



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO MULTIDISCIPLINAR DE LUÍS EDUARDO MAGALHÃES
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

SINDY PEREIRA MONTINO

**USO DO *BACILLUS SUBTILIS* COMO AGENTE DE BIOCONTROLE DE
FITOPATÓGENOS DA CULTURA DE SOJA**

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES

2021

SINDY PEREIRA MONTINO

USO DO *BACILLUS SUBTILIS* COMO AGENTE DE BIOCONTROLE DE
FITOPATÓGENOS DA CULTURA DE SOJA

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade federal do Oeste da Bahia como requisito parcial de avaliação para aprovação no curso de Engenharia de Biotecnologia.

Orientador: Felipe da Silva Figueira

Coorientador: Victor Biazzotto Correia Porto

LUÍS EDUARDO MAGALHÃES

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

M792 Montino, Sindy Pereira.

Uso do *bacillus subtilis* como agente de biocontrole de fitopatógenos da cultura de soja. / Sindy Pereira Montino. – 2021.

62 f.

Orientador: Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira.

Trabalho de Conclusão de Curso: (Graduação em Engenharia de Biotecnologia).

Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, 2021.

1. Cultura de soja. 2. Controle biológico. 3. Doenças de plantas.

I. Figueira, Felipe da Silva. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. III. Título.

CDD 632

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, a minha mãe, Maria Gerlene, uma mulher extraordinária de onde tirei todo exemplo de força. Por sempre me incentivar a estudar e ter batalhado todos os dias de sua vida para que eu pudesse ter a melhor educação que fosse do seu alcance. Essa graduação é, antes de mais nada, uma forma de agradecimento por toda sua luta e dedicação. A minha mãe, minha eterna gratidão e admiração!

A minha tia Jeisa, por ter me acolhido como sua própria filha, me ensinando, apoiando e contribuindo com o meu crescimento. Por se fazer tão presente em minha vida, sempre estar disposta a me ajudar e me apoiar tanto nessa jornada.

Ao meu tio Paulo Bento, por ter sido em minha vida a presença paterna. Sou eternamente grata pelo amor, carinho, conselhos, cuidados e apoio.

A minha avó, Leni, meu irmão, Álef, meus primos, Paulo e Marcos, por sempre me incentivarem e torcerem pelo meu sucesso.

Ao meu namorado, Pedro, por ter sonhado comigo e nunca ter me deixado desistir. Por acreditar em mim, até quando eu mesma não acreditava. Por me fazer enxergar o meu próprio potencial, me incentivar a crescer, estudar e ser cada vez melhor. Pelo amor, carinho, paciência e compreensão durante esse período.

A minha psicóloga, Luíza Closs, que fez parte da minha vida durante esse processo e foi fundamental para que eu conseguisse superar minhas limitações.

A todos os meus colegas que me ajudaram e incentivaram o meu progresso.

A todos os meus professores que contribuíram com a minha formação. Em especial os professores Mariana Rabelo, Raphael Klein, Samuel Alvarenga, Bruno Motta, Felipe Figueira e Bruno Trindade.

Ao meu orientador, Felipe Figueira, por todas as críticas construtivas, conselhos, oportunidades, incentivos, pela paciência e compreensão nessa reta final.

A Fundação BA, pela oportunidade, conhecimentos e experiência adquiridos.

Meus sinceros agradecimentos!

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém.”

Dalai Lama

RESUMO

Atualmente a soja é uma das culturas de maior importância econômica para o Brasil e o mundo, sendo uma das principais fontes de renda nas exportações brasileiras. Um dos grandes desafios enfrentados pela sojicultura é o controle de patógenos causadores de doenças, dentre as quais a ferrugem, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, merece destaque devido a sua severidade, fácil dispersão e potencial de dano, podendo gerar perdas de até 90% na cultura. O controle de doenças como a ferrugem é feito, principalmente, através do uso de fungicidas, produtos de alta toxicidade que vem causando problemas ambientais e à saúde humana ao longo dos anos. Nesse cenário, o controle biológico apresenta microrganismos não patogênicos capazes de inibir o desenvolvimento de patógenos como uma alternativa inteligente de manejo de doenças, dentre os quais o *B. subtilis* é uma das espécies mais estudadas. A rizobactéria se ressaí por atuar inibindo uma vasta gama de fitopatógenos através de interações de antagonismo ou indução de resistência sistêmica em plantas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o *B. subtilis* como agente de biocontrole de fitopatógenos da cultura da soja. Para o experimento foi adotado um delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Seis tratamentos foram estudados: T1, testemunha (sem aplicação), T2, *B. subtilis* em V3; T3, padrão fungicida; T4, *B. subtilis* em V3 + padrão fungicida; T5, *B. subtilis* em todas as aplicações e T6, *B. subtilis* + padrão fungicida em todas as aplicações, nos quais foram realizadas cinco aplicações: no estágio vegetativo da soja (V3), no estágio reprodutivo (R1) e três aplicações finais com intervalo de 15 dias. Avaliou-se no experimento: severidade de doença, desfolha e produtividade. Os resultados mostraram que o *B. subtilis* se apresenta como uma alternativa promissora no controle da ferrugem quando utilizado como parte de um programa de manejo integrado de doenças, contribuindo com a redução do uso de fitossanitários, sem que haja perdas na produtividade, uma vez que os tratamentos T4 e T6 registraram as menores médias de severidade e desfolha, juntamente com uma produtividade similar ao tratamento T3.

Palavras chave: *Bacillus subtilis*, biocontrole, fitopatógenos, soja.

ABSTRACT

Soy is currently one of the most economically important crops for Brazil and the world, being one of the main sources of income for Brazilian exports. One of the great challenges faced by soy farming is the control of disease-causing pathogens, among which rust, caused by the fungus *Phakopsora pachyrhizi*, deserves to be highlighted due to its severity, easy dispersion and potential for damage, which can generate losses of up to 90% in culture. The control of diseases such as rust is done mainly through the use of fungicides, highly toxic products that have been causing environmental and human health problems over the years. In this scenario, biological control presents non-pathogenic microorganisms capable of inhibiting the development of pathogens as an intelligent alternative for disease management, among which *B. subtilis* is one of the most studied species. The rhizobacteria stand out for acting by inhibiting a wide range of phytopathogens through antagonism interactions or induction of systemic resistance in plants. In this context, the present work aimed to evaluate *B. subtilis* as a biocontrol agent of phytopathogens in the soybean crop. For the experiment, a randomized block design was adopted, with four replications. Six treatments were studied: T1, control (without application), T2, *B. subtilis* in V3; T3, fungicide pattern; T4, *B. subtilis* in V3 + fungicide pattern; T5, *B. subtilis* in all applications and T6, *B. subtilis* + fungicide pattern in all applications, in which five applications were performed: in the vegetative stage of soybean (V3), in the reproductive stage (R1) and three final applications with 15-day interval. The following were evaluated in the experiment: disease severity, defoliation and productivity. The results showed that *B. subtilis* presents itself as a promising alternative in the control of rust when used as part of an integrated disease management program, contributing to the reduction of the use of phytosanitary products, without losses in productivity, since the T4 and T6 treatments registered the lowest mean severity and defoliation, together with a similar productivity to the T3 treatment.

