         | 5000 µL                |
| Manganês                      | (Mn 10%; S 5,48%)                                                                | 3000 µL                |
| Fungicida                     | hidróxido de fentina 40%                                                         | 3 g                    |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>    | Acadian® - K <sub>2</sub> O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0 %               | 900 µL                 |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | Serenade®-13,68 g L <sup>-1</sup> (1,34%) - $1 \times 10^9$ CFU g <sup>-1</sup>  | 8000 µL                |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | Dipel WP® - 32 g Kg <sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bi esporos viáveis g <sup>-1</sup> | 0,12 g                 |
| <i>Trichoderma asperellum</i> | Isolado SF 1,0 x 10 UFC g <sup>-1</sup>                                          | 0,24 g                 |
| Bion®                         | acibenzolar-S-Metílico (ASM)                                                     | 0,06 g                 |



Figura 3 - Aplicação dos tratamentos em metade do limbo foliar de folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) para experimento de indução de resistência pelo método da folha destacada, lado esquerdo da folha protegido durante o momento da aplicação do tratamento (A) e somente lado direito da folha com aplicação do tratamento (B), para controle de *Pseudocercospora griseola*. Ponta Grossa - PR, 2017.

Após 72 horas da aplicação dos produtos, foi realizada a inoculação artificial do patógeno (*P. griseola*) na folha inteira. A reaplicação dos produtos foi realizada 72 horas após a inoculação do patógeno na mesma metade da folha onde foi aplicado anteriormente para manter a folha elicitada.

A inoculação de *P. griseola* foi realizada por aspersão de suspensão de conídios ( $1 \times 10^4$  conídios mL<sup>-1</sup>, calibrado com o auxílio da câmara de Neubauer) coletados de colônia em meio MSTO completamente esporulada. Foi avaliada a

severidade da mancha angular com auxílio da escala diagramática proposta por Godoy et al. (1996) a cada dois dias, por um período de 24 dias.

O delineamento experimental para o experimento das folhas destacadas foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 17 (tratamentos) x 2 (aplicação ou não do produto em metade da mesma folha), com cinco repetições, onde cada gerbox contendo uma folha foi considerado uma repetição. A testemunha foi composta por folha com pulverização de água destilada apenas.

#### 4.3 CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa. Foram semeadas em cada vaso plásticos (capacidade para 3,0 L) com substrato vegetal (casca de pinus, eucalipto e cinzas) três sementes de feijão da variedade IPR Uirapuru. Após a emergência foram mantidas apenas duas plantas por vaso. Os tratamentos utilizados foram os mesmos do experimento com folhas destacadas (Tabela 1) e a testemunha correspondeu a plantas pulverizadas somente com água destilada (Figura 4). A pulverização dos produtos dos respectivos tratamentos foi realizada quando as plantas de feijão estavam no estágio vegetativo V3 (primeiro trifólio desenvolvido).

Os produtos dos respectivos tratamentos foram pulverizados no primeiro trifólio, sendo protegido o segundo trifólio (em desenvolvimento) com copo plástico, com o objetivo de evitar o contato do trifólio com o produto (Figura 4).

A inoculação do patógeno *P. griseola* foi realizada por pulverização de suspensão de conídios três dias após a aplicação dos tratamentos em toda a planta, para se observar a ocorrência de proteção local e/ou sistêmica, respectivamente (Figura 5).

Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida com sacos plásticos transparentes umedecidos (Figura 6) e temperatura ambiente por 48 horas em casa de vegetação, segundo metodologia utilizada por Stangarlin et al., (2000).

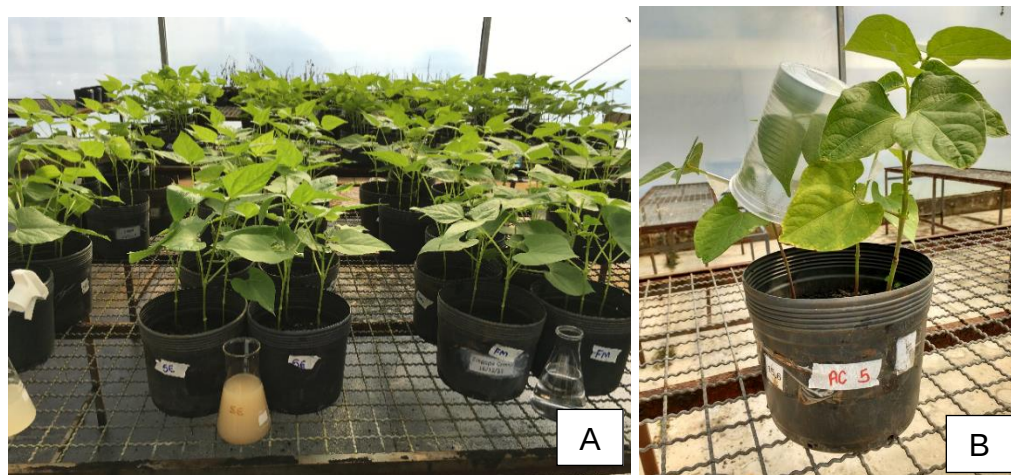


Figura 4 - Plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) no momento da aplicação dos tratamentos para verificar a indução de resistência e controle de *Pseudocercospora griseola* (A), planta de feijão com o trifólio protegido com copo plástico no momento da aplicação (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

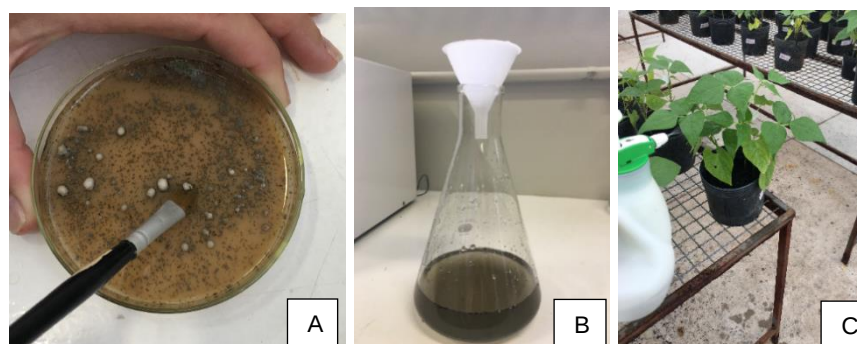


Figura 5 - Colônia de *Pseudocercospora griseola* com 45 dias completamente desenvolvida e esporulada (A), suspensão de conídios (B) e pulverização da suspensão de conídios na planta de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em casa de vegetação (C). Ponta Grossa - PR, 2017.

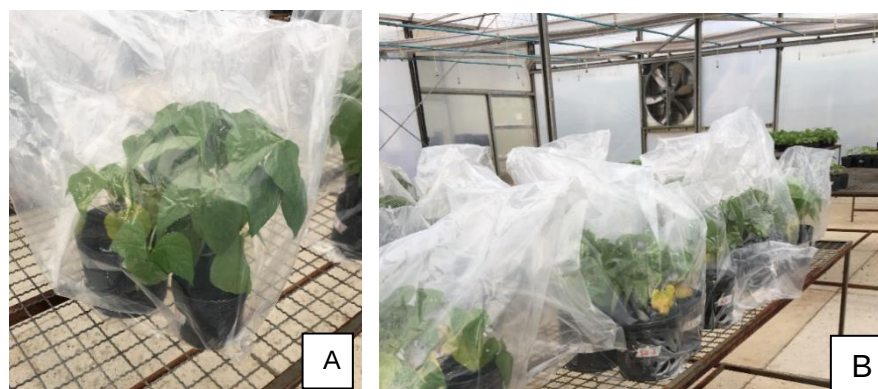


Figura 6 - Câmara úmida para viabilização de infecção de *Pseudocercospora griseola* inoculado em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em casa de vegetação (A e B). Ponta Grossa - PR, 2017.

A severidade da doença foi avaliada na 1ª, 2ª e 3ª folhas a cada dois dias, após a inoculação, com auxílio de escala diagramática elaborada por Godoy et al. (1997) totalizando 10 avaliações.

A partir dos dados de severidade foi calculada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), de acordo com Shaner e Finny (1977), como mostra a equação abaixo.

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) / 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

Onde: n é o número de avaliações;

y a intensidade de doenças;

t o tempo quando da avaliação da intensidade da doença;

i e i+1 representam as observações de 1 a n.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com dez repetições, onde cada vaso contendo três plantas foi considerado uma repetição. A análise de variância foi realizada por ANOVA com auxílio do software estatístico R versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011) e a comparação de médias quando significativa pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

## 4.4 EXPERIMENTO A CAMPO

### 4.4.1 Localização e caracterização da área experimental

Os experimentos foram conduzidos na Fazenda Escola Capão da Onça, pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa, localizada a 25°5'49" de latitude sul, 50°3'11" de longitude leste e altitude de 1.025 m acima do nível do mar. O clima predominante na região, segundo o sistema de classificação de Köppen–Geiger (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007), é do tipo Cfb, com verões frescos e ocorrência de geadas frequentes durante o inverno, sem a presença de estação seca definida. As temperaturas máximas e mínimas para a região são de 22 e 13°C,

respectivamente. A precipitação média anual é de 1.600 a 1.800 mm, onde os meses mais secos são junho e julho com média de 100 a 125 mm e agosto com 75 a 100 mm. Estes mesmos meses também são considerados os mais frios, com média de 13 a 14°C (IAPAR, 2011).

#### 4.4.2 Instalação e condução do experimento

A avaliação a campo dos possíveis indutores de resistência foi realizada em duas épocas, época "das águas" e "da seca". A semeadura da primeira época ocorreu no dia 04 de novembro de 2015 (safra 2015/2016) e da segunda no dia 21 de dezembro de 2015 (safra 2015/2016). A emergência das plantas de feijão ocorreu após 7 dias da semeadura na primeira época e 10 dias após a semeadura na segunda época (Figura 7).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com 13 tratamentos (Tabela 2) e 4 repetições em parcelas de 3,0 x 4,0 m, totalizando área de 12,0 m<sup>2</sup>. A cultivar utilizada foi a IPR88 Uirapuru, variedade do tipo feijão preto, com ciclo médio de 86 dias, suscetível a antracnose, mancha angular, bacteriose e mosaico dourado, e resistente a ferrugem, oídio e mosaico comum. A semeadura da cultura foi realizada no sistema de semeadura direta na palha no espaçamento entre linhas de 0,45 m e população de 15 plantas m<sup>-1</sup>. O controle de plantas daninhas, na primeira época, foi realizado com herbicida fomesafen + bentazona (150 + 480 g i.a. ha<sup>-1</sup>) aos 15 dias após a emergência (DAE). Na segunda época foram utilizados o mesmo produto na aplicação aos 17 DAE. O controle de pragas na primeira e segunda épocas foi realizado com tiametoxam + lambda-cialotrina (28 + 21,8 g i.a. ha<sup>-1</sup>) 36 DAE.

As aplicações, no primeiro experimento, foram realizadas aos 15 DAE (estádio V3), 32 DAE (R6 – primeira flor) e aos 47 DAE (R7 – formação de vagem). Já na segunda época, as aplicações foram realizadas nos estádios V4 (aos 15 DAE), R6 (aos 29 DAE) e R7 (aos 47 DAE).



Figura 7 - Área experimental da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*), localizada na Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa - PR, 2017.

Tabela 2 - Tratamentos do experimento de indução de resistência à campo, em feijão (*Phaseolus vulgaris*), e suas respectivas dosagens acrescentados em 1900 mL de água. Ponta Grossa - PR, 2017.

| TRATAMENTO                    | CONCENTRAÇÃO                                                                          | DOSAGEM  |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| High Roots®                   | N 18%, K <sub>2</sub> O 6%                                                            | 4000 µL  |
| V6®                           | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16%                                                            | 4000 µL  |
| Wert Plus®                    | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9%                                                                 | 4000 µL  |
| Fosfito de potássio           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 26%; K <sub>2</sub> O 19%                               | 14400 µL |
| Fosfito de manganês           | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 36%, Mn 7,0%                                            | 5500 µL  |
| Fosfito de cobre              | N 11%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 22%; S 1,76%; Cu 4%                              | 7200 µL  |
| Manganês                      | Mn 10%; S 5,48%                                                                       | 7200 µL  |
| Fungicida                     | hidróxido de Fentina 40%                                                              | 3840 µL  |
| <i>Ascochyllum nodosum</i>    | Acadian® - K <sub>2</sub> O - 5,3%, carbono orgânico total - 6,0 %                    | 14400 µL |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | Serenade®-13,68 g L <sup>-1</sup> (1,34%) - 1 x 10 <sup>9</sup> CFU g <sup>-1</sup>   | 14400 µL |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | Dipel WP® - 32 g Kg <sup>-1</sup> (3,2%) - 25 bilhões esporos viáveis g <sup>-1</sup> | 1,92 g   |
| Bion®                         | acibenzolar-S-Metílico (ASM)                                                          | 0,12 g   |

Foram realizadas 5 avaliações de severidade da mancha angular, estimando a porcentagem de tecido foliar atacado, com auxílio de escala diagramática (GODOY et al., 1996). As avaliações na primeira época foram realizadas aos 26, 33, 45, 51 e 59 DAE. Já na segunda época foram realizadas aos 25, 35, 45, 55 e 64 DAE. Para estas avaliações foram analisados o terço inferior, médio e superior dos trifólios de sete plantas das quatro linhas centrais de cada parcela. Com os dados de severidade foi calculada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD).

Em cada parcela, dos dois experimentos, plantas de uma linha, de um metro, foram colhidas para determinar o número de plantas por metro, número de vagens por planta, número de grãos por vagem. Ao final foram colhidas as plantas de uma área útil de 8 m<sup>2</sup>, para estimar a produtividade padronizando a umidade para 13%. A colheita do primeiro experimento foi realizada aos 93 DAE (07/03/16) e do segundo aos 96 DAE (06/04/16).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os dados de severidade nas avaliações foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(x+0,5)/100}$ . As análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

#### 4.5 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES

As sementes colhidas a campo foram submetidas ao teste de patologia pelo método *Blotter test* ou método de papel filtro (HENNING, 1994). Foram utilizadas 200 sementes de cada tratamento, divididas em oito repetições de 25 sementes. As sementes foram dispostas individualmente sobre duas folhas de papel mata borrão esterilizados e umedecidos com água destilada e esterilizada no interior do gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) desinfestado. Os gerbox com as sementes foram incubados em câmara tipo BOD com temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , por um período de sete dias, sob regime luminoso de 12 horas de luz e 12 horas de escuro (Figura 8). A avaliação foi realizada após sete dias de incubação, examinando-se individualmente todas as sementes. Os fungos foram identificados ao nível de gênero, com base em suas características morfológicas visualizadas sob microscópio estereoscópico e ótico e baseada em Barnett e Hunter (1972), sendo a incidência expressa em porcentagem.