Key words: *Bacillus subtilis*, biocontrol, phytopathogens, soybean.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 4.1: Morfologia da soja..... | 14 |
| Figura 4.2: Plântulas de soja em estádios VE (A) e VC (B)..... | 15 |
| Figura 4.3: Plântula de soja em estádio V2..... | 15 |
| Figura 4.4: Escala fenológica da cultura de soja..... | 16 |
| Figura 4.5: Produtos derivados do processamento industrial do óleo da soja..... | 19 |
| Figura 4.6: Produtos derivados do processamento industrial do farelo de soja..... | 19 |
| Figura 4.7: Ferrugem asiática da soja..... | 23 |
| Figura 4.8: Lesões tipo TAN (A) e RB (B)..... | 24 |
| Figura 4.9: Lesões causadas pelo fungo <i>C. cassicola</i> | 25 |
| Figura 4.10: Sintomas da antracnose observados nos cotilédones (A) e nas vagens (B) da soja..... | 26 |
| Figura 4.11: Cobertura parcial de trifólios de soja por oídio..... | 27 |
| Figura 4.12: Sintomas em evolução das DFCs..... | 28 |
| Figura 4.13: Ilustração das colônias de <i>B. Subtilis</i> isoladas em diluição 10^3 (A) e suas características visuais (B)..... | 32 |
| Figura 4.14: Células vegetativas (A) e esporos (B) de <i>B. subtilis</i> vistas através de microscopia de contraste de fase, microscopia eletrônica de varredura, respectivamente..... | 33 |
| Figura 4.15: Diagrama esquemático do fenômeno de resistência induzida, ocasionado pelo agente de biocontrole <i>B. subtilis</i> | 37 |
| Figura 5.1: Biorreator de 250 L utilizado na multiplicação..... | 39 |
| Figura 5.2: Procedimento operacional padrão para análise de qualidade das amostras das multiplicações do <i>B. subtilis</i> (A) e quantificação de UFC's (B e C).... | 40 |
| Figura 5.3: Croqui do ensaio implementado no campo experimental apresentando o número referente ao tratamento aplicado em cada parcela..... | 41 |

| | |
|---|----|
| Figura 5.4: Aplicação dos tratamentos no ensaio em campo..... | 43 |
| Figura 5.5: Realização das avaliações periódicas no ensaio (A e B)..... | 44 |
| Figura 5.6: Colheita (A) e beneficiamento da soja (B)..... | 45 |
| Figura 6.1 Precipitação (mm) e umidade relativa do ar (%) semanal entre o período de plantio e colheita da cultura da soja em Luís Eduardo Magalhães, Ba..... | 45 |
| Figura 6.2: Temperaturas máxima, média e mínima entre o período de plantio e colheita da cultura de soja em Luís Eduardo Magalhães, BA..... | 46 |
| Figura 6.3: Ilustração dos tratamentos durante a avaliação de desfolha. T1: tratamento 1 (Testemunha); T2: tratamento 2 (<i>B. subtilis</i> em V3); T3: tratamento 3 (padrão fungicida); T4: tratamento 4 (<i>B. subtilis</i> em V3 + padrão fungicida); T5: tratamento 5 (<i>B. subtilis</i> em todas as aplicações); T6: tratamento 6 (<i>B. subtilis</i> + padrão. fungicida em todas as aplicações)..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 4.1: Descrição dos estádios vegetativos da soja..... | 16 |
| Tabela 4.2: Descrição dos estádios reprodutivos da soja..... | 17 |
| Tabela 4.3: Composição centesimal do grão de soja e seus componentes..... | 18 |
| Tabela 4.4: Balanço de oferta/demanda do complexo soja no Brasil, em milhões de toneladas, nos últimos anos..... | 21 |
| Tabela 5.1: Relação dos tratamentos, produtos e épocas de aplicação avaliados..... | 42 |
| Tabela 5.2: Avaliações realizadas no ensaio..... | 44 |
| Tabela 6.1: Resultados da quantificação de UFC's das amostras das multiplicações do <i>B. subtilis</i> em cada aplicação realizada..... | 47 |
| Tabela 6.2: Médias de severidade (%) e área abaixo da curva de progressão de doença (AACPD) da ferrugem asiática da soja observadas em função dos diferentes tratamentos utilizados no programa de manejo, para as diferentes épocas de avaliação na cultura da soja. Tratamentos 1: Testemunha; 2: <i>B. subtilis</i> em V3; 3: padrão fungicida; 4: <i>B. subtilis</i> em V3 + padrão fungicida; 5: <i>B. subtilis</i> em todas as aplicações; 6: <i>B. subtilis</i> + padrão fungicida em todas as aplicações. Avaliação das aplicações A: estágio V3 da soja; B: estágio R1 da soja; C: 15 dias após aplicação B; D: 15 dias após aplicação C; E: 15 dias após aplicação D; E+7: 7 dias após aplicação E..... | 47 |
| Tabela 6.3: Porcentagem de desfolha (%) em função dos diferentes tratamentos. Tratamentos 1: Testemunha; 2: <i>B. subtilis</i> em V3; 3: padrão fungicida; 4: <i>B. subtilis</i> em V3 + padrão fungicida; 5: <i>B. subtilis</i> em todas as aplicações; 6: <i>B. subtilis</i> + padrão fungicida em todas as aplicações..... | 48 |
| Tabela 6.4: Produtividade e peso de mil grãos (PMG) em função dos diferentes tratamentos. Tratamentos 1: Testemunha; 2: <i>B. subtilis</i> em V3; 3: padrão fungicida; 4: <i>B. subtilis</i> em V3 + padrão fungicida; 5: <i>B. subtilis</i> em todas as aplicações; 6: <i>B. subtilis</i> + padrão fungicida em todas as aplicações..... | 48 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. OBJETIVOS | 11 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 11 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 12 |
| 3. JUSTIFICATIVA | 12 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 4.1 A soja..... | 13 |
| 4.2 A importância econômica da soja no Brasil e no mundo..... | 18 |
| 4.3 Sistemas de produção: Os desafios da sojicultura..... | 21 |
| 4.3.1 Principais doenças da soja..... | 22 |
| 4.3.1.1 Ferrugem..... | 22 |
| 4.3.1.2 Mancha alva..... | 24 |
| 4.3.1.3 Antracnose..... | 25 |
| 4.3.1.4 Oídio..... | 26 |
| 4.3.1.5 Doenças de final de ciclo..... | 27 |
| 4.4 Métodos alternativos de controle fitossanitário..... | 29 |
| 4.4.1 Controle biológico e o manejo integrado..... | 29 |
| 4.4.2 <i>Bacillus subtilis</i> como uma ferramenta biotecnológica: biocontrole..... | 32 |
| 4.4.3 Resistência sistêmica induzida por <i>Bacillus subtilis</i> | 35 |
| 5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS | 38 |
| 5.1 Material..... | 38 |
| 5.2 Metodologia..... | 38 |
| 5.2.1 Multiplicação de <i>B. subtilis</i> | 39 |
| 5.2.2 Delineamento experimental..... | 40 |
| 5.2.3 Avaliações periódicas..... | 43 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 45 |
| 7. CONCLUSÃO | 53 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |
| ANEXOS | 61 |