Figura 8 - Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) dispostas em caixa gerbox para avaliação da qualidade sanitária pelo método *Blotter Test*. Ponta Gossa - PR, 2017.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os dados de sanidade de sementes foram transformados em  $\arcsin$

$\sqrt{(x+0,5)/100}$  e as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R versão 2.13.2 (R Development Core Team, 2011).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EXPERIMENTOS *in vitro*

O período de avaliação do crescimento micelial do fungo, *Pseudocercospora griseola*, durou cinco semanas para os dois experimentos e foi mensurado o tamanho da colônia, uma vez por semana. A interação dos produtos com as doses foi significativa para IVCM (Tabela 3). Para o primeiro experimento, analisando primeiramente cada tratamento dentro das concentrações (Tabela 3), observa-se que na concentração de 1000 ppm houve diferença significativa entre os produtos.

Tabela 3 - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Pseudocercospora griseola* submetido ao efeito de tratamentos alternativos em diferentes concentrações *in vitro*. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Primeiro experimento          |       |     |            |      |       |      |       |      |       |      |
|-------------------------------|-------|-----|------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
| Tratamento                    |       |     | Dose (ppm) |      |       |      |       |      |       |      |
|                               | 0     |     | 1          |      | 10    |      | 100   |      | 1000  |      |
| Hidróxido de fentina          | 16,40 | Aa* | 15,03      | cB   | 15,13 | cB   | 15,55 | bcAB | 15,53 | bcAB |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>    | 16,40 | aA  | 17,45      | aA   | 17,30 | aA   | 16,68 | abA  | 17,30 | aA   |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 16,40 | aA  | 15,75      | bcAB | 15,48 | bcAB | 15,55 | bcAB | 15,25 | bcB  |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | 16,40 | aA  | 15,00      | cB   | 15,00 | cB   | 15,00 | cB   | 15,00 | cB   |
| Fosfito de cobre              | 16,40 | aA  | 17,75      | aA   | 17,38 | aAB  | 17,70 | aA   | 16,38 | abB  |
| Fosfito de manganês           | 16,40 | aA  | 16,80      | abA  | 16,78 | aA   | 16,88 | aA   | 16,08 | bcA  |
| Fosfito de potássio           | 16,40 | aAB | 17,10      | aA   | 16,60 | abAB | 17,13 | aA   | 15,88 | bcB  |
| Manganês                      | 16,40 | aB  | 17,65      | aA   | 16,85 | aAB  | 16,90 | aAB  | 17,33 | aAB  |
| C.V. (%)                      | 3,82  |     |            |      |       |      |       |      |       |      |

| Segundo experimento           |       |     |            |    |       |      |       |       |       |      |
|-------------------------------|-------|-----|------------|----|-------|------|-------|-------|-------|------|
| Tratamento                    |       |     | Dose (ppm) |    |       |      |       |       |       |      |
|                               | 0     |     | 1          |    | 10    |      | 100   |       | 1000  |      |
| Hidróxido de fentina          | 17,53 | aA* | 16,68      | bB | 16,64 | bcB  | 16,11 | deBC  | 15,65 | cC   |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>    | 17,53 | aB  | 18,25      | aA | 17,30 | abBC | 16,68 | cdeC  | 17,30 | abBC |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 17,53 | aA  | 15,85      | cB | 15,48 | dB   | 15,93 | eB    | 15,50 | cB   |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | 17,53 | aA  | 15,00      | dB | 15,00 | dB   | 15,00 | fB    | 15,00 | cB   |
| Fosfito de cobre              | 17,53 | aA  | 17,88      | aA | 17,78 | aA   | 17,48 | abcA  | 15,60 | cB   |
| Fosfito de manganês           | 17,53 | aA  | 17,75      | aA | 17,68 | aA   | 17,70 | abA   | 16,65 | bB   |
| Fosfito de potássio           | 17,53 | aA  | 17,73      | aA | 17,78 | aA   | 17,90 | aA    | 16,58 | bB   |
| Manganês                      | 17,53 | aAB | 18,18      | aA | 16,38 | cC   | 16,90 | bcdBC | 18,05 | aA   |
| C.V. (%)                      | 2,45  |     |            |    |       |      |       |       |       |      |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

O tratamento com *Bacillus subtilis* se destaca entre os tratamentos, pois apresentou menores valores no crescimento micelial em todas as concentrações, entretanto na concentração de 1000 ppm não diferiu estatisticamente do tratamentos fungicida, *B. thuringiensis*, fosfito de manganês e potássio. Na concentração de 100

10 e 1 ppm *B. subtilis* não diferiu estatisticamente dos tratamentos *B. thuringiensis* e fungicida, entretanto na concentração de 100 ppm os dois últimos tratamentos não diferiram estatisticamente *A. nodosum*.

Quando avaliado cada tratamento separadamente dentro das concentrações, verifica-se que *B. thuringiensis* reduziu, ainda que pouco o crescimento micelial do fungo, com o aumento na concentração do produtos. *A. nodosum* teve um melhor controle do patógeno na concentração de 100 ppm, manganês apresentou melhor controle nas concentrações de 10 e 100 ppm, e o tratamento fosfito de cobre teve um melhor controle na concentração de 1000 ppm.

Houve comportamento linear somente para o tratamento *Bacillus thuringiensis*, já os tratamentos fungicida, fosfito de cobre, manganês e potássio apresentaram comportamento quadrático (Figura 9).

No segundo experimento, em todas as concentrações observa-se um melhor controle com o uso do tratamento com *B. subtilis* (Tabela 3). Na concentração de 1000 ppm, os tratamentos fungicida, *B. thuringiensis*, *B. subtilis* e fosfito de cobre se comportaram de forma semelhante no controle do crescimento micelial do fungo, não diferindo estatisticamente entre si. Na concentração de 100 e 1 ppm o tratamento *B. subtilis* apresentou melhor controle sobre o desenvolvimento do fungo, resultado que se iguala ao encontrado no primeiro experimento, seguido pelo tratamento fungicida. Com 10 ppm, o melhor resultado é obtido com o uso de *B. thuringiensis* e *B. subtilis*, que não diferiram estatisticamente entre si.

Quando avaliado cada tratamento separadamente dentro das concentrações (Tabela 3), verifica-se que o tratamento fungicida, fosfito de cobre, fosfito de manganês, fosfito de potássio apresentaram maior controle no desenvolvimento do fungo na concentração de 1000 ppm. *Bacillus thuringiensis* e *B. subtilis*, apresentaram maior controle do fungo quando comparado a testemunha, sendo que *B. subtilis* apresentou um melhor controle quando comparado aos demais tratamentos. Os tratamentos *A. nodosum* e manganês apresentaram melhor controle no desenvolvimento do fungo na concentração de 100 ppm, além de 10 ppm para o tratamento manganês.

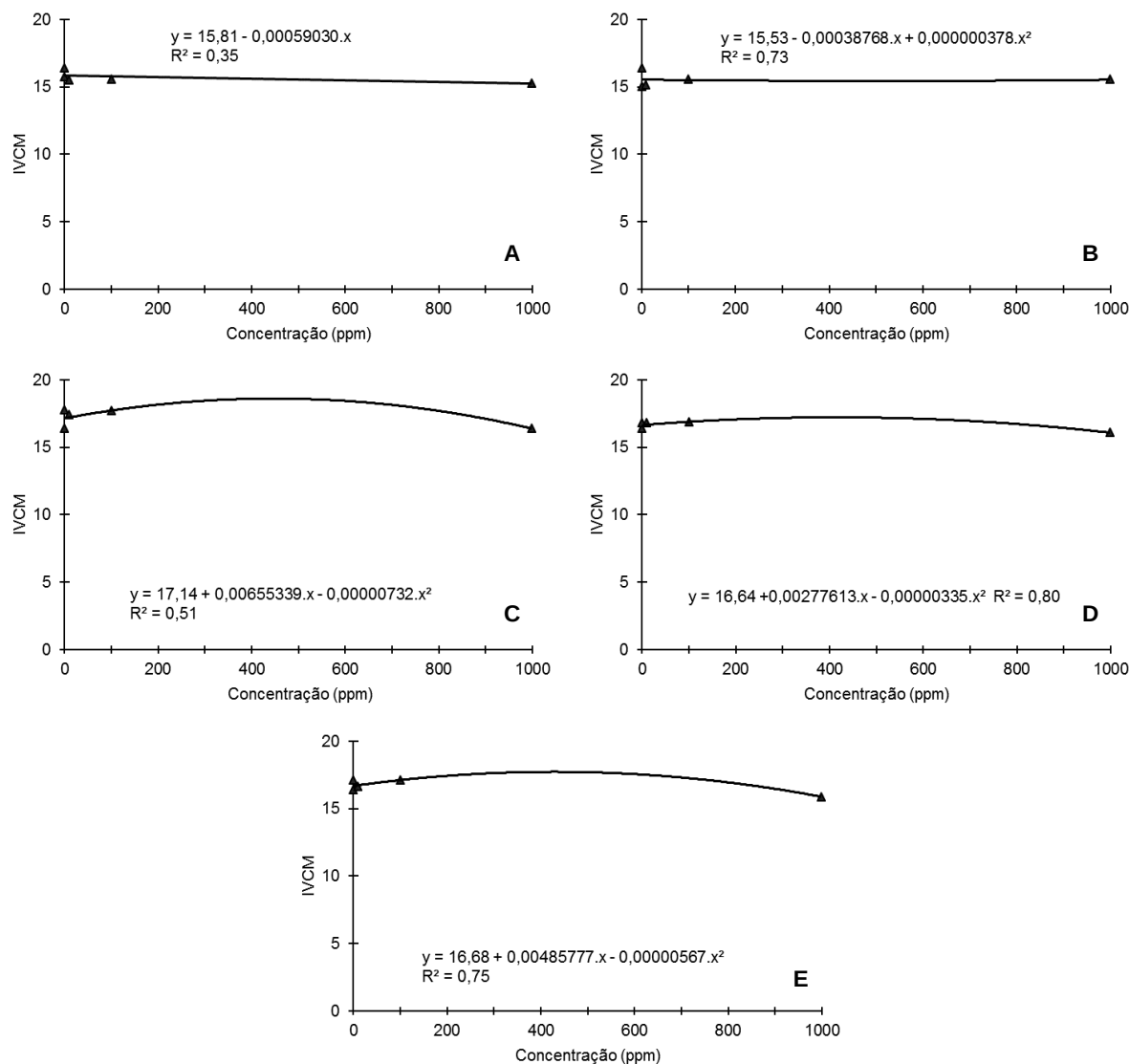


Figura 9 - Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Pseudocercospora griseola* nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos *Bacillus thuringiensis* (A), fungicida (hidróxido de fentina) (B), fosfito de cobre (C), fosfito de manganês (D) e fosfito de potássio (E). Ponta Grossa - PR, 2017.

Figueredo et al. (2010) avaliaram a atividade antagonista do isolado CNPMS-22 de *B. subtilis* contra os principais fungos fitopatogênicos das culturas do milho e do sorgo. Os autores relataram que o isolado testado demonstrou presença de atividade antagonista contra quatro fungos fitopatogênicos (*Fusarium moniliforme*, *Exserohilum turcicum*, *Acremonium striticum* e *Colletotrichum sublineolum*), impedindo o crescimento de todas as espécies de fungos testados. Esses autores afirmam que bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos, pois diferentemente do que ocorre com outros grupos de bactérias, espécies de *Bacillus*

mantêm sua atividade fungistática mesmo após longos períodos de armazenamento (PETRAS; CASIDA JÚNIOR, 1985).

Para a segunda bateria, houve comportamento linear somente para o tratamento fungicida, já os tratamentos *B. thuringensis*, fosfito de cobre, manganês e potássio apresentaram comportamento quadrático (Figura 10).

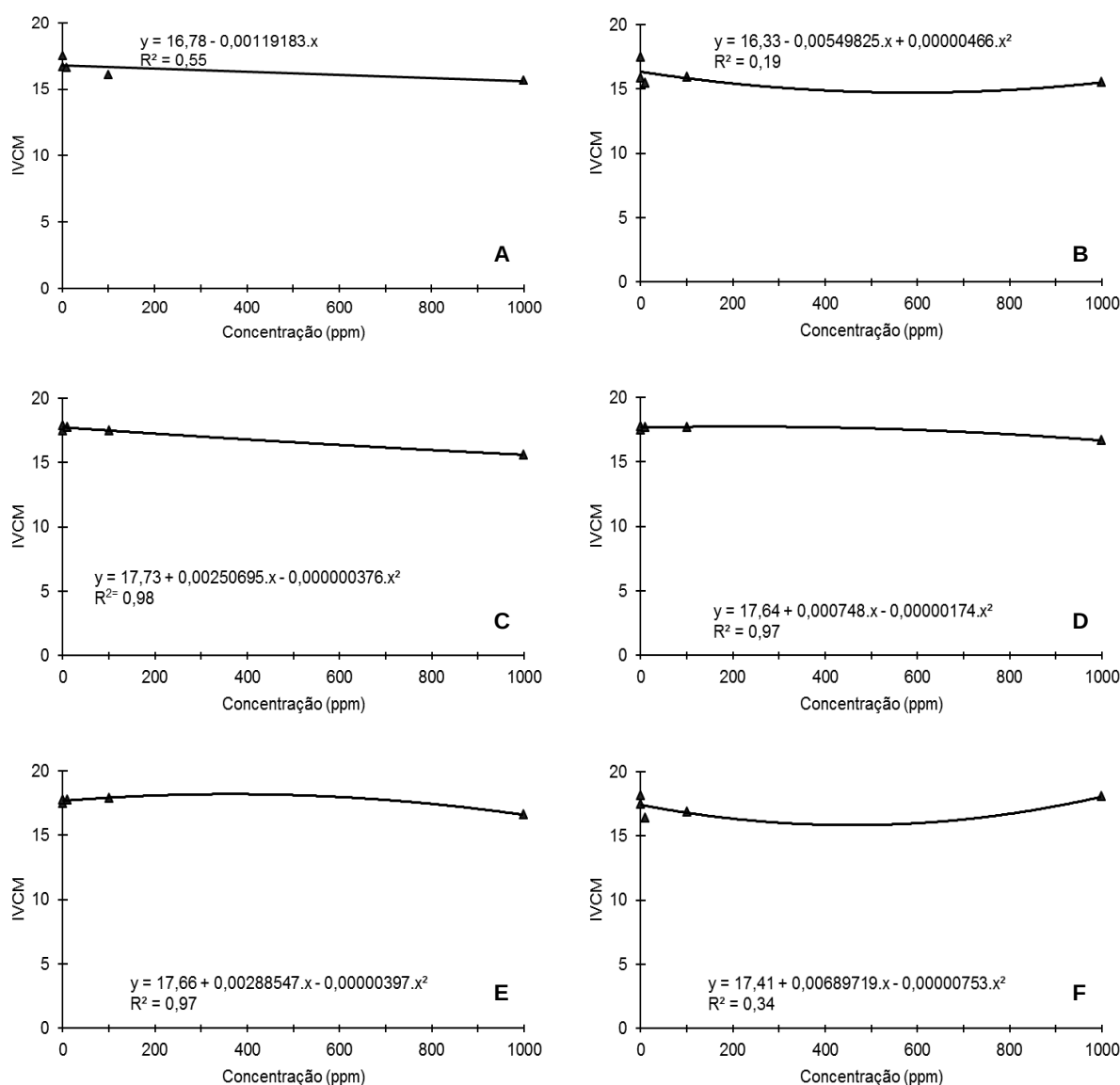


Figura 10- Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Pseudocercospora griseola* nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm para os tratamentos fungicida (hidróxido de fentina) (A), *Bacillus thuringiensis* (B), fosfito de cobre (C), fosfito de manganês (D), fosfito de potássio (E) e manganês (F). Ponta Grossa - PR, 2017.

*Bacillus subtilis* tem sido usado comercialmente tanto para o biocontrole de doenças de plantas como para aumentar a produtividade de culturas (NGUGIA et al.,

2005; YAO et al., 2006). O antagonismo direto exercido contra fitopatógenos tem o envolvimento dos conhecidos mecanismos de antibiose, como a síntese de substâncias antimicrobianas, a competição por espaço e nutrientes e a síntese de compostos voláteis (LEELASUPHAKUL, HEMMANEE; CHUENCHITT 2008). Isolados de *B. subtilis* produzem uma grande variedade de metabolitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina.

Chen et al., (2008) encontraram 14 compostos voláteis de *B. subtilis*, identificados através da cromatografia gasosa, com aparente fonte de compostos bioativos. Monteiro (2002) avaliou mecanismo de antibiose de oito isolados de *Bacillus* no controle de linhagens de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e a participação de lipopeptídeos neste mecanismo. Os isolados, *B. subtilis* se mostraram os mais eficientes no antagonismo contra as linhagens de *X. campestris* pv. *campestris*. A correlação observada entre a atividade antimicrobiana e a atividade hemolítica indicou que lipopeptídeos estão envolvidos no mecanismo de antibiose dos isolados investigados.

Oliari (2014) avaliou o efeito de extrato de algas *A. nodosum* e *Ecklonia maxima* no controle do fungo *Monilinia fruticola*, agente causal da podridão-parda, no pêssego. O autor realizou experimentos a fim de verificar o efeito de cinco concentrações (0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mL L<sup>-1</sup>) na qualidade físico-química de frutos no controle *in vivo* e *in vitro* de *M. fruticola*. No teste *in vitro* as doses não apresentaram efeito significativo sobre o IVCm e à esporulação de *M. fruticola*. Entretanto, no teste *in vivo* houve efeito positivo da aplicação dos extratos, com redução da AACPD de 41,03 e 26,90% para *A. nodosum* e *E. maxima*, respectivamente.

Santos et al., (2015) avaliaram o potencial dos fosfitos de cobre, potássio e manganês (CUBO®, Ultra K10® e Ultra MN10®) sobre o desenvolvimento do fungo *Fusarium oxysporum* *in vitro*. Os fosfitos foram adicionados nas concentrações de 0,001; 0,002; 0,004; 0,006 % diretamente no meio de cultura BDA, verificando-se o potencial fungicida desses tratamentos em todas as concentrações sobre *F. oxysporum*, não ocorrendo crescimento micelial do fitopatógeno.

Araújo, Valdebenito-Sanhueza; Stadnik (2010) avaliaram a eficiência de diferentes formulações comerciais de fosfito de potássio no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Os autores verificaram o tratamento interferiu no desenvolvimento do *C. gloeosporioides* diminuindo em 94% o crescimento micelial das colônias.

## 5.2 FOLHA DESTACADA

Os primeiros sintomas da mancha angular apareceram aos 12 dias após inoculação (DAI), o tratamento com ASM causou fitotoxidez nas folhas, impedindo que ocorresse a avaliação dos sintomas. Todos os tratamentos, exceto *B. thuringiensis*, não diferiram estatisticamente da testemunha quando comparado lado esquerdo e direito da folha (Tabela 4). Somente o tratamento com o controle biológico *B. thuringiensis* apresentou diferença estatística entre os lados aplicados, sendo o lado direito o menor valor da AACPD, quando comparado ao lado esquerdo.

Quando feita a comparação entre tratamentos no lado direito (aplicado) somente o tratamento com o nutriente manganês diferiu estatisticamente da testemunha. Já o lado esquerdo (não aplicado) os tratamentos *B. thuringiensis* e manganês, diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, entretanto este último apresentou maior valor da AACPD quando comparado aos demais, indicando que este tratamento estimulou o desenvolvimento do patógeno.

De acordo com Bettiol e Astiarraga (1998), os nutrientes minerais exercem valiosas funções no metabolismo das plantas. A nutrição mineral pode influenciar tanto na anatomia quanto na composição química das plantas, o que pode interferir na resistência destas a patógenos (ZAMBOLIM; VENTURA, 1993). Pode-se citar como exemplo o trabalho realizado por Truyllo (2015) onde a aplicação do nutriente Wert Plus®, no controle de *Colletotrichum lindemuthianum*, foi eficiente resultado este que difere ao encontrado no presente experimento.

Gabardo (2015) avaliando indutores de resistência abióticos na cultura da soja, usou como tratamento o indutor acibenzolar-S-metílico (Bion 500 WG®); cálcio (Max Fruit®); micronutrientes: cobre, manganês e zinco (Wert Plus®); micronutrientes: manganês, zinco e molibdênio (V6®); adubo NK (Hight Roots®); o controle biológico com *A. nodosum* e fungicida azoxistrobina + ciproconazol (Priori Xtra®) com adição do adjuvante Nimbus. A autora avaliou pelo método da folha destacada os indutores contra *Phakopsora pachyrhizi*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, e relatou que não houve diferença dos tratamentos para *P. pachyrhizi*. Já para *S. sclerotiorum* e *R. solani* houve diferença destacando-se o tratamento com *A. nodosum* e micronutrientes: cobre, manganês e zinco e manganês, zinco e molibdênio, respectivamente.

Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) em folhas destacadas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) sem aplicação, com aplicação em função dos tratamentos realizados. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupos          | Tratamentos                               | Lado da folha |           |
|-----------------|-------------------------------------------|---------------|-----------|
|                 |                                           | Esquerdo      | Direito   |
| Controle        | Testemunha                                | 5,90 Ac*      | 3,68 Ab   |
| Químico         | Fungicida - hidróxido de fentina          | 9,82 Ac       | 4,28 Ab   |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 3,12 Ac       | 1,68 Ab   |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 74,18 Bb      | 7,82 Ab   |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 4,8 Ac        | 2,60 Ab   |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 2,64 Ac       | 17,68 Ab  |
|                 |                                           |               |           |
| Indutores       | fosfito de Cobre                          | 0,00 Ac       | 0,00 Ab   |
|                 | fosfito de Manganês                       | 11,06 Ac      | 9,42 Ab   |
|                 | fosfito de Potássio                       | 33,68 Ac      | 36,48 Ab  |
| Micronutrientes | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 0,00 Ac       | 0,00 Ab   |
|                 | Manganês                                  | 135,80 Aa     | 121,80 Aa |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 10,66 Ac      | 9,10 Ab   |
| C.V. (%)        |                                           | 9,82          |           |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

No presente trabalho, o fungicida apresentou valor da AACPD superior a testemunha, resultado semelhante ao relatado por Truylio (2015). O autor afirmou que este resultado se deve, possivelmente, a raça do patógeno da região ter desenvolvido uma resistência a estes princípios ativos, visto que outros autores encontraram resultados positivos com o uso desse tratamento (MINUZZI, 2012).

### 5.3 CASA DE VEGETAÇÃO

A severidade da mancha angular em casa de vegetação apresentou-se baixa, e somente 14 dias após a inoculação foi possível a observação dos sintomas (1º experimento) e 18 dias após a inoculação do patógeno (2º experimento).

No primeiro experimento os primeiros sintomas foram observados nas folhas cotiledonares e posteriormente no 1º trifólio (tratado) (Tabela 5). Os valores observados no 1º trifólio foram menores do que os valores observados na folha cotiledonar, entretanto superiores ao 2º e 3º trifólio, indicando que de alguma maneira os tratamentos reduziram o desenvolvimento da doença (Tabela 5).

Alguns tratamentos causaram fitotoxidez nas folhas tratadas, a exemplo do fosfito de cobre, fosfito de potássio e o fertilizante foliar Wert Plus®, entretanto esse efeito não ocorreu nos novos trifólios desenvolvidos.

Na folha cotiledonar, os menores valores da AACPD foram observados nos tratamentos com fungicida, *A. nodosun*, *Trichoderma asperellum* e fosfito de cobre. O maior valor da AACPD foi obtido no tratamento com o fertilizante foliar Wert Plus®. Os tratamentos com *B. subtilis*, fosfito de manganês não diferiram da testemunha. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 5).

Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença de *Pseudocercospora griseola* em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) na folha cotiledonar, primeiro trifólio, segundo trifólio e terceiro trifólio, em casa de vegetação. Ponta Grossa – PR, 2017.

| Grupo           | Tratamentos                               | Folha cotiledonar | 1º Trifólio | 2º Trifólio | 3º Trifólio |
|-----------------|-------------------------------------------|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| Testemunha      | Testemunha                                | 5,98 b*           | 3,42 b      | 0,88 ns     | 0,08 b      |
| Químico         | Fungicida - hidróxido de fentina          | 1,38 d            | 2,43 b      | 0,76        | 0,00 b      |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 0,95 d            | 1,35 c      | 0,92        | 0,04 b      |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 3,82 c            | 2,51 b      | 0,10        | 0,00 b      |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 5,89 b            | 1,60 c      | 0,52        | 0,22 a      |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 1,61 d            | 1,91 c      | 0,10        | 0,00 b      |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 2,30 c            | 1,16 c      | 0,00        | 0,00 b      |
| Indutores       | fosfito de cobre                          | 0,95 d            | 1,18 c      | 0,93        | 0,00 b      |
|                 | fosfito de manganês                       | 7,20 b            | 6,29 a      | 0,63        | 0,06 b      |
|                 | Fosfito de potássio                       | 3,12 c            | 1,04 c      | 0,02        | 0,00 b      |
|                 |                                           |                   |             |             |             |
| Micronutrientes | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 2,68 c            | 2,96 b      | 0,10        | 0,30 a      |
|                 | Manganês                                  | 2,54 c            | 2,49 b      | 0,42        | 0,00 b      |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 6,03 c            | 2,94 b      | 1,55        | 0,30 a      |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 10,48 a           | 5,12 a      | 1,67        | 0,48 a      |
| C.V. (%)        |                                           | 33,89             | 35,46       | 6,42        | 4,96        |

\*Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; ns = não significativo; C.V.= coeficiente de variação.

No 1º trifólio os tratamentos com menores valores na AACPD foram os tratamentos biológicos com *A. nodosun*, *B. subtilis* e *T. asperellum*, o indutor ASM e os fosfitos de cobre e potássio (Tabela 5). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha, exceto Wert Plus® e fosfito de manganês, que apresentaram maiores valores na severidade. No 2º trifólio não foi observada diferença estatística entre os tratamentos, já no 3º trifólio os tratamentos *B. subtilis*, e os nutrientes Hight Roots®, V6® e Wert Plus®, foram os únicos tratamentos que não diferiram estatisticamente da testemunha.

Uma alternativa de controle de doenças de plantas é o uso de algas, entre elas *A. nodosum*, destaca-se dentre as espécies de algas marinhas comumente utilizadas no controle de doenças de plantas (KESER, SWENARTON; FOERTCH, 2005; CARVALHO; CASTRO, 2014). Encontra-se na literatura estudos demonstrando o potencial de uso dos extratos de algas para aumentar o

desenvolvimento de plantas (KHAN et al., 2009; CARVALHO et al., 2014), sendo também relatado aumento da tolerância vegetal à estresses bióticos e abióticos. Mesmo em baixas concentrações, os produtos à base de extratos de algas afetam o desenvolvimento vegetal, indicando que os derivados dos extratos de algas possuem compostos bioativos (KHAN et al., 2009; CARVALHO et al., 2014; JACQUES, 2015).

Os polissacarídeos obtidos de algas marinhas têm demonstrado efeito como potenciais indutores de resistência em plantas (PAULERT et al., 2009). Borsato; Piero e Stadnik (2010) avaliaram a capacidade da alga *Ulva* em induzir resistência em três cultivares de feijão contra *Uromyces appendiculatus* (Pers) Unger., agente causal da ferrugem, e estudaram os mecanismos de ação envolvidos. A pulverização do polissacarídeo não afetou o número de pústulas/cm<sup>2</sup> da ferrugem, mas promoveu uma redução média de 23,8% no diâmetro das mesmas em plantas de feijão. Resultados semelhantes foram obtidos por Fernandes (2007) e Abreu (2005) na redução do crescimento de lesões de *C. lindemuthianum* em feijão e Araújo et al. (2008) na diminuição da severidade da mancha foliar da *Glomerella* em plântulas de macieira tratadas preventivamente com *Ulva*.