1. INTRODUÇÃO

A soja se tornou uma das culturas de maior importância no mercado nacional e internacional, sendo uma das maiores fontes de renda nas exportações de vários países, incluindo o Brasil (SIEBEN E MACHADO, 2006). A oleaginosa tem como centro de origem a Ásia, pertence ao gênero *Glycine*, cuja qual a *Glycine max* (L.) Merrill é a espécie cultivada, e foi inserida no Brasil no ano de 1882 (DORIGHELLO, 2013).

Atualmente a agricultura é o principal pilar da economia brasileira, com destaque para a produção de grãos como soja, milho e trigo (LORINI, 2019). Com uma produção recorde de 124,8 milhões de toneladas na última safra, 2019/20, o Brasil se enquadrou como o maior produtor mundial do grão. Sendo o estado do Mato Grosso o maior produtor nacional, contribuindo com 35,88 milhões de toneladas da leguminosa (CONAB, 2020).

A importância econômica da soja no Brasil e no mundo é justificada pela grande versatilidade do aproveitamento dos seus grãos. Os produtos e subprodutos derivados do processamento do “complexo soja” (grão, óleo e farelo) podem ser amplamente utilizados na alimentação humana (elevado teor proteico de alta qualidade), na nutrição animal (rações, silagem, farelo), em usos industriais (produção de biodiesel, sabões, cosméticos, tintas, solventes, etc.), adubação verde, dentre outros (CÂMARA, 2015). Nesse cenário, no momento atual, a soja se configura como uma das commodities mais importantes para a economia mundial, alcançando cada vez mais altos preços na Bolsa de Valores de Chicago (CONAB, 2021).

Dentre os desafios encontrados pela sojicultura, destacam-se os problemas fitossanitários, uma vez que esses são capazes de comprometer a produtividade e rendimento da cultura. Das doenças incidentes, a ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é considerada a doença de maior importância, devido a sua agressividade, severidade das perdas ocasionadas e ao custo médio para seu controle (US\$ 2,8 bilhões de dólares por safra, de acordo com o Consórcio Antiferrugem, 2020) (DORIGHELLO, 2013). Além da ferrugem, a soja é acometida por uma série de outros patógenos que interferem diretamente

no desenvolvimento da planta, como os fungos *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Microsphaera difusa*, *Cercospora kikuchii* e *Septoria glycines*, causadores de doenças com potencial de grandes perdas (HENNING et al., 2005). Para o controle fitossanitário são utilizados, principalmente, fungicidas, porém o uso indiscriminado desses produtos ocasionou, dentre outros, problemas de resistência de patógenos aos químicos, levando a necessidade de mistura de produtos e ao aumento da frequência das pulverizações, intensificando ainda mais seu potencial de dano devido à sua alta toxicidade (CAMPANHOLA E BETTIOL, 2003).

Como alternativa ao uso de fitossanitários, bactérias antagonistas da espécie *B. subtilis* têm sido estudadas como agentes de biocontrole. Por biocontrole, ou controle biológico, entende-se “controle de um microrganismo por outro microrganismo” (GRIGOLETTI JÚNIOR, SANTOS E AUER, 2000), sendo assim bactérias não patogênicas são capazes de controlar patógenos a partir de interações de antagonismo, parasitismo, competição, dentre outros (PAL E GARDENER, 2006). O *Bacillus subtilis* se apresenta como uma ferramenta biotecnológica de biocontrole, sendo capaz de agir sobre os patógenos de forma direta, através de interações de antibiose com um amplo espectro de microrganismos, ou ainda de forma indireta, atuando como eliciadores da resistência sistêmica induzida nas plantas (LANNA FILHO, FERRO E PINHO, 2010) e (JUNGES, 2016).

Estudos realizados por Dorighello, 2017, apontam o gênero *Bacillus* como uma promissora alternativa ao uso exclusivo de fungicidas para o controle de ferrugem, principalmente, apresentando resultados de até 96% de redução da severidade da doença em aplicações preventivas. Nessa perspectiva, esse estudo teve como objetivo principal avaliar o potencial de bactérias da espécie *Bacillus subtilis* como agentes de biocontrole de fitopatógenos da cultura da soja.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o *Bacillus subtilis* como agente de biocontrole de fitopatógenos da cultura de soja.

2.2 Objetivos específicos

- Multiplicar o *Bacillus subtilis* em laboratório em colaboração com a empresa SOLUBIO;
- Realizar aplicações de *B. subtilis* separadamente ou associados à fungicidas em diferentes estádios da soja;
- Avaliar o *B. subtilis* quanto a sua capacidade de redução da severidade de doenças foliares causadas por fungos na cultura da soja;
- Verificar a influência dos tratamentos utilizados na produtividade da cultura;
- Avaliar o biocontrole atribuído ao *B. subtilis* separadamente ou como uma ferramenta do manejo integrado.