No uso de agentes biológicos no controle de doenças, destaca-se o fungo *Trichoderma*, o mecanismo de ação desse antagonista é através da antibiose, definida como interação entre organismos, na qual um ou mais metabólitos, produzidos por um organismo, têm efeito danoso sobre o outro (BETTIOL, 1991). Pode-se encontrar trabalhos positivos no controle de antracnose do feijão, como os realizados por Alves e Nunes (2016); Pedro et al., (2012). Entretanto, Henkemeier et al. (2013) não constataram indução de resistência, através da produção de fitoalexinas por esse gênero de fungo, quando comparado ao uso do indutor ASM.

Tratamentos à base de fósforo também tem sido estudado no controle de doenças de plantas, como exemplo os fosfitos. Segundo Carmona e Sautua (2011) a forma de controle por esses produtos *in vivo* sob o fungo, pode ser distinta do mecanismo *in vitro*. Fosfitos podem atuar de forma mais fungistática que fungitóxica, como afirmam Lobato et al., (2010), onde os autores relataram redução da severidade de *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* na cultura da batata, com o uso de fosfito.

Na cultura do feijão, Gadaga et al., (2017) avaliaram o efeito de fosfitos na proteção de plantas contra antracnose. Os tratamentos utilizados foram: fosfito de K,

Zn, Mn, K+Mn, K + ácido salicílico e Cu, ácido salicílico, acibenzolar-S-metílico e o fungicida azoxistrobina. Os autores observaram uma menor AACPD em plantas que receberam aplicações dos fosfitos de K e Mn, em comparação ao controle, sendo os fosfitos de K, Zn e K + ácido salicílico também eficazes no controle da doença. Resultado que confirma com o trabalho de Nascimento et al. (2008) no controle de bactérias na cultura do tomate e Bécot et al. (2000) no controle de oídio nas crucíferas, que além do fosfito de potássio, os autores obtiveram resultados positivos com o uso do fosfito de manganês. Entretanto esses resultados não corroboram com os encontrados no presente trabalho, assim como no trabalho de Ribeiro Júnior et al. (2006) com mudas de cacau no controle de *Verticillium dahliae* Kleb.

No segundo experimento (Tabela 6) a doença demorou mais para se desenvolver (18 dias após inoculação) o que justifica valores iguais a zero em alguns tratamentos na avaliação da folha cotiledonar, visto que essa entrou em senescência antes do aparecimento da doença além de alguns tratamentos terem causado fitotoxidade. Os sintomas no 1º, 2º e 3º trifólios foram mais expressivos quando comparada ao experimento 1 (Tabela 5).

A testemunha apresentou uma maior severidade da doença em todos os trifólios (Tabela 6), entretanto mesmo apresentando valores superiores, não diferiu estatisticamente do tratamento *B. subtilis* e fosfito de cobre no 2º trifólio. Já no 3º trifólios além dos tratamentos citados, plantas tratadas com manganês apresentaram maior severidade da doença.

No 1º trifólio (Tabela 6) os menores valores de AACPD foram obtidos nos tratamentos com fungicida e fosfito de potássio. Já no 2º trifólio, houve uma redução da doença em todos os tratamentos com menor valor da AACPD: fungicida, *A. nodosum*, *B. thuringiensis*, *T. asperellum*, ASM, fosfito de manganês e potássio, além dos nutrientes Hight Roots® e Wert Plus®. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha.

No 3º trifólio todos os tratamentos apresentaram redução da AACPD, exceto *B. subtilis*, fosfito de cobre e nutriente manganês que não diferiram estatisticamente da testemunha.

A maioria dos fungos patogênicos invade o apoplasto liberando enzimas pectolíticas que dissolvem a lamela média da folha (TAIZ; ZEIGER, 2005). A atividade dessas enzimas é extremamente inibida pelo Ca, presente no fertilizante

Hight Roots®, que reforça a parede celular da planta, o que explica uma correlação negativa entre teores de Ca e severidade de doenças (DORNELES, 2005).

Tabela 6 - Área abaixo da curva de progresso da doença de *Pseudocercospora griseola* em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) na folha cotiledonar, primeiro trifólio, segundo trifólio e terceiro trifólio, em casa de vegetação. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamentos                               | Folha cotiledonar | 1º Trifólio | 2º Trifólio | 3º Trifólio |
|-----------------|-------------------------------------------|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| Controle        | Testemunha                                | 0,00 b*           | 7,93 a      | 3,14 a      | 1,44 a      |
| Químico         | fungicida - hidróxido de fentina)         | 1,58 b            | 0,66 d      | 0,46 b      | 0,60 b      |
| Biológicos      | <i>Ascochyllum nodosum</i>                | 0,00 b            | 2,74 c      | 0,82 b      | 0,50 b      |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 0,00 b            | 2,74 c      | 1,55 b      | 0,03 b      |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 0,72 b            | 3,73 c      | 2,17 a      | 1,15 a      |
|                 | <i>Trichoderma asperellum</i>             | 3,76 a            | 4,00 c      | 0,93 b      | 0,20 b      |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 0,92 b            | 2,26 c      | 0,32 b      | 0,12 b      |
| Indutores       | fosfito de cobre                          | 0,12 b            | 2,95 c      | 2,70 a      | 1,30 a      |
|                 | fosfito de manganês                       | 0,00 b            | 5,48 b      | 1,42 b      | 0,24 b      |
|                 | fosfito de potássio                       | 0,00 b            | 1,24 d      | 0,62 b      | 0,20 b      |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 0,00 b            | 5,03 b      | 1,21 b      | 0,00 b      |
| Micronutrientes | Manganês                                  | 0,00 b            | 2,36 c      | 1,92 a      | 1,70 a      |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 0,00 b            | 2,38 c      | 1,46 b      | 0,26 b      |
| C.V. (%)        |                                           | 32,59             | 36,33       | 15,26       | 12,51       |

\*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; C.V.= coeficiente de variação.

O tratamento com fosfito de potássio também apresentou controle significativo da doença em todos os trifólios. O potássio é o único macronutriente que apresenta consistentes resultados positivos na redução da incidência de doenças, pois a sua deficiência provoca acúmulo de aminoácidos solúveis, que são nutrientes de patógenos (DORNELES, 2005).

Os macronutrientes nitrogênio, potássio e cálcio, em deficiência ou excesso, são os que provocam as maiores mudanças estruturais e bioquímicas, tornando as plantas mais suscetíveis ao ataque de patógenos (SILVEIRA et al., 2003). De acordo com Huber (2005), há uma relação positiva no controle de doenças pelos macronutrientes K e P, entretanto o macronutriente N quando aplicado de forma desequilibrada na planta, aumenta a predisposição da mesma ao ataque de patógenos (BENDENDO; AMORIM, 2011).

As doenças da cultura do feijão são controladas com medidas de manejo integrado às outras práticas, como rotação de cultura, adubação (NUNES, 2002). Para o controle da mancha angular, os teores de nitrogênio são monitorados e mantidos na faixa de suficiência, pois tem contribuído para redução da doença no campo. O fósforo, manganês e enxofre são os macronutrientes que menos se

relacionam com a ocorrência de doenças, pois a carência destes nutrientes altera pouco as barreiras mecânicas e a síntese de fitoalexinas (DORNELES, 2005).

O ASM é um análogo do AS, que age induzindo a ativação de genes que codificam proteínas PR e enzimas relacionadas com a produção de fitoalexinas e lignina (RESENDE et al., 2000).

Birigimana e Höfte (2002) testaram diferentes doses de ASM, para o controle de *C. lindemuthianum*, os autores observaram que o aumento da resistência era dependente da dose utilizada. Porém, doses de 100 e 1000  $\mu\text{M}$  tornaram as folhas menores e verde escuras, o que os autores consideraram como fitotoxidez. Iriti e Faoro (2003) utilizaram a dose de 300  $\mu\text{M}$ , visto que, em trabalhos anteriores essa dosagem demonstrou máxima eficiência sem causar sintoma de fitotoxidez. Os autores inocularam *U. appendiculatus* 1, 3, 7 ou 14 dias após a indução e observaram redução de 54,2, 81,1, 99,9 e 100% no número de pústulas, respectivamente e quando se efetuou 2 ou 3 aplicações antes da inoculação a redução foi de 99,6 e 100%, respectivamente.

*Bacillus subtilis* foi o único tratamento biológico que não apresentou eficiência no controle da mancha angular no presente trabalho (Figura 11). Entretanto essa bactéria, entre outras espécies do mesmo gênero, tem sido amplamente usada no controle de doenças em diferentes culturas. Segundo Barros et al. (2010) *B. subtilis*, uma espécie de bactéria saprofítica, que produz um composto chamado subtilina, este age de forma deletéria sobre ácaros fitoparasitas e insetos fitófagos sugadores e também sobre os fitopatógenos causadores de doenças de plantas. Outras espécies se destacam dentro do gênero *Bacillus*, Silva et al. (2003) observaram em plantas de tomate induzidas por *B. cereus*, aumento da resistência a patógenos como *Alternaria solani* (66%), *Corynespora cassiicola* (37%), *Oidium lycopersici* (66%), *Stemphylium solani* (56%) e *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (35%). Garcia e Romeiro (2011) avaliaram o efeito de isolados de *Bacillus cereus* e *Pseudomonas putida* sobre a severidade da mancha angular do feijão e relataram a eficiência dessas bactérias em reduzir a severidade da doença, apresentando o mesmo nível de controle que o fungicida clorotalonil.

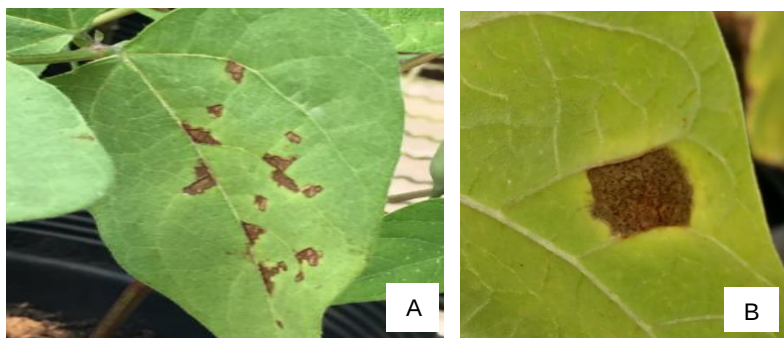


Figura 11 - Folha de feijão (*Phaseolus vulgaris*) tratada com *Bacillus subtilis*, com sintomas de mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) (A) lesão de mancha angular com formação de sinêmios (B). Ponta Grossa - PR, 2017.

#### 5.4 EXPERIMENTOS A CAMPO

No momento da primeira aplicação dos produtos no campo, ainda não havia sido constatada a presença dos sintomas de mancha angular. A antracnose foi a doença que ocorreu primeiro e em maior severidade em ambas as épocas de semeadura dos experimentos. Observou-se correlação negativa entre a antracnose e a mancha angular, isto é, nas plantas e/ou parcelas onde se observaram altos índices da antracnose, constatarem-se baixos índices de mancha angular e vice e versa, possivelmente este fato tenha ocorrido pela competição por sítio de alimentação, resultado semelhante encontrado por Gadaga (2009).

Os primeiros sintomas de mancha angular foram observados somente nas duas últimas avaliações no primeiro experimento, 51 DAE e 59 DAE no segundo experimento nas últimas três avaliações aos 45, 55 e 64 DAE. Além da presença do fungo *C. lindemuthianum*, o atraso na ocorrência da doença foi devido ao clima, onde, o fungo necessita de uma temperatura que varia em torno de 16 a 28°C, com temperatura ótima a 24°C e a infecção não ocorre quando a temperatura encontra-se próximo a 32°C. Já em relação a umidade, o patógeno é favorecido por alta umidade (24 a 48 horas), alternados por períodos de baixa umidade. Entretanto, no início do ciclo da cultura foram poucas ocorrências de chuva com oscilações de temperatura, (Anexo 2), possivelmente tenha sido esse o motivo do atraso no início da doença.

Na primeira época de semeadura todos os tratamentos apresentaram menor AACPD em relação a testemunha. Isso indica que, houve controle do fungo *P. griseola*, em diferentes níveis com os tratamentos utilizados (Tabela 7).

Os tratamentos com melhor controle sob a doença foram o controle químico com o fungicida, os controles biológicos com a alga *A. nodosum*, a bactéria *B. thuringiensis* e o fertilizante V6®. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 7).

Era esperado um melhor controle do tratamento com fungicida visto que, trata-se de um controle químico amplamente utilizado pelos produtores que apresenta excelente controle tanto da mancha angular quanto da antracnose na cultura do feijão. O hidróxido de fentina é um fungicida de contato do grupo químico organoestânico, este grupo é classificado como inibidores multi-sítio, prevenindo a germinação de esporos e inibindo o metabolismo de fungos, particularmente a respiração, inibem a fosforilação oxidativa na mitocôndria e induzem a peroxidação de lipídios (FRAC, 2005).

Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença de mancha angular (*Pseudocercospora griseola*) média na planta inteira em função dos tratamentos realizados em feijão, cultivar Uirapuru. Época 1 e 2, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamentos                               | 1ª época | 2ª época |
|-----------------|-------------------------------------------|----------|----------|
| Controle        | Testemunha                                | 15,10 a* | 7,55 ns  |
| Químico         | fungicida - hidróxido de fentina          | 0,35 c   | 7,94     |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 0,09 c   | 7,86     |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 2,94 c   | 5,26     |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 7,10 b   | 7,22     |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 5,28 b   | 5,09     |
| Indutores       | fosfito de cobre                          | 7,19 b   | 5,68     |
|                 | fosfito de manganês                       | 4,27 b   | 6,95     |
|                 | fosfito de potássio                       | 5,98 b   | 6,93     |
|                 |                                           |          |          |
| Micronutrientes | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 4,33 b   | 7,02     |
|                 | Manganês                                  | 5,76 b   | 7,21     |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 3,51 c   | 6,89     |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 7,13 b   | 6,62     |
| C.V. (%)        |                                           | 50,34    | 27,76    |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; ns = não significativo; C.V.= coeficiente de variação.

O tratamento com *A. nodosum*, não diferiu estatisticamente do fungicida, *B. thuringiensis* e V6®. O uso de algas marinhas vem sendo uma alternativa ecologicamente sustentável no controle de doenças de plantas. *Ascophyllum nodosum* é um exemplo de espécie que habita águas salgadas (UGARTE; SHARP; MOORE, 2006), diversos estudos têm apontado o potencial de uso dos extratos de algas para incrementar o desenvolvimento vegetal, algumas vezes com consequentes aumentos na produção, sendo também relatado aumento da

tolerância vegetal à estresses bióticos e abióticos. Autores relatam que, mesmo em baixas concentrações, os produtos à base de extratos de algas afetam o desenvolvimento vegetal, sugerindo que os derivados dos extratos de algas possuem compostos bioativos (KHAN et al., 2009; CARVALHO et al., 2013, 2014).

As algas podem atuar de forma direta no controle dos patógenos, através do controle total ou parcial dos microrganismos, podendo interferir também na virulência de agente patogênicos, além favorecer a promoção de crescimento de microrganismos benéficos as plantas que podem atuar como antagonistas de fitopatógenos. Já indiretamente podem atuar através de respostas vegetais, como síntese e aumento da atividade enzimática (como quitinase e peroxidase), alteração do metabolismo secundário, síntese de compostos de defesa (fitoalexinas, flavanóides e terpenóides) além da síntese e ou degradação de hormônios (como auxinas, citocininas, giberelinas e ácido jasmônico) sendo esses responsáveis pela abscisão foliar (CARVALHO; CAMARGO CASTRO, 2014).

Há relatos do uso dessa alga no controle de *Colletotrichum* spp. em pimentas dedo-de-moça (*Capsicum baccatum*) em pós-colheita (SILVA et al., 2011). Encontra-se também trabalhos no controle da bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de *Arabidopsis thaliana* (SUBRAMANIAN et al., 2011). A mesma alga também diminuiu a severidade de doenças causadas por *Alternaria radicina* e *Botrytis cinerea* em folhas de cenoura (JAYARAJ et al., 2008) e *Monilinia fructicola* (OLIARI, 2014).

Entretanto resultados satisfatórios não foram encontrados por Nesi et al. (2013), onde os autores não encontraram efeito do uso da alga no controle de *Mycosphaerella fragariae* na cultura do morango.

Devido a busca por alternativas de controle, aos fitopatógenos, menos impactantes ao homem e ao meio ambiente, o método biológico vem ganhando grande espaço e trazendo resultados positivos, a exemplo do uso da bactéria do gênero *Bacillus*. As espécies do gênero *Bacillus* são consideradas potenciais agentes de biocontrole de patógenos foliares e de solo (McSPADDEN GARDENER DRIKS, 2004; JACOBSEN; ZIDACK; LARSON, 2004). Estas bacterias produzem uma ampla gama de lipopeptídeos bioativos, compostos que suprimem os patógenos das plantas através do mecanismo de antibiose (CHEN et al., 2009). Há relatos na literatura do uso dessa bactéria para controle de fitopatógenos entretanto,

*B. thuringiensis* é mais utilizado como inseticida, e no presente trabalho foi a espécie de *Bacillus* que apresentou menores valores da AACPD.

Segundo Maheshwari (2013) essa bactéria acumulou proteínas PR em plantas de café, reduzindo a incidência e severidade de *H. vastatrix*. Ainda segundo o mesmo autor, em plantas de milho, *B. thuringiensis* possui capacidade de indução de resistência contra podridões de colmo causadas por *Erwinia carotorovora*, pois suprime a percepção de quorum (quorum sensing) de virulência do patógeno, mecanismo de comunicação entre as bactérias que determinam a patogenicidade.

Outro tratamento com menor valor de severidade da mancha angular, foi o fertilizante foliar V6® (Tabela 7). Esse tratamento é composto por manganês (2,5%), zinco (1,9%) e molibdênio (0,16%). Já foi relatado os efeitos da nutrição mineral sobre o crescimento e a produtividade das culturas, além de poder agir alterando a resistência das plantas contra pragas e doenças (MARSCHNER, 1995).

O nutriente molibdênio, também pode indiretamente contribuir para a prevenção de doenças, pois participa da ativação das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase, enzimas chaves do metabolismo do nitrogênio em plantas superiores (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo Jesus Júnior (2001), o desenvolvimento e a produção de plantas de feijão pulverizadas com molibdênio via foliar, inoculadas com *U. appendiculatus* e *P. griseola*, apresentaram redução na severidade das doenças, bem como promoveu incremento na área foliar, na taxa fotossintética líquida e na produção da cultura do feijão.

O zinco é um dos principais micronutrientes da nutrição das plantas, pois participa em vários processos metabólicos, além de contribuir para diminuir ou intensificar a incidência de algumas doenças (CARVALHO et al., 2008).

Dorneles (2005), avaliou a possibilidade de controle da mancha angular no feijão por meio de pulverização foliar com biofertilizante líquido. Entretanto, os biofertilizantes testados pouco contribuíram para a redução da doença. Segundo o autor, o fósforo, manganês e enxofre são os macronutrientes que menos se relacionam com a ocorrência de doenças, pois a carência destes nutrientes altera pouco as barreiras mecânicas e a síntese de toxinas como as fitoalexinas.

Os demais tratamentos avaliados no presente trabalho, não apresentaram diferença estatística entre si (Tabela 7).

O indutor ASM vem sendo amplamente utilizado no controle de doenças através, da indução de resistência em plantas. O ASM não possui ação direta sobre

o patógeno, mas pode ser rapidamente absorvido pelos tecidos foliares e ativar, sistematicamente, a resistência pela interferência em processos fisiológicos e bioquímicos das plantas (DEBONA et al., 2009). Trabalhos já foram realizados na cultura do mamão no controle da antracnose (DANTAS et al. 2004). Entretanto o mesmo resultado não foi obtido por Silva et al., (2008) no controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro, por Toyota (2008) no controle da ferrugem do cafeeiro e Carvalho (2010) no controle da ferrugem asiática da soja, quando os indutores de resistência foram aplicados isoladamente.

No entanto, melhores resultados desses produtos, podem ser potencializados associando-os a fungicidas tradicionalmente utilizados para o controle da doença ou outro tratamento, a exemplo o biológico. Pode-se citar o controle de mancha angular no feijão em trabalho realizado por Viecelli et al. (2010) e Garcia e Romeiro (2011) onde os autores associaram do o indutor ao controle biológico com o fungo *Pycnopus sanguineus*.

Também como forma alternativa ao controle químico, tem-se o uso de fosfito no controle de doenças, podendo o tratamento agir diretamente sobre o patógeno ou indiretamente, induzindo a resistência sistêmica na planta, pela síntese de fitoalexinas, compostos fenólicos e PR-proteínas (proteínas relacionadas à patogênese) (CARMONA; SAUTUA, 2011).

Há relatos no controle de diversos patógenos em diferentes culturas, como exemplo o trabalho de Gadaga (2009) que relatou eficiência da aplicação de fosfitos de potássio, zinco, manganês e potássio no controle da antracnose do feijão, entretanto não houve eficiência no controle da mancha angular. Resultados satisfatórios com o uso de fosfito, também foram relatados por Ribeiro Júnior (2008) no controle de ferrugem no café, por Peruch e Bruna (2008) no controle do míldio na videira e no controle da mancha bacteriana do tomate (NASCIMENTO et al., 2008). Na segunda época de semeadura, não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 7).

#### 5.4.1 Componentes de produção e produtividade

Na primeira época de semeadura houve diferença entre os tratamentos quando avaliado os componentes de produção somente para as variáveis número

de vagem por planta e número de grãos por vagem. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável produtividade (Tabela 8).

Tabela 8 - Componentes de rendimento: plantas por m, vagens por planta, grão por vagem e produtividade (Kg ha<sup>-1</sup>) em função dos tratamentos realizados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), cultivar Uirapuru, época 1 e 2, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Época 1         |                                           |                   |                  |                 |               |
|-----------------|-------------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------|
| Grupo           | Tratamentos                               | Plantas por metro | Número de vagens | Número de grãos | Produtividade |
| Controle        | Testemunha                                | 10,75 ns          | 121,25 a*        | 673,25 a        | 3946,13 ns    |
| Químico         | fungicida - hidróxido de fentina          | 9,00              | 89,00 b          | 504,25 b        | 2843,48       |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 13,25             | 93,75 b          | 542,25 b        | 3552,67       |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 7,75              | 79,50 b          | 441,25 b        | 3868,59       |
| Indutores       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 9,00              | 91,00 b          | 502,00 b        | 3847,95       |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 10,00             | 91,75 b          | 501,50 b        | 2529,13       |
|                 | fosfito de cobre                          | 10,25             | 113,00 a         | 619,75 a        | 3407,70       |
|                 | fosfito de manganês                       | 10,25             | 121,00 a         | 692,00 a        | 3305,38       |
| Micronutrientes | fosfito de potássio                       | 10,00             | 126,25 a         | 687,75 a        | 3172,07       |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 11,50             | 122,25 a         | 491,50 b        | 2840,41       |
|                 | Manganês                                  | 9,00              | 84,25 b          | 468,00 b        | 3484,94       |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 9,50              | 86,75 b          | 495,50 b        | 2885,94       |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 8,75              | 89,75 b          | 469,25 b        | 2704,35       |
| C.V. (%)        |                                           | 17,22             | 17,44            | 13,51           | 12,74         |
| Época 2         |                                           |                   |                  |                 |               |
| Grupo           | Tratamentos                               | Plantas por metro | Número de vagens | Número de grãos | Produtividade |
| Controle        | Testemunha                                | 14,00 a*          | 109,75 a         | 529,75 b        | 5001,09 c     |
| Químico         | fungicida - hidróxido de fentina          | 11,25 b           | 112,00 a         | 595,25 a        | 8524,17 a     |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 14,25 a           | 98,50 b          | 491,50 b        | 4984,27 c     |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 13,50 a           | 121,00 a         | 552,25 a        | 5361,03 c     |
| Indutores       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 12,50 b           | 103,25 b         | 498,25 b        | 4802,52 c     |
|                 | acibenzolar-S-metílico                    | 14,25 a           | 127,00 a         | 603,00 a        | 6215,05 b     |
|                 | fosfito de cobre                          | 11,50 b           | 114,00 a         | 594,25 a        | 5624,34 b     |
|                 | fosfito de manganês                       | 13,75 a           | 93,00 b          | 546,50 a        | 6189,08 b     |
| Micronutrientes | fosfito de potássio                       | 13,75 a           | 114,75 a         | 575,50 a        | 6032,77 b     |
|                 | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 13,75 a           | 111,50 a         | 599,25 a        | 4672,08 c     |
|                 | Manganês                                  | 14,25 a           | 98,00 b          | 486,00 b        | 4817,85 c     |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 13,50 a           | 112,25 a         | 491,00 b        | 5709,11 b     |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 11,00 b           | 96,75 b          | 458,50 b        | 4716,57 c     |
| C.V. (%)        |                                           | 11,88             | 9,62             | 11,62           | 14,63         |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; ns = não significativo; C.V.= coeficiente de variação.

Na segunda época quando analisada a variável planta por metro, os tratamentos fungicida, *B. subtilis*, fosfito de cobre e Wert plus® apresentaram um menor número de plantas, já os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre da testemunha. Número de vagens por planta, os únicos tratamentos que

diferiram estatisticamente da testemunha foram *A. nodosum*, *B. subtilis* e fosfito de manganês.

Para a variável grãos por vagem, os tratamentos que não diferiram da testemunha foram *A. nodosum*, *B. subtilis* e manganês. A maior produtividade foi obtida pelo fungicida.

Segundo Kuhn (2007) uma diversidade de situações pode acontecer enquanto ocorre o desenvolvimento de uma planta juntamente com o processo de indução de resistência. Uma das alterações pode se dar principalmente, pela variação nas condições de crescimento da planta. Devido a isto, a produtividade mostra dependência em função da dose do indutor, da condição nutricional e da interação biológica a que estão sujeitas.

Gadaga (2009) avaliando diferentes tratamentos no controle de antracnose e mancha angular na cultura do feijão relatou que a produtividade da cultura foi incrementada com a aplicação dos fosfitos de potássio, zinco, manganês e potássio juntamente com ácido salicílico e fungicida Amistar.

Na literatura é possível encontrar diversos trabalhos com o indutor ASM na redução de severidade de doenças, entretanto este tratamento não interfere de forma direta na produtividade de algumas culturas, como exemplo o trabalho de Godard et al., (1999) com a cultura da couve-flor, com controle de míldio (*Peronospora* sp.) com o uso de ASM, em diferentes concentrações. Os autores observaram que a doença pode ser controlada em diferentes níveis, dependendo da concentração utilizada, entretanto ocorria uma redução na altura das plantas.

Resultado semelhante foi relatado em campos cultivados com tomate, o ASM foi aplicado semanalmente, reduzindo a severidade da mancha bacteriana causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, entretanto a produção total não foi significativamente afetada pelo tratamento com o indutor ou pelo tratamento-padrão (LOUWS et al., 2001). Iriti e Faoro (2003) também observaram redução número de vagens e peso seco das sementes, na cultura do feijão, quando induzido com ASM (140 mg L<sup>-1</sup>).

O ASM é um eliciador químico de resistência da planta. Segundo Kuhn e Pascholati (2010) quando os mecanismos de defesa da planta são ativados, há um custo energético que compromete algumas de suas funções como a reprodução, reduzindo assim muitas vezes a sua produtividade.

Estes trabalhos mostram claramente a influência sobre o desenvolvimento das plantas e na sua produtividade, em função da dose utilizada e da quantidade de aplicações dos elicitores. Muitos trabalhos não mostram redução da produtividade nas culturas onde se utiliza o indutor, entretanto, espera-se um aumento na produtividade das culturas quando ocorre redução da severidade da doença.

Alguns trabalhos apresentam aumento de produtividade por parte das plantas em função dos indutores bióticos utilizados, sendo que alguns apresentam características que os classificam como promotores de crescimento, como bactérias e algas, exemplos de tratamentos utilizados no presente trabalho. Entretanto outros agentes biológicos, como exemplo a bactéria *B. cereus*, não apresenta essas características, apenas a capacidade de induzir resistência contra patógenos, portanto, não poderia aumentar a produtividade.