3. JUSTIFICATIVA

A partir do conhecimento da importância do agronegócio para o Brasil, principalmente relacionado a produção de grãos, com a soja sendo o grão mais produzido e exportado no país, e sabendo das dificuldades enfrentadas pelos produtores no controle de fitopatógenos que causam redução na produtividade e rendimento da cultura, faz-se de grande importância o estudo sobre microrganismos capazes de agir como inibidores do crescimento ou desenvolvimento de patógenos que acometem a cultura da soja, já que o uso indiscriminado de fitossanitários tem trazido inúmeros danos não só ao meio ambiente, mas à saúde humana devido a sua alta toxicidade. Nesse contexto, as rizobactérias do gênero *Bacillus*, com destaque para a espécie *Bacillus subtilis*, têm apresentado resultados positivos quando utilizadas para fins de biocontrole, agindo não só diretamente sobre os patógenos, mas também induzindo a planta a ativar seus próprios mecanismos de defesa. Nessa perspectiva, um estudo voltado a utilização do *Bacillus subtilis* como agente de biocontrole de fitopatógenos da cultura da soja faz-se promissor.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 A soja

Em decorrência do constante aumento da demanda mundial por insumos agrícolas, a soja vem se tornando uma das variedades mais cultivadas e de maior relevância em todo o mundo. Trata-se de uma planta herbácea e de reprodução autógama, da família Fabaceae e subfamília Papilionoideae, cultivada para a produção de grãos (DORIGHELLO, 2013).

Pertencente ao gênero *Glycine*, o grão teve origem no leste da Ásia, sendo a *Glycine max* (L.) Merrill, espécie cultivada atualmente, o resultado de cruzamentos naturais entre espécies de soja selvagem que ao longo do tempo foram domesticadas e melhoradas na antiga China (BEZERRA, et al., 2013). A inexistência de intercâmbio comercial entre o oriente e o ocidente, fez com que a soja permanecesse restrita ao oriente durante séculos. Apesar do início de sua domesticação ter sido ainda durante o século XI a.C., na China, a oleaginosa só chegou ao ocidente após a chegada dos primeiros navios europeus no final do século XV e início do XVI d.C. alcançando a América do Norte apenas em 1804, na Pensilvânia, e o Brasil em 1882 (CÂMARA, 2015).

A planta da soja é composta por um caule herbáceo, ereto, pubescente e ramificado, que se desenvolve partindo do eixo embrionário após a germinação, folhas denominadas cotiledonares e unifoliadas, que aparecem no início do desenvolvimento, e folhas trifoliadas que surgem após as unifoliadas e permanecem até a senescência. O sistema radicular, denominado como difuso, é composto por uma raiz axial principal pouco desenvolvida e raízes secundárias. A morfologia da soja pode ser observada na Figura 4.1 (TEJO, FERNANDES E BURATTO, 2019).

Figura 4.1 Morfologia da soja.



Fonte: Portal Syngenta.

A soja é uma planta anual, com um ciclo que pode variar de 75 a 200 dias a depender das condições ambientais em que se encontra. Aspectos como incidência de luz, disponibilidade de água, nutrientes e temperatura podem interferir diretamente no seu desenvolvimento (variando de 30 a 200 cm de altura), influenciando na quantidade de ramificações, nas características das vagens (como são chamados os legumes resultantes) e conseqüentemente na produtividade da cultura. Habitualmente uma cultura de soja pode apresentar um rendimento de 400 grãos por planta, com vagens que podem ter de 2 a 7 cm de comprimento, 1 a 2 cm de largura, forma achatada, coloração variando entre cinza, amarelo-palha ou preta, quando maduras, e contendo de 1 a 5 grãos (TEJO, FERNANDES E BURATTO, 2019).

O ciclo de maturação fisiológica dos grãos é descrito em estádios fenológicos subdivididos em 2 grandes grupos: vegetativo e reprodutivo, designados pelas letras “V” e “R”, respectivamente. A parte do caule onde a folha se desenvolve é denominada como nó e é utilizada para identificar os estádios vegetativos. Com exceção dos estádios vegetativos denominados VE, que representa uma plântula recém emergida (Figura 4.2, A) e VC, que indica o momento em que os cotilédones se encontram completamente abertos e expandidos (Figura 4.2, B), todas as subdivisões seguintes à VC são enumeradas sequencialmente com índices que

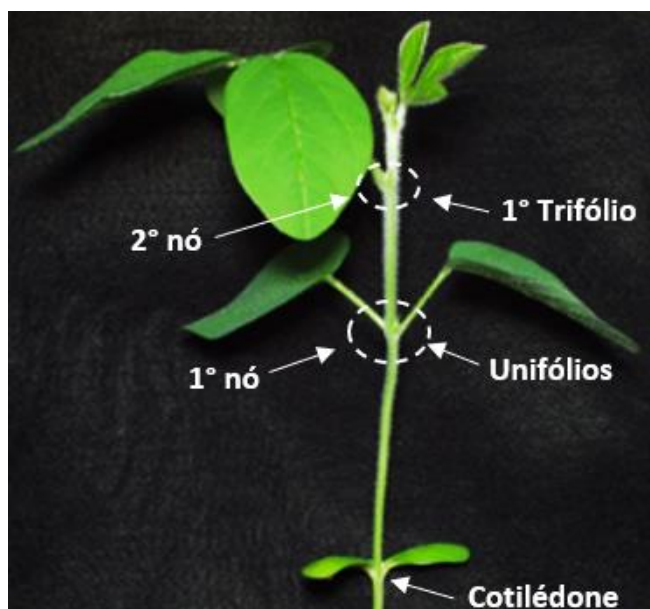
indicam a quantidade de nós, acima do nó cotiledonar, que a planta apresenta, como exemplificado na Figura 4.3 (FARIAS, NEPOMUCENO E NEUMAIER, 2007).

Figura 4.2: Plântulas de soja em estádios VE (A) e VC (B).



Fonte: Farias, Nepomuceno e Neumaier, 2007.

Figura 4.3: Plântula de soja em estágio V2.