O uso de *B. subtilis* também é comprovado no aumento de produtividade das culturas, a exemplo do trabalho de Kehlenbeck e Schönbeck (1995) na cultura da cevada.

Albuquerque; Albuquerque e Evangelista (2014) avaliaram o efeito de solução de extrato da alga *A. nodosum* sobre a produção e qualidade dos cachos de uvas, crescimento vegetativo e teor de nutrientes nas bagas e relataram que com o uso da alga obtiveram maior vigor da brotação, favorecendo o crescimento dos brotos, o número e a biomassa de folhas por planta; aumento de produção e melhor qualidade das uvas, com maior quantidade de cachos comerciáveis; aumento dos teores de cálcio (Ca), cobre (Cu) e zinco (Zn) nas bagas de uvas.

## 5.5 QUALIDADE SANITÁRIA

Na avaliação das sementes colhidas, em ambas as safras, houve incidência de fungos patogênicos e saprófitas. As sementes constituem o mais eficiente agente de transporte e disseminação dos patógenos, e ainda no abrigo mais seguro à sua sobrevivência (SILVA et al., 2014). A distribuição de sementes é aleatória e propicia focos primários de infecção no campo, na fase inicial da cultura (BARROS, 2011). Vale à pena salientar que uma única semente germinada ou não, pode carregar, concomitantemente, várias espécies de patógenos (MACHADO, 1994).

Na primeira época, os organismos potencialmente patogênicos foram *Fusarium* sp, *Colletotrichum truncatum* e *Phomopsis* sp. (Tabela 9). *Fusarium* sp, teve maior incidência na testemunha, no tratamento biológico com *A. nodosum* e *B. subtilis*, fosfito de potássio e fertilizante High Roots®. Os tratamentos que apresentaram menor incidência do patógeno foram o indutor ASM e os fertilizantes foliares V6® e Wert Plus®, resultados esses que superam o controle realizado pelo tratamento fungicida.

O gênero *Fusarium* sp, pode causar na cultura do feijão a murcha ou amarelecimento de fusarium, causada pela espécie *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder. Esse patógeno ocorre em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil, sua importância tem aumentado principalmente em cultivos intensivos da mesma cultura na mesma área (PAULA JÚNIOR et al., 2004). Trata-se de um habitante do solo, transmitido principalmente por meio de sementes infestadas, por resíduos de cultura infectados ou por implementos agrícolas contaminados (SARTORATO et al., 1987; TOLEDO-SOUZA et al., 2008). A Portaria do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento estabeleceu nível de tolerância zero para algumas Pragas Não Quarentenárias Regulamentadas (PNQR), dentre elas o agente causal da murcha de Fusarium (BRASIL, 2009).

Outro patógeno de grande importância, detectado no presente trabalho, foi o fungo *Colletotrichum truncatum*, a maior incidência foi encontrada nos tratamentos com fungicida, controle biológico com *A. nodosum*, *B. thuringiensis*, o indutor ASM, além do fosfito de cobre e o nutriente Wert Plus® (Tabela 9).

*Colletotrichum truncatum* causa doença em outras espécies, como soja, lentilha, feijão-fava, feijão caupi, pitaia, pimenta (CAVALCANTE et al., 2012; ARMSTRONG; CHERYL, 2004; BANNIZA, 2006; DIAO et al., 2015; CARVALHO, 2009; WEIDEMANN et al., 1988), sendo a doença conhecida como antracnose (MOTA 2013), no Brasil seu principal hospedeiro é a soja.

Na cultura do feijão (WEIDEMANN et al., 1988) a doença foi denominada como sarna do feijão, com danos que podem chegar a 100% da lavoura. Por ser uma doença detectada recentemente na cultura do feijão, ainda não são bem conhecidas às medidas de controle (MOTA, 2013). Entretanto como o fungo pode ser transmitido pelas sementes, recomenda-se o emprego de sementes de boa qualidade fitossanitária, assim como não cultivar o feijão no sistema de semeadura

direta após a cultura de milho ou sorgo, se houver histórico da doença (SARTORATO, 2006).

*Phomopsis* sp. é um fungo potencialmente patogênico e apresentou incidência na maioria dos tratamentos no presente trabalho, exceto nos fosfitos de manganês e potássio (Tabela 9). O tratamento com maior incidência foi o fungicida, sendo superior a testemunha. As sementes apresentavam-se enrugadas e recobertas por frutificações negras, por onde era liberado uma massa gelatinosa, constituída pelos conídios do fungo. Segundo Gomes (2012) espécies do gênero *Diaporthe Nitschke* (fase anamórfica *Phomopsis* Sacc. Bubák) têm sido descritas em uma ampla gama de hospedeiros em todo o mundo como fitopatogênicas de importância econômica, endofíticas, saprofíticas e recentemente foram descritas causando problemas de saúde em humanos e outros mamíferos. O gênero *Diaporthe* causa doenças em outras espécies de plantas no Brasil como algodão (BÉLOT; ZAMBIASI, 2007), feijão (SOUZA, 2011; GONZAGA; QUEIROZ, 2010), café (ANJOS et al., 2001, VEGA et al., 2010) e soja (LEITE et al., 2013; GOMES, 2012).

Foram encontrados ainda nas sementes da primeira época, os fungos do gênero *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. (Tabela 9). *Trichoderma* sp. teve maior incidência no tratamento com o nutriente Hight Roots® e nenhuma incidência nos tratamentos *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, nos fosfitos de manganês e potássio e nos nutrientes V6® e Wert Plus®. Já o gênero *Aspergillus*, apareceu com menor frequência nos tratamentos, somente na testemunha, fosfito de potássio e Hight Roots apresentaram maior incidência do fungo. *Penicillium* sp. também apresentou baixa incidência nos tratamentos, não ocorrendo diferença significativa entre eles.

Espécies do gênero *Aspergillus* foram observadas em sementes de feijão (COUTINHO et al., 2004) e em feijão macassar, também conhecido como feijão-de-corda (TORRES; BRINGEL, 2005).

Na segunda época houve a incidência dos *Fusarium* sp., *Alternaria alternata*, *Phomopsis* sp. e *Aspergillus* sp. (Tabela 10). Os tratamentos *B. thuringiensis*, ASM, fosfito de manganês, Hight Roots®, V6® e Wert Plus® apresentaram menor incidência de *Fusarium* sp., em relação aos demais tratamentos. Para a incidência de *Aspergillus* e *Phomopsis* não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 10).

Segundo Barros (2011) o principal meio de disseminação da maior parte das doenças do feijão em nível de lavoura, são por sementes contaminadas, os principais patógenos associados às sementes de feijão: *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *C. lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium* sp., *Isariopsis griseola*, *M. phaseolina*, *Phomopsis* sp., *R. solani*, *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Xanthomonas phaseoli* e o vírus do mosaico comum do feijão.

No Brasil, os produtores de feijão normalmente reservam parte dos grãos produzidos e utilizam como sementes. Estas sementes podem resultar em uma mistura de variedades, com alto teor de umidade, baixa taxa de germinação e de vigor, ponto de maturidade, danificação mecânica, além de poder contribuir para disseminação de pragas e patógenos, resultando em redução de produção, produtividade e qualidade dos grãos produzidos (ZAMBOLIM, 2005; FREITAS, 2007).

Tabela 9 - Incidência (%) de patógenos em sementes em função dos tratamentos realizados em campo no feijão (*Phaseolus vulgaris*) na área experimental Fazenda Capão da Onça, época 1 - safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamentos                               | <i>Fusarium</i> sp | <i>Aspergillus</i> sp. | <i>Colletotrichum truncatum</i> | <i>Phomopsis</i> sp. | <i>Trichoderma</i> sp. | <i>Penicillium</i> sp. |
|-----------------|-------------------------------------------|--------------------|------------------------|---------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| Controle        | Testemunha                                | 80,5 a*            | 1,0 ns                 | 2,0 b                           | 0,5 b                | 5,5 b                  | 1,0 a                  |
| Químico         | fungicida<br>hidróxido de fentina         | 61,5 b             | 0,5                    | 5,0 a                           | 5,5 a                | 0,0 c                  | 0,0 a                  |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 82,5 a             | 0,5                    | 3,5 a                           | 0,5 b                | 1,5 c                  | 0,0 a                  |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 61,0 b             | 0,0                    | 6,5 a                           | 1,5 b                | 0,0 c                  | 0,0 a                  |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 77,0 a             | 0,0                    | 1,0 b                           | 1,5 b                | 0,0 c                  | 0,0 a                  |
| Indutores       | acibenzolar-S-metílico                    | 29,0 d             | 0,5                    | 5,5 a                           | 2,0 b                | 1,0 c                  | 2,0 a                  |
|                 | fosfito de cobre                          | 37,0 c             | 0,5                    | 6,0 a                           | 1,5 b                | 8,0 b                  | 1,0 a                  |
|                 | fosfito de manganês                       | 57,0 b             | 0,0                    | 0,0 b                           | 0,0 b                | 0,0 c                  | 1,0 a                  |
|                 | fosfito de potássio                       | 77,5 a             | 1,0                    | 0,0 b                           | 0,0 b                | 0,0 c                  | 0,0 a                  |
| Micronutrientes | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 73,5 a             | 1,5                    | 2,0 b                           | 1,0 b                | 14,0 a                 | 0,5 a                  |
|                 | Manganês                                  | 47,0 c             | 0,0                    | 0,5 b                           | 1,5 b                | 0,5 c                  | 0,0 a                  |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 18,5 d             | 0,0                    | 2,5 b                           | 1,5 b                | 0,0 c                  | 0,0 a                  |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert plus®)        | 28,5 d             | 0,0                    | 3,5 a                           | 1,0 b                | 0,0 c                  | 1,0 a                  |
| C.V. (%)        |                                           | 26,2               | 13,7                   | 23,8                            | 17,8                 | 44,7                   | 12,5                   |

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; Dados originais, para análise os dados foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(x+0,5)/100}$ ; ns = não significativo; C.V.= coeficiente de variação.

Tabela 10 – Incidência (%) de patógenos em sementes em função dos tratamentos realizados em campo no feijão (*Phaseolus vulgaris*) na área experimental Fazenda Capão da Onça, época 2, safra 2015/2016. Ponta Grossa - PR, 2017.

| Grupo           | Tratamentos                               | <i>Fusarium</i><br>sp | <i>Aspergillus</i><br>sp | <i>Phomopsis</i><br>sp |
|-----------------|-------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|
| Controle        | Testemunha                                | 33,5 a*               | 1,5 ns                   | 0,0 ns                 |
| Químico         | fungicida - hidróxido de fentina          | 21,0 a                | 0,0                      | 2,0                    |
| Biológicos      | <i>Ascophyllum nodosum</i>                | 14,5 a                | 0,5                      | 0,5                    |
|                 | <i>Bacillus thuringiensis</i>             | 0,0 b                 | 0,0                      | 0,0                    |
|                 | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 22,5 a                | 0,0                      | 1,5                    |
| Indutores       | acibenzolar-S-metílico                    | 7,0 b                 | 1,0                      | 2,5                    |
|                 | fosfito de cobre                          | 23,5 a                | 1,0                      | 0,0                    |
|                 | fosfito de manganês                       | 8,0 b                 | 0,0                      | 0,5                    |
|                 | fosfito de potássio                       | 20,5 a                | 3,0                      | 0,5                    |
| Micronutrientes | N 18%, K <sub>2</sub> O 6% (Hight Roots®) | 0,0 b                 | 0,0                      | 0,0                    |
|                 | Manganês                                  | 20,5 a                | 0,5                      | 0,5                    |
|                 | Mn 2,5%; Zn 1,9%; Mo 0,16% (V6®)          | 9,0 b                 | 0,0                      | 1,0                    |
|                 | Cu 4%; Mn 6%; Zn 3,9% (Wert Plus®)        | 0,0 b                 | 0,0                      | 0,0                    |
| C.V. (%)        |                                           | 26,20                 | 14,56                    | 17,28                  |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; Dados originais, para análise os dados foram transformados em  $\arcsin \sqrt{(x+0,5)/100}$ ; ns = não significativo; C.V.= coeficiente de variação.

## 6 CONCLUSÃO

- No teste *in vitro*, *Bacillus subtilis* apresentou melhor controle no crescimento miceial do patógeno;
- Na folha destacada, somente o tratamento com *Bacillus thuringiensis* apresentou diferença estatística entre os lados aplicados.
- Em casa de vegetação, na folha cotiledonar os menores valores de AACPD foram obtidos nos tratamentos com fungicida (hidróxido de fentina), *Ascophyllum nodosum*, *Trichoderma asperellum* e fosfito de cobre. Para o primeiro trifólio os menores valores foram os tratamentos *Ascophyllum nodosum*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma asperellum*, acibenzolar-S-metílico, fosfito de cobre e potássio. Para o segundo trifólio não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para o terceiro trifólio os maiores valores foram encontrados nos tratamentos com *Bacillus subtilis*, Hight Roots®, V6® e Wert Plus®.
- Em campo, na primeira época o maior valor da AACPD foi encontrado na testemunha, entretanto não houve diferença significativa na produtividade entre os tratamentos. Na segunda época os produtos testados não reduziram a severidade da mancha angular, já a produtividade foi maior para o tratamento fungicida.
- Na qualidade sanitária das sementes, houve incidência de fungos potencialmente patogênicos como *Fusarium* sp., *Colletotrichum truncatum* e *Phomopsis* sp., assim como fungos saprofíticos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. de F. B. **Cultivo do Feijão da Primeira e Segunda Safras na Região Sul de Minas Gerais: Doenças e Métodos de Controle**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafraSulMG/doencas.htm>>. Acesso em: 21 mar. 2015.
- ABREU, G. F. de. **Bioprospecção de Macroalgas Marinhas e Plantas Aquáticas para o Controle da Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2005.
- AGUILAR, M. A. G.; RESENDE, M. L. V.; BEZERRA, K. M. T. Resistência Induzida em cacaueiro contra *Crinipellis perniciosus* pelo “Plant activator”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 215-220, 1998.
- ALBUQUERQUE, T. C. S.; de ALBUQUERQUE NETO, A. A. R.; EVANGELISTA, T. C. Uso de extrato de algas (*Ascophyllum nodosum*) em videiras, cv. Festival. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 23, 2014, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Embrapa uva e vinho, 2014.
- ALVES, A. L.; NUNES, M. **Uso de *Trichoderma* spp. no controle de antracnose na cultura do feijoeiro comum *Phaseolus vulgaris***. **Revista Técnico-Científica do CREA-PR**, 4ª edição, p. 1-14, 2016.
- ANJOS, J. R. N.; CHARCHAR, M. J. A.; GUIMARÃES, D. P. Occurrence of leaf blight caused by *Phomopsis* sp. On aroeira in Federal District, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 649-650. 2001.
- ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J.; BORSATO, L. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. (2008) Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 148-152, 2008.
- ARAÚJO, L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; STADNIK, M. J. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro* e no controle pós-infeccional da mancha foliar de Glomerella em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 54-59, 2010.
- ARMSTRONG, C.; CHERYL, L.; BANNIZA, S. *Glomerella truncata* sp. nov., the teleomorph of *Colletotrichum truncatum*. **Mycological Research**, v. 110, p. 951-956, 2006.
- ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; MELLO, S. C. M. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum***. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 30 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 117).
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Saint Paul, Minnesota: APS Press, 1998. p.218.

BARROS, E. S. **Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão comum no grupo carioca procedente da região centro sul do estado do Sergipe**. 2011. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas) – Universidade Federal do Sergipe, Sergipe, 2011.

BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BAYSAL, O.; TURGUT, C.; MAO, G. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 4, p. 599-604, 2005.

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Fitogard® (K<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, p. 417-425, 2000.

BÉLOT, J. L.; ZAMBIASI, T. C. Manual de identificação das doenças, deficiências minerais e injúrias no cultivo do algodão. **Boletim Técnico**, 36 COODETEC/CIRADCA, Cascavel, 95 p. 2007.

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L. Ambiente e Doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.(Eds). **Manual de Fitopatologia**. v. 1: Princípios e Conceitos. 4ª edição. São Paulo: Ceres, p. 133 - 147, 2011.

BERGER, A. N. **Controle do mofo branco: efeito de pontas e volumes de pulverização em soja e produtos biológicos em soja e canola**. 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2015.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna/SP: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388 p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melaço e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 7, p. 431-435. 1998.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUSS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A. M. C. Controle biológico de doenças de plantas na America Latina. In: ALVEZ, S. B.; LOPES, R. B. (Org). **Controle Microbiano de pragas na America Latina: avanços e desafios**. Piracicaba-SP: FEALQ, 2008. p. 303-327.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M.(Eds). **Manual de Fitopatologia**. v. 2: Doenças das plantas cultivadas. 4ª edição. São Paulo: Ceres, p.333-349, 2005.

BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Induction of systemic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in bean by a benzothiadiazole derivative and rhizobacteria. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 30, n. 2, p. 154-168, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009.

BORGES-PEREZ, A.; FERNÁNDEZ-FALCÓN, M.; BRAVO-RODRIGUES, J. J.; PÉREZ-FRANCES, J. F.; LOPEZ-CARRENO, I. Enhanced of resistance of banana plants (*Dwarf Cavendish*) to *Fusarium oxysporium* f. sp. *cubense* by controlled Zn nutrition under field condition. **Banana News-letter**, v. 14, p. 24-26, 1991.

BORSATO, L. C.; DI PIERO, R. M.; STADNIK, M. J. Mecanismos de defesa eliciados por ulvana contra *Uromyces appendiculatus* em três cultivares de feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 318-322, 2010.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Agrícola janeiro de 2016. Disponível em: <[http://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/estProdA](http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdA)> Capão Bonito: IAC, 2004a. v. 20, p. 55-59.

CARMONA, M.; SAUTUA, F. Os fosfitos no manejo de doenças nas culturas extensivas. **Revista Plantio Direto**, v. 126, p. 19-22, 2011.

CARVALHO, D. O.; POZZA, E. A.; CASELA, C. R.; COSTA, R. V.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, C. A. Adubação nitrogenada e potássica na severidade da antracnose em dois cultivares de milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n.3, p. 380-387, 2013.

CARVALHO, E. A. **Indutores de resistência no manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*)**. 2010. 65 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras – Minas Gerais, 2010.

CARVALHO, E. M. S. **Antracnose em feijão-fava: caracterização do agente causal e reação de genótipos a *Colletotrichum truncatum***. 2009. 69 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção Vegetal) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticaba– São Paulo, 2009.

CARVALHO, M. E. A.; CAMARGO CASTRO, P. R. C. **Extratos de algas e suas aplicações na agricultura**. Universidade De São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, 2014. 58 p.: il. (Série Produtor Rural, nº 56). 2014.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C. Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. Universidade de São Paulo – USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Divisão de Biblioteca – DIBD. **Série Produtor Rural**. n. 56, p. 44. Piracicaba-SP, 2014.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C.; GALLO, L. A.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C. Seaweed extract provides development and production of wheat. **Agrarian**, Dourados, v. 7, n. 23, p. 166-170, 2014.

CARVALHO, V. L.; da CANHA, R. L.; GUIMARÃES, P. T. G.; CARVALHO, J. P. F. Influência do zinco na incidência de doenças do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 804-808, 2008.

CAVALCANTE, G. R. S.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, R. L. F.; SANTOS, A. R. B.; SANTOS, C. M. P. M. Lima Bean subsample reaction to anthracnose. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 329-333, 2012.

CHEN, H.; XIAO, X.; WANG, J.; WU, L.; ZHENG, Z.; YU, Z. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. **Biotechnology Letters**, v. 30, p. 919–923, 2008.

CHEN, H.; XIAO, X.; WANG, J.; WU, L.; ZHENG, Z.; YU, Z. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. **Biotechnology Letters**, v. 30, n. 5, p. 919–923, 2008.

CHEN, M.; XU, Z. S.; XIA, L. Q.; LI, L. C.; CHENG, X. G.; DONG, J. H.; WANG, Q. Y.; MA, Y. Z. Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, GmDREB3, in soybean (*Glycine max* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 121-135. 2009.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Safra 2016/17. v. 4. n. 5, Brasília, p. 1-166, 2017. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_02\\_16\\_11\\_51\\_51\\_boletim\\_graos\\_fevereiro\\_2017.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_02_16_11_51_51_boletim_graos_fevereiro_2017.pdf)>. Acesso em: 08 abri. 2017.

COUTINHO, W. M.; ARAÚJO, E.; ARAÚJO, D. L. Micoflora de sementes de feijão tratadas com extrato de sucupira e com os fungicidas Benomyl e Captan. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 8., 2004, João Pessoa, PB. Palestras e Resumos... João Pessoa, 2004. p.167.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Quantification of monocyclic components of the angular leaf spot of common bean. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n.4, 2003.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L. **Métodos de avaliação das doenças**. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. Cultura do feijão. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. p. 118-132.

DALLA PRIA, M.; CANTERI, M. G.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* e *Alternaria* sp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 23, n. 2, p. 181-183, 1997.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. **Cultura do Feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: UEPG, 2010.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; BEZERRA NETO, E.; SILVA, R. R. L. X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 30, n. 3, p. 314-319, 2004.

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 Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 26-31, 2009.

DIANESE, A. de C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F.; SENA, M. C.; FREITAS, L. F. de. Avaliação do efeito de fosfitos na redução da varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 834-837, 2008.

DIAO, Y.; ZHANG, C.; XU, J.; LIN, D.; LIU, L.; MTUNG, O, G.; LIU, X. Genetic differentiation and recombination among geographic populations of the fungal pathogen *Colletotrichum truncatum* from chili peppers in China. **Evolutionary Applications**, p. 108-1180, 2015.

DORNELLES, M. S. **Avaliação do estado nutricional e do controle da mancha angular em feijoeiro pulverizado com biofertilizantes líquidos**. 2005, 150 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2005.

FERNANDES, W. S. **Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2007, 85 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

FIGUEIREDO, J. E. F.; TEIXEIRA, M. A.; LIMA, G. V. C.; BRESSAN, W.; PINTO, N. F. J.; CASELA, C. R. Atividade antagonista in vitro de *Bacillus subtilis* contra fungos fitopatogênicos do milho e sorgo. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28. 2010, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 667-673.

FRAC. **Fungicide Resistance Action Committe**. FRAC fungicide list (2). Sorted by mode of action. Disponível em: Acesso em: 15 jul. 2017.

FREITAS, F. O. Evidências genético-arqueológicas sobre a origem do feijão comum no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1199-1203, 2006.

FREITAS, R. A. **Patologia de sementes de feijão**. Disponível em: <<http://www.patologia de sementes.com.br.htm>>. Acesso em: 22 jun. 2017.

GABARDO, G. **Controle de doenças na cultura da soja com produtos alternativos**. 2015, 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

GADAGA, S. J. C. **Fosfitos na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) contra a antracnose**. 2009, 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

GADAGA, S. J. C.; ABREU, M. S.; RESENDE, M. L. V.; RIEIRO JUNIOR, P. M. Phosphites for the control of anthracnose in common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 52, n. 1, p. 36-44. 2017.

GAO, X.; HAN, Q.; CHEN, Y.; QIN, H.; HUANG, L.; KANG, Z. Biological control of oilseed rape *Sclerotinia* stem rot by *Bacillus subtilis* strain Em7. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 24, n.1, p. 39-52, 2013.

GARCIA, F. A. O; ROMEIRO, R. S. Biocontrole da mancha angular do feijoeiro por antagonistas bacterianos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1603-1608, 2011.

GODARD, J. F.; ZIADI, S.; MONOT, C.; LE CORRE, D.; SILUÉ, D. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. **Crop Protection**, Guildford, v. 18, n. 6, p. 397-405, 1999.

GODOY, C. V.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; IMAUTI, M. T.; DALLA PRIA, M.; AMORIM, L. R. D.; BERGAMIN, A.; GODOY, C. V. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. **Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1996.

GOMES, R. R. **Filogenia e taxonomia do gênero *Diaphorte* e a sua aplicação no controle biológico da mancha preta dos citros**. 2012. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba - Paraná, 2012.

GONZAGA, L. L.; QUEIROZ, M. V. 2010. **Isolamento e Identificação de Fungos Endofíticos do Tecido Foliar de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da Zona da Mata Mineira**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Viçosa. 2010.

GRIGOLETTI JR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso de controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, 2000.

HEIL, M.; HILPERT, A.; KAISER, W.; LINSENMAIR, K. E. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation cost? **Journal of Ecology**, Oxford, v. 88, n. 4 p. 645-654, 2000.

HEMKEMEIER, N. P.; DILDEY, O. D. F.; GONÇALVES, E. D. V.; DAL'MASO, E. G.; VAZ, V. F.; COLTRO, S.; MEINERZ, C. C.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R. Exsudatos de *Trichoderma harzianum* como indutor de resistência através da indução de fitoalexinas para controle de *Pseudocercospora griseola* em feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, 2013 XLVI Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Ouro Preto MG Copyright by the Brazilian Phytopathological Society. Disponível em: <<http://www.sbfito.com.br>>

HEMP, S.; MASSIGNA, A. M. **Considerações sobre a cultura do feijoeiro comum e a ocorrência de mancha-angular (*Phaeoisariopsis griseola* Sacc.) no Estado de Santa Catarina - Brasil**. 2004. Disponível em: <[http://www.cnpaf.embrapa.br/negocios/ser\\_doc/doc\\_132/132\\_3.html](http://www.cnpaf.embrapa.br/negocios/ser_doc/doc_132/132_3.html)>. Acesso em: 16 mai. 2017.

HENNING, A.A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1994. 43p. Documentos nº 90.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 4 - 10. 2003.

HUBER, D. M. Papeis do nitrogênio e do enxofre na incidência e resistência a doenças de plantas. In: Simpósio sobre relações entre nutrição mineral e incidência de doenças em plantas, **Potafós - Associação Brasileira para pesquisa da Potassa e Fósforo**, Piracicaba, São Paulo. 2005.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. 2011. **Cartas Climáticas do Paraná**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=597>>.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, n. 3, p. 171-180, 2003.

ITO, M. F.; CASTRO, J. L.; ITO, M. A.; CUNHA, V. L. P. **Controle químico de doenças do feijoeiro**. In: DIA DE CAMPO DE FIEJÃO, 20, 2004, Capão Bonito. **Anais...** Capão Bonito: IAC, 2004. v. 20, p. 55-59.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 147-154, 2000.

JACOBSEN B. J.; ZIDACK N. K.; LARSON, B. J. The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems: Plant diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 11, p. 1272-1275, 2004.

JACQUES, F. L. **Efeito de produtos alternativos *in vitro* e em casa de vegetação no controle de *Colletotrichum graminicola***. 2015, 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

JAYARAJ, J.; WAN, A.; RAHMAN, M.; PUNJA, Z. K. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 27, n. 10, p. 1360-1366, 2008.

JESUS JUNIOR, W. C. **Effects of angular leaf spot and rust on plant growth and yield of *Phaseolus vulgaris***. 2001. 96 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

KAMIKOGA, A. T. M. Método da folha destacada para avaliar resistência da soja ao oídio. **Scientia Agraria**, v. 3, n. 1, p.113-132, 9 jun. 2002.

KEHLENBECK, H.; SCHÖNBECK, F. Effects of induced resistance on disease severity/yield relations in mildewed barley. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 143, n. 9, p. 561-567, 1995.

KESER, M.; SWENARTON, J. T.; FOERTCH, J. F. Effects of thermal input and climate change on growth of *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) in eastern Long Island Sound (USA). **Journal of Sea Research**, Amsterdam, v. 54, p. n. 3, 211-220, out. 2005.

KHAN, W.; RAYIRATH, U.P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES, D.M.; CRITCHLEY, A.T.; CRAIGIE, J.S.; NORRIE, J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 28, n. 4, p. 386-399, 2009.

KUHN, O. D. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção.** 2007, 140 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura, "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2007.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzilar – S – metil atividade de enzimas, sintrose de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 107-114, 2010.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 113-121, 2008.

LEITE, T. S.; CNOSSEN-FASSONI, A.; PEREIRA, O. L.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARAÚJO, E. F.; QUEIROZ, M. V. Novel and highly diverse fungal endophytes in soybean revealed by the consortium of two different techniques. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 56-69. 2013.