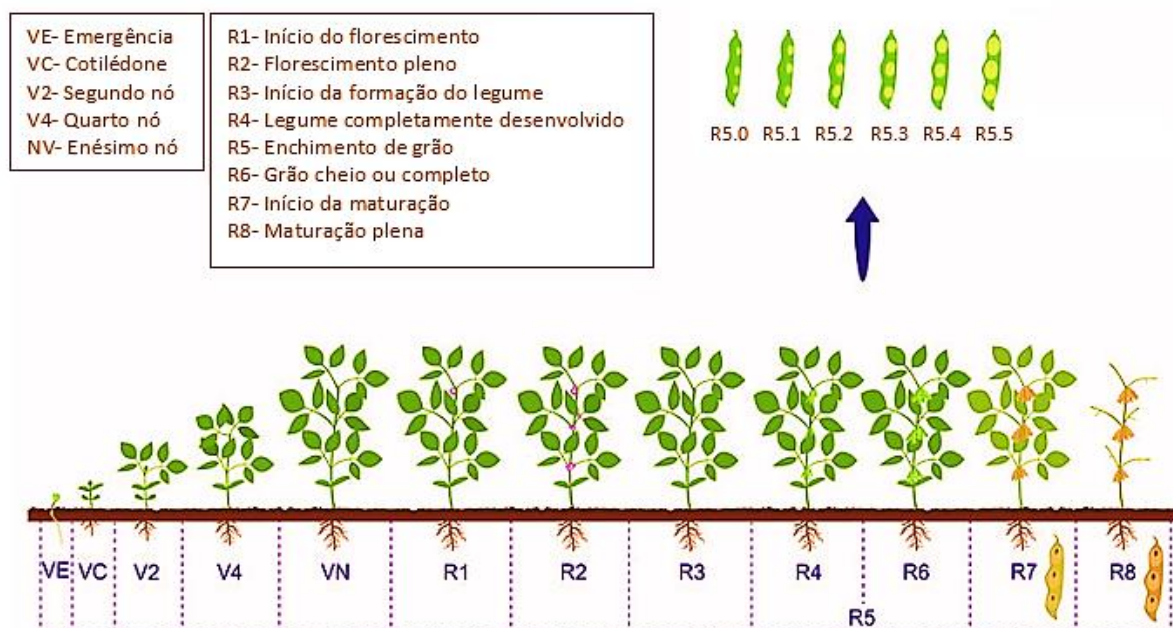


Fonte: Adaptado de Farias, Nepomuceno e Neumaier, 2007.

Para os estádios reprodutivos, os índices de um a oito que seguem a letra “R” descrevem o período do florescimento à maturação. Abrangendo quatro fases distintas: florescimento (R1 e R2), desenvolvimento da vagem (R3 e R4),

desenvolvimento do grão (R5 e R6) e maturação (R7 e R8). Proposto por Ferhr e Caviness, 1977, tal sistema de classificação é o mais utilizado ainda hoje. Na Figura 4.4 e nas tabelas 4.1 e 4.2 podemos observar a escala fenológica da cultura da soja, bem como a descrição detalhada de seus estádios fenológicos. (FEHR E CAVINESS, 1977).

Figura 4.4: Escala fenológica da cultura de soja.



Fonte: Tejo, Fernandes e Buratto, 2019.

Tabela 4.1: Descrição dos estádios vegetativos da soja.

| Estádios | Descrição |
|----------|--|
| VE | Cotilédones acima da superfície do solo |
| VC | Cotilédones completamente abertos |
| V1 | Folhas unifoliadas completamente desenvolvidas |
| V2 | Primeira folha trifoliada completamente desenvolvida |
| V3 | Terceira folha trifoliada completamente desenvolvida |
| V...n | Enésima folha trifoliada completamente desenvolvida |

Fonte: Adaptado de Farias, Nepomuceno e Neumaier, 2007.

Tabela 4.2: Descrição dos estádios reprodutivos da soja.

| Estádios | Descrição |
|-----------------|--|
| R1 | Uma flor aberta em qualquer nó do caule |
| R2 | Uma flor aberta em um dos 2 últimos nós do caule, com folha completamente desenvolvida |
| R3 | Vagem com 5 mm de comprimento em um dos 4 últimos nós do caule, com folha completamente desenvolvida |
| R4 | Vagem com 2 cm de comprimento em um dos 4 últimos nós do caule, com folha completamente desenvolvida |
| R5 | Grão com 3 mm de comprimento em vagem em um dos 4 últimos nós do caule, com folha completamente desenvolvida |
| R6 | Vagem contendo grãos verdes preenchendo as cavidades da vagem de um dos 4 últimos nós do caule, com folha completamente desenvolvida |
| R7 | Uma vagem no caule com coloração madura |
| R8 | 95% das vagens com coloração madura |

Fonte: Adaptado de Farias, Nepomuceno e Neumaier, 2007.

Segundo Mendes, et al. 2004, a soja é constituída por cerca de 17 a 18% de óleo e 35 a 37% de proteína bruta de elevado valor biológico, se apresentando como uma boa alternativa de alimento proteico e energético. Já Vieira, Cabral e Paula, 1999, apontam que a composição dos grãos pode sofrer interferência de diversos fatores, dentre outros, das condições climáticas, do tipo de solo, da localização geográfica, da variedade e das práticas agronômicas.

Além dos elevados teores de proteínas e lipídios, os grãos de soja ainda apresentam significativos teores de minerais e carboidratos (CÂMARA, 2015), que juntamente com a versatilidade de aplicação de seus produtos e subprodutos, não só na alimentação humana e animal, mas como fonte de energia, agregam valor econômico nos mercados nacionais e internacionais, fazendo com que a leguminosa seja atualmente um dos produtos agrícolas de maior interesse mundial (SILVA et al., 2006). Na Tabela 4.3 temos uma visão da composição centesimal dos grãos de soja.

Tabela 4.3: Composição centesimal do grão de soja e seus componentes.

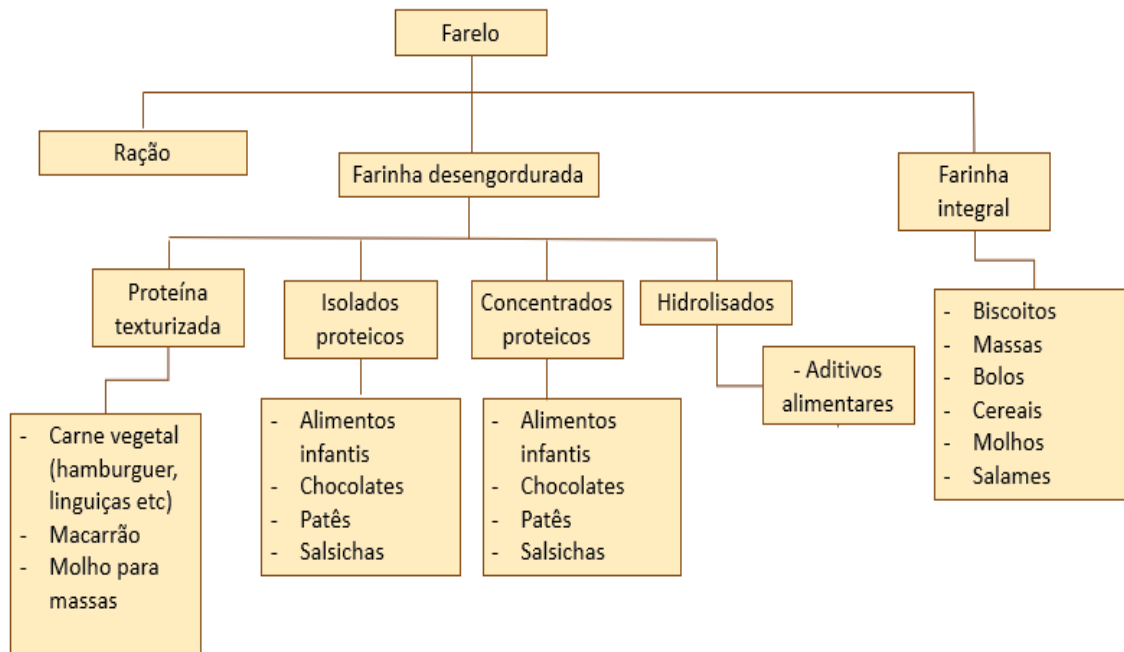
| Componentes | Rendimento | Proteína | Óleo | Cinza | Carboidrato |
|--------------------|-------------------|-----------------|-------------|--------------|--------------------|
| | | | (%) | | |
| Soja em grão | 100,0 | 37,0 | 18,0 | 4,9 | 33,8 |
| Cotilédones | 90,3 | 42,5 | 22,8 | 5,0 | 29,4 |
| Casca | 7,3 | 8,8 | 1,0 | 4,3 | 85,9 |
| Hipocótilo | 2,4 | 40,8 | 11,4 | 4,4 | 43,4 |

Fonte: Adaptado de Câmara, 2015 e Mendes et al., 2004.

4.2 A importância econômica da soja no Brasil e no mundo

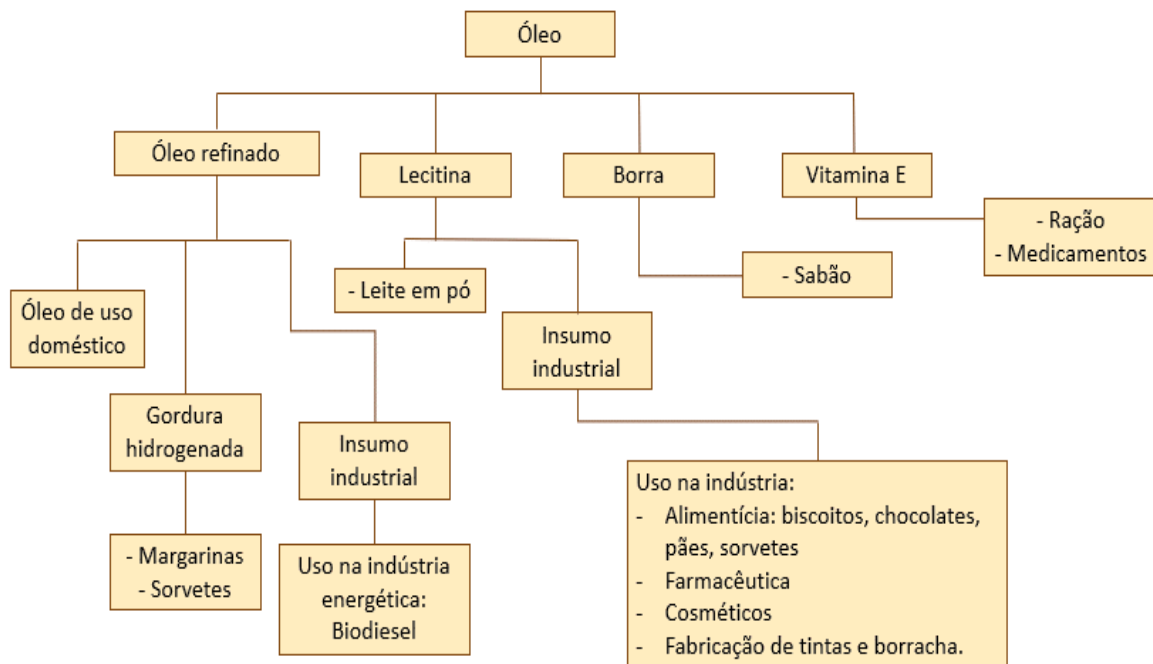
Por complexo soja, entende-se “grão, óleo e farelo”, uma vez que do total de grão produzido e esmagado no país, estima-se que cerca de 80% seja processado em farelo e os 20% restantes em óleo (SOUZA et al., 2010). A soja apresenta grande versatilidade e aproveitamento de seus grãos, sendo essas algumas das características positivas apontadas por Souza et al., 2010, que justificam sua visibilidade e valor econômico. A leguminosa pode ser aproveitada não só para alimentação humana e animal, mas também em vários setores industriais e até mesmo como adubo verde (CÂMARA, 2015). Nas Figuras 4.5 e 4.6 encontram-se fluxogramas que exemplificam a utilidade da soja fazendo um sucinto levantamento dos produtos derivados do processamento industrial dos seus grãos.

Figura 4.5: Produtos derivados do processamento industrial do farelo da soja.



Fonte: Adaptado de Câmara, 2015.

Figura 4.6: Produtos derivados do processamento industrial do óleo de soja.



Fonte: Adaptado de Câmara, 2015

Nessa perspectiva a soja se tornou uma das commodities mais importantes para a economia brasileira, tendo alcançado uma média de preço de US\$ 13,74/bu em dezembro de 2020, na Bolsa de Valores de Chicago (CBOT), valores 6,51% mais altos que aqueles apresentados em janeiro do mesmo ano. Fatores como a grande demanda de soja para exportação nos Estados Unidos, bem como a greve dos caminhoneiros na Argentina, que interferiu no escoamento do grão e seus derivados, contribuíram para que os preços do complexo soja alavancassem no mercado internacional. Em decorrência dos preços internacionais do alqueire de soja, juntamente com o dólar na casa dos R\$ 5,40, o mercado nacional da oleaginosa tende a permanecer em alta, uma vez que a exportação é o principal destino da produção do grão, como podemos notar na Tabela 4.4 (CONAB, 2021).

Motivada pela alta demanda chinesa e pelo forte perfil de mercado observado até o momento, para a safra de 2020/21, espera-se um volume de aproximadamente 132 milhões de toneladas, chegando a atingir cerca de 83 milhões de toneladas voltadas à exportação (ABIOVE, 2021). Do total produzido, estima-se ainda que cerca de 45 a 49 milhões de toneladas sejam destinadas à demanda interna, tendo em vista o crescimento econômico do país e a evolução do biodiesel que passará de B12 para B13 (13% de biodiesel e 87% de diesel convencional), o que requererá mais matéria prima para sua produção. Dessa forma, a tendência dos estoques finais do grão é de permanecerem baixos por mais um ano, contribuindo para a alta de preços no mercado interno no ano de 2021 (CONAB, 2021).

Na Tabela 4.4 podemos observar um balanço de oferta/demanda do complexo soja no Brasil durante os últimos 5 anos, comprovando a importância econômica da cultura para o país.

Tabela 4.4: Balanço de oferta/demanda do complexo soja no Brasil, em milhões de toneladas, nos últimos anos.

| Discriminação | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 (E) | 2021 (P) |
|---------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1. Soja | | | | | |
| 1.1. Estoque Inicial | 10.234 | 10.812 | 3.624 | 3.319 | 328 |
| 1.2. Produção | 113.804 | 123.081 | 120.751 | 128.500 | 132.600 |
| 1.3. Importação | 254 | 187 | 144 | 822 | 800 |
| 1.5. Exportação | 68.155 | 83.258 | 74.073 | 82.973 | 83.000 |
| 1.6. Processamento | 41.837 | 43.556 | 43.454 | 45.500 | 46.300 |
| 1.7. Estoque Final | 10.812 | 3.624 | 3.319 | 328 | 528 |
| 2. Farelo | | | | | |
| 2.1. Estoque Inicial | 1.233 | 2.144 | 1.785 | 1.338 | 2.177 |
| 2.2. Produção | 31.577 | 33.185 | 33.477 | 34.677 | 35.300 |
| 2.3. Importação | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| 2.4. Exportação | 14.383 | 16.803 | 16.682 | 16.938 | 17.100 |
| 2.5. Consumo Doméstico | 16.285 | 16.741 | 17.246 | 16.900 | 17.400 |
| 2.6. Estoque Final | 2.144 | 1.785 | 1.338 | 2.177 | 2.977 |
| 3. Óleo | | | | | |
| 3.1. Estoque Inicial | 356 | 413 | 409 | 299 | 289 |
| 3.2. Produção | 8.433 | 8.833 | 8.791 | 9.150 | 9.300 |
| 3.3. Importação | 58 | 35 | 48 | 250 | 300 |
| 3.4. Exportação | 1.340 | 1.416 | 1.041 | 1.110 | 500 |
| 3.5. Consumo Doméstico | 7.094 | 7.457 | 7.909 | 8.300 | 9.200 |
| 3.6. Estoque Final | 413 | 409 | 299 | 289 | 189 |

(E) Estimativa. (P) Previsão.

Fonte: Abiove, 2021.

4.3 Sistema de produção: Os desafios fitossanitários da sojicultura

Assim como todas as demais culturas, a soja enfrenta desafios fitossanitários que comprometem diretamente a produtividade e qualidade dos grãos, podendo causar perdas significativas ao produtor. Contornar tais desafios requer um manejo baseado na prevenção e controle de doenças, pragas ou plantas invasoras (JUHÁSZ, et al., 2013).

Se tratando de material genético, existem hoje, no Brasil, dois sistemas básicos de produção: convencional e transgênico. A tecnologia da soja transgênica possibilitou a obtenção de cultivares que apresentam características que resultam na redução de custos de produção, além de melhorarem aspectos competitivos da cultura. Atualmente é possível cultivar uma soja que seja tolerante ao herbicida

glifosato e até mesmo à algumas lagartas desfolhadoras. Tais características fazem com que o custo total relacionado ao uso de fitossanitários varie de 22% (convencional) a 19% (transgênica) (CONTINI et al., 2018).

Apesar da soja transgênica e do controle químico já serem alternativas utilizadas visando o aumento da produtividade, redução de gastos ou minimização de perdas ocasionadas por doenças ou pragas, a utilização intensiva de agroquímicos ocasiona uma série de impactos negativos, tanto dentro como fora da lavoura. Segundo Campanhola e Bettioli, 2003, alguns pontos negativos que podem ser citados são:

- Aumento da dependência do seu uso, já que provoca desequilíbrios biológicos;
- Ressurgência de altas populações de pragas e patógenos;
- Aparecimento de novas pragas antes sob controle natural;
- Resistência das pragas, fitopatógenos e plantas invasoras aos químicos, resultando na necessidade de se utilizar doses cada vez mais elevadas, misturas de produtos ou aumentar a frequência de pulverizações. Intensificando ainda mais seu potencial de dano ao homem e ao meio ambiente.

4.3.1 Principais doenças da soja

4.3.1.1 Ferrugem

Causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, a ferrugem asiática da soja (FAS), nativa do oriente (China), foi identificada no Brasil ano de 2001, no estado do Paraná, se espalhando rapidamente pelas regiões produtoras do país (YORINORI, NUNES JUNIOR E LAZZAROTTO, 2004). Por sua severidade, ampla distribuição e potencialidade de gerar perdas (danos variando de 10% a 90% nas regiões onde foi relatada, segundo Juhász, et al., 2013) a ferrugem é uma das doenças incidentes da cultura da soja de maior importância (RICHETTI E ROESE, 2011).

A enfermidade pode ser identificada em qualquer estágio da planta a partir do aparecimento de pequenas lesões foliares características, de coloração castanha

a marrom-escura, na parte inferior da folha (Figura 4.7). A infecção pelo fungo é favorecida por chuvas frequentes ou longos períodos de molhamento, associadas a temperaturas ótimas que variam de 18 °C a 26,5°C (JUHÁSZ, 2013).

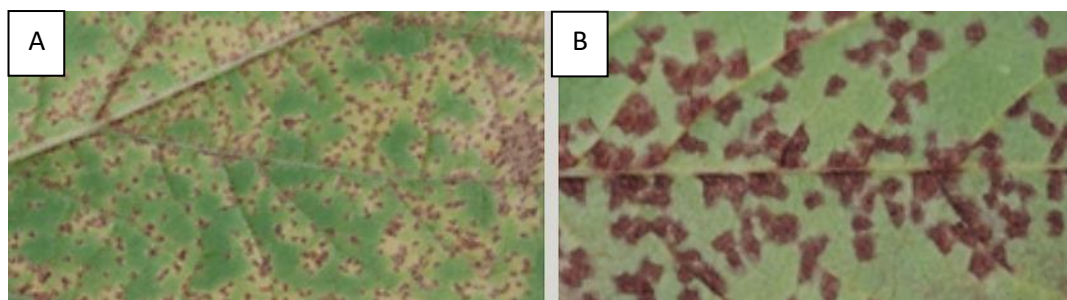
Figura 4.7: Ferrugem asiática da soja.



Fonte: Juhász et al., 2013.

A FAS ataca os cotilédones, folhas e hastes das plantas, sendo que os sintomas, observados nas folhas, tendem a iniciar-se no terço médio das plantas, evoluindo até o ponteiro. As saliências formadas na folha (estruturas reprodutoras do fungo), chamadas de urédias, abrem-se formando um pequeno poro, por onde são expelidos os uredosporos, disseminando a doença através do vento. As lesões causadas pelo *Phakopsora pachyrhizi* têm formato angular, atingindo de 2 mm a 5 mm de diâmetro e podendo ser classificadas em dois tipos: TAN (coloração castanha, ausência de necrose e muita esporulação) e RB (com necrose, coloração marrom-avermelhada, menor quantidade de urédias e pouca esporulação), como podemos observar na Figura 4.8 a e b (SEIXAS et al., 2020).

Figura 4.8: Lesões tipo TAN (A) e RB (B).



Fonte: Godoy et al., 2020.

A doença causa destruição dos tecidos foliares, levando à desfolha precoce, interrompendo assim a atividade fotossintética e consequentemente interferindo na formação plena dos grãos. Em uma planta severamente atacada pela ferrugem pode ocorrer o aborto e queda das vagens, podendo gerar perda total de rendimento (ANDRADE E ANDRADE, 2002). Atualmente o controle da ferrugem é feito, dentre outras medidas, através da pulverização de fungicidas logo no aparecimento dos sintomas ou preventivamente (SEIXAS et al., 2020), acarretando em um custo médio de US\$ 2,8 bilhões de dólares por safra no Brasil para ser controlada, de acordo com o Consórcio Antiferrugem, 2020.

4.3.1.2 Mancha alvo

A mancha alvo ou podridão radicular de *Corynespora*, como também é conhecida, é causada pelo fungo *Corynespora cassiicola* e assim como a ferrugem pode ocorrer em qualquer estágio da cultura, sendo a fase R1 a mais frequente do seu aparecimento. Os sintomas da doença podem ser observados nas folhas, ramos, vagens, sementes, hipocótilo e raízes das plantas. Sua disseminação ocorre através do solo contaminado, pelo vento ou chuva, sendo assim, altos índices pluviométricos contribuem para a difusão e infecção do fungo. Além de alta umidade, temperaturas amenas, variando entre 15°C e 18°C no solo, também favorecem a contaminação da lavoura (SARAN, 2017).

Nas folhas, as lesões se iniciam como pequenos pontos de coloração parda, com um halo amarelado, evoluindo para grandes manchas circulares de coloração

castanho-claro a castanho-escuro (Figura 4.9) (HENNING et al., 2005). Como consequência, a doença é capaz de gerar desfolha precoce, e apodrecimento das vagens, além de atacar também a raiz, causando seu apodrecimento. Quando a infecção acontece na região de sutura das vagens ainda em desenvolvimento, a enfermidade resulta em necrose, abertura das vagens em germinação ou apodrecimento dos grãos verdes (ABDLNOOR R. V., et al., 2013).

Figura 4.9: Lesões causadas pelo fungo *C. cassiicola*.



Fonte: Saran, 2017.

4.3.1.3 Antracnose

A antracnose é causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum* e é uma das principais doenças que afetam a cultura na fase inicial de formação das vagens, sendo um problema frequente das regiões produtoras do Cerrado, devido à elevada precipitação e às altas temperaturas que favorecem o desenvolvimento do patógeno. A doença causa desfolha prematura, alta redução do número de vagens, ausência de formação dos grãos, induz ainda a planta à retenção foliar, além de poder causar queda das vagens ou perda total em anos altamente chuvosos. A disseminação do fungo é feita através de sementes infectadas, restos de culturas, pelo vento ou chuva (HENNING et al., 2005) (SARAN, 2017).

O *C. truncatum* pode atacar a cultura desde o estágio vegetativo até o reprodutivo, atingindo toda a parte aérea da planta, como as folhas, cotilédones, hastes, pecíolos e vagens. Os sintomas da doença são observados em forma de necrose nos cotilédones, lesões nas vagens ou manchas claras que evoluem para uma coloração negra (Figura 4.10) (SARAN, 2017).

Figura 4.10: Sintomas da antracnose observados nos cotilédones (A) e nas vagens (B) da soja.



Fonte: Saran, 2017.

4.3.1.4 Oídio

Causada pelo fungo *Microsphaera diffusa*, o oídio é uma doença que desde a safra de 1996/97 vêm apresentando uma alta incidência em todas as áreas produtoras do país, gerando perdas de rendimento de até 40%. Não se trata de um patógeno exclusivo da soja, mas um parasita obrigatório que infecta diversas espécies de leguminosas, se desenvolvendo por toda a parte aérea da planta (ABDELNOOR et al., 2013). O aparecimento da enfermidade é mais comum no estágio de floração, sendo que temperaturas amenas entre 18°C a 24°C e baixa umidade favorecem a ocorrência do hospedeiro na lavoura. O fungo é disseminado pelo vento, tem um ciclo de 7 a 10 dias e sobrevive em plantas voluntárias de soja e hospedeiros alternativos (SEIXAS, 2019)

Segundo Abdelnoor et al., 2013, os sintomas da doença são percebidos em forma de uma fina cobertura de micélio e esporos pulverulentos que podem ser pequenos pontos brancos ou cobrir toda a parte aérea da planta (Figura 4.11). Os autores ainda ressaltam que em casos de infecção severa, a cobertura de micélio e difusão do parasita, não só danifica diretamente o tecido foliar das plantas como também diminui a fotossíntese, podendo causar queda prematura das folhas e interferir no desenvolvimento pleno da cultura.

Figura 4.11: Cobertura parcial de trifólios de soja por oídio.



Fonte: Mais Soja, 2020.

4.3.1.5 Doenças de final de ciclo:

Por ocorrerem simultaneamente e apresentarem sintomas muito semelhantes, dificultando sua identificação isolada, os patógenos *Cercospora kikuchii*, causador da doença conhecida por crestamento foliar de cercóspora, e *Septoria glycines*, causador da mancha parda da folha, constituem um grupo de doenças