LIU, S. Y.; LIU, Z.; FITT, B. D. L.; EVANS, N.; FOSTER, S. J.; HUANG, Y. J.; LATUNDE –DADA, A. O.; LUCAS, J. A. Resistance to *Leptophacteria maculans* (phoma stem canker) in *Brassica napus* (oilseed rape) induced by *L. biglobosa* and chemical defence activators in field and controlled environments. **Plant Pathology**, v. 55, n. 3, p. 401-412, 2006.

LOBATO, M. C.; OLIVIERI, F. P.; DALEO, G. R.; ANDRE, A. B. Antimicrobial activity of phosphites against diferente potato pathogens. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 117, p. 102-109, 2010.

LOUWS, F. J.; WILSON, M.; CAMPBELL H. L. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 5, p. 481 - 488, 2001.

MACHADO, J. C. Padroes de tolerância de patógenos associados a sementes. **Revisao Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, p. 229-263, 1994.

MAHESHWARI, D. K. (Ed.). **Bacteria in Agrobiology: Disease Management**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. 495 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889p.

MCSPADDEN GARDENER, B. B.; DRIKS A. Overview of the nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 11, p. 1244, 2004.

MELLO, S. C. M., ÁVILA, Z. R., BRAÚNA, L. M., PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidade**, v. 11, n. 1, p. 3-9, 2007.

MINUZZI, S. G. Eficiencia de tratamentos fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola* na cultura do feijão. **Anais**, 16º Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão Unifra, Santa Maria, RS. 2012. p. 16-24.

MONTEIRO, A. C. A. **Associação de Indutores de resistência para manejo da Ferrugem do Cafeeiro e Análise bioquímica da resposta de defesa induzida**. 2011, 87 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

MONTEIRO, L. **Produção de substâncias bioativas de *Bacillus* spp. contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. 2002, 74 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

MOTA, S. F. **Variabilidade de *Colletotrichum* spp. no feijoeiro comum**. Dissertação 96 f (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 2013.

NASCIMENTO, A. dos R.; FERNANDES, P. M.; ROCHA, M. R. da; SILVA, E. A. da. Fontes de fosfito e acibenzolar-s-metil no controle de doenças e produtividade do tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 1, p. 53-59, 2008.

NESI, C. N.; KUHN, T. M. A.; ARAÚJO, E. S.; MÓGOR, A. F.; MAY DE MIO, L. L. Avaliação de extrato de algas no progresso temporal da mancha de mycosphaerella em cultivares de moranguei. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n.1, p. 038-042, 2013.

NGUGI, H. K.; DEDEJ, S.; DELAPLANE, K. S.; SAVELLE, A.T.; SCHERM, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, San Diego, v. 33, n. 1, p.32-38, 2005.

NOBRE, S. D. N. **Reação de genótipos e efeitos de produtos químicos no controle do oídio (*Erysiphe difusa*) da soja**. 2005. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília. Departamento de Fitopatologia. Universidade de Brasília. 2005.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V. de; 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**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 60-62, 2009.

NUNES, W. Relação entre a nutrição mineral e doenças do feijoeiro irrigado no entorno do Distrito federal. **Anais do Workshop Relação entre nutrição de plantas e incidência de doenças**. Piracicaba: Potafós, 08 e 09 de maio de 2002, Palestra. Disponível em: <<http://www.potafos.com>> Acesso em: 20 abr. 2017.

OLIARI, I. C. R. **Extrato de algas no controle da podridão parda e na qualidade pós-colheita de ameixas**. 2014, 89 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2014.

OLIVEIRA, S. M. A. **Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn) Scribner por sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seu controle através de tratamento químico e biológico**. 1991, 72 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" Universidade de São Paulo, Piracicaba: 1991.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-454

PAULA JÚNIOR, T. J. de; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, p.360-414, 2006.

PAULERT, R.; TALAMINI, V.; CASSOLATO, J. E. F.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M.; SMANIA JÚNIOR, A.; STADNIK, M. J. Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata* on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Germany, v. 116, n. 6, p. 263-270, 2009.

PEDRO, E. A. S.; HAKAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Update world map of the Köppen–Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, Victoria, Australia v. 11, p. 1633-1644, 2007.

PERUCH, L. A. M.; BRUNA, E. D. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 9, p. 2413-2418, 2008.

PETRAS, S. F.; CASIDA JUNIOR, L. E. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, n. 6, p. 1496-1501, 1985.

POLANCO, L. R. **Controle da antracnose do feijão com silício e molibdenio e mecanismos de Resistência potencializados pelo silício**. 2011. 96 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (2011). Disponível em: <http://www.R-project.org/>

RAM, A.; CASTRO, R. M. Bion 500 WGO protegendo o cacaueiro contra a infecção de *Crinipellis pernicioso* sob condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2 p. 356, 2000.

REIS, E. M.; KIMATI, H. Cultivo de folhas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) destacadas, para testes fitopatológicos. In: Reunião Conjunta de Pesquisa, 1974, Porto Alegre. **Resumo**. Porto Alegre: 1974, p. 140.

REIS-PRADO, F. G.; SARTORATO, A.; COSTA, J. G. C.; RAVA, C. A.; SIBOV, S. T.; PINHEIRO, J. B.; CARNEIRO, M. S. Reação de cultivares de feijoeiro comum à mancha angular em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 306-309, 2006.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANINI, G. R.; CASTRO, R. M. Perspectivas da indução de resistência em cacaueiros contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 149-156, 2000.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

RIBEIRO JUNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V.; PEREIRA, R. B.; CAVALCANTI, F. R.; AMARAL, D. R.; PÁDUA, M. A. Fosfite de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb., em mudas de cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 629-636, 2006.

ROMEIRO, R. S.; KIMURA, O. Induced resistance in pepper leaves infiltrated with purified bacterial elicitors from *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*. **Journal of Phytopathology**, v. 145, n. 4, p. 495-498, 1997.

SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. Ed. Viçosa/MG: Editora UFV, 2006. p. 41-65.

SANTOS, S. L.; BERNARDI, C. A.; da CRUZ, M. P.; HILMANN, T.; MAZARO, S. M. Potencial de fosfitos no controle de *Fusarium oxysporium* em condições *in vitro*. In: III CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UTFPR- CÂMPUS DOIS VIZINHOS, 3. 2015, Dois Vizinhos. **Anais...** Dois vizinhos: UTFPR, 2015. p. 28-30.

SARTORATO, A. Novas fontes de resistência do feijoeiro comum à mancha angular. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 192-194, 2006.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, S. A.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J.O. (Ed.) **A cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 669-722. 1996.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; YOKOYAMA, M. **Principais doenças e pragas do feijoeiro comum no Brasil**. 3. ed. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1987. 53 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 5).

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Journal of Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1056. 1977.

SILVA, M. S.; CARVALHO, F. C. Q.; SILVA, J. R. da; LINS, S. R. de O.; OLIVEIRA, S. M. A. de. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 718-725, 2014.

SILVA, E. G.; GOMES, E. C.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A.; MONTELES, F. H. R.; RIBEIRO, J. G. Produtos naturais aplicados ao manejo da antracnose em pimentas póscolheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 7. 2011, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: UFRGS, 2011. p. 1-4.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F.L. Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. p. 56. **Documentos Embrapa Agrobiologia**, ISSN 1517-8498; 250.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MACAGNAN, D.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; PEREIRA, M. C. B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. **Biological Control**, Orlando, v. 29, n. 2, p. 288-295, 2004.

SILVEIRA, R. L. V. A.; MUNIZ, M. R. A.; SILVA, C. R.; CAMARGO, F. R. A. Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para a ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Divulgação Técnica**, 19 p. Disponível em: <<http://www.rragroflorestal.com.br/divulgacao.html>>. Acesso em: 08 abri. 2017.

SLININGER, P. J.; BEHLE, R. W.; JACKSON, M. A.; SCHILER, D. A. Discovery and development of biological agents to control crop pests. **Neotropical Entomology**, v. 32, p.183-195, 2003.

SOUZA, C. V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F.; LABATE, C. A. Efeito de *Phaeoisariopsis griseola* na atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 59-66. 2000.

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Atividades de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase,  $\beta$ -1,3 glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 26, n. 1, p. 34-42, 2000.

STANGARLIN, J. R. **Atividades de Ribulose-1,5-Bifosfato Carboxilase (Rubisco), Clorofilase,  $\beta$ -1,3 Glucanase e Quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus* ou *Phaeoiscriopsis griseola***. 1999, 119 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Presidente Prudente–SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.

SUBRAMANIAN, S.; SANGHA, J. S.; GRAY, B. A.; SINGH, R. P.; HILTZ, D.; CRITCHLEY, A. T.; PRITHIVIRAJ, B. Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 131, n. 2, p. 237-248, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TOLEDO SOUZA, E. D. de; SILVEIRA, P. M. da; LOBO JUNIOR, M.; CAFÉ FILHO, A. C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 971-978, 2008.

TORRES, S. B.; BRINGEL, J. M. M. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão macassar. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.18, n. 2, p. 88-92, 2005.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

TRUYLIO, C. E. C. **Efeito de produtos alternativos para o controle da antracnose em feijão** 2015, 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

UGARTE, R. A.; SHARP, G.; MOORE, B. Changes in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Plant morphology and biomass produced by cutter rake harvests in southern New Brunswick, Canada. **Journal of Applied Phycology**, Heidelberg, v. 18, p. 351-359, 2006.

VEJA, F. E.; SIMPKINS, A.; AIME, M. C.; POSADA, F.; PETERSON, S. W.; REHNER, S. A.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; ARNOLD, A. E. Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawaii, Mexico and Puerto Rico. **Fungal ecology**, n.3, p. 122-138. 2010.

VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

VIECELLI, C. A. **Controle da mancha angular e análise bioquímica de resistência em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus***. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.

VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. Feijão. 2ª edição. Viçosa. Ed. Universidade Federal, de Viçosa, 2006. 600p.

VITAL, W. M. ***Phaeoisariopsis griseola*: Caracterização fisiológica, fontes de resistência e reação do feijoeiro**. 2006, 50 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agronômico, Campinas São Paulo. 2006.

WEIDEMANN, G. J.; TEBEEST, D. O.; CARTWRIGHT, R. D. Host Specificit of *Colletotrichum gloesporioides* f. sp. *aechynonebe* and *C. truncatum* in the Leguminosae. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n.1, p. 986-990, 1988.

WENDLAND, A.; MOREIRA, S. A.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN, J. S.; JUNIOR LOBO, M. Doenças do Feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. M. A.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. M. (Eds). **Manual de Fitopatologia**. v. 2: Doenças das plantas cultivadas. 5ª edição. São Paulo: Ceres, p. 383-396, 2016.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITTO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 96, p. 1061–1070. 2006.

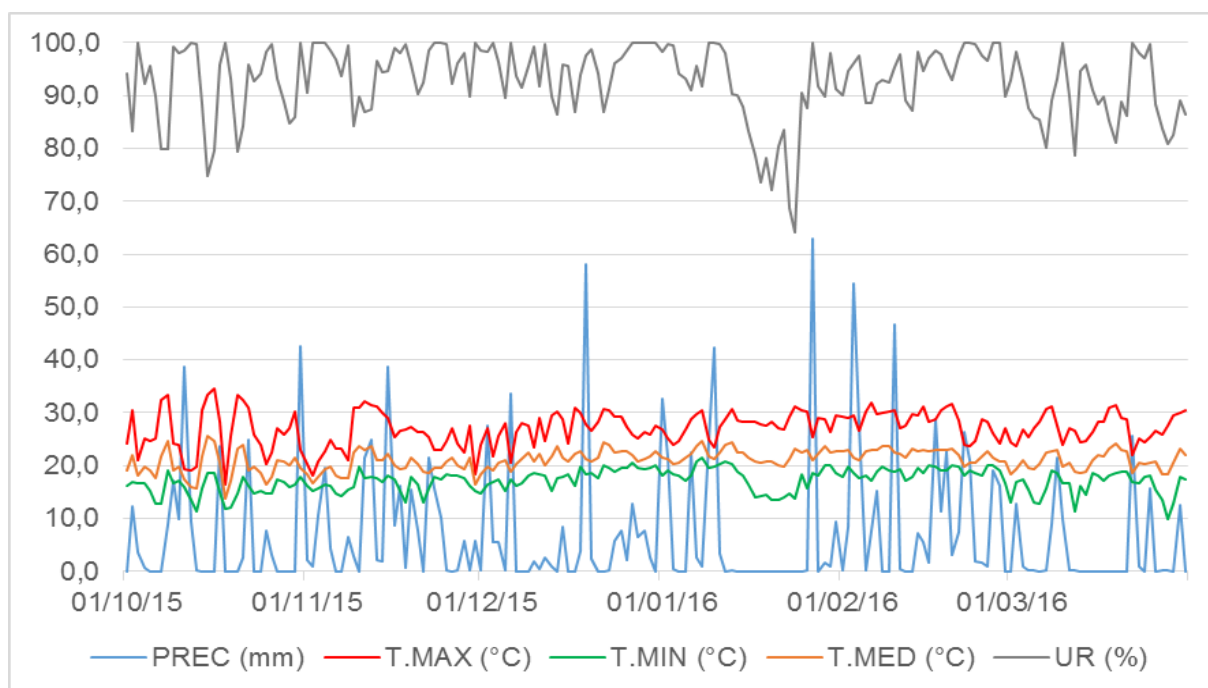
YAO, A. V.; BOCHOW, H.; KARIMOV, S.; BOTUROV, U.; SANGINBOY, S.; SHARIPOV, A. K. Effect of FZB 24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 39, n. 4, p. 323-328, 2006.

ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV/DFP, 2005, 502p.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral. **Revisao Annual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 1, p. 275-318, 1993.

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ZIMMERMANNM.J. O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. **Cultura do feijoeiro; fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 79-85, 1988.

## 8 ANEXO



Anexo 1 - Precipitação (mm), temperatura máxima, mínima e média (°C) e umidade (%), durante a condução do experimento da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) no período de novembro/2015 a março/2016. Ponta Grossa - PR, safra 2015/2016 (FUNDAÇÃO ABC, 2017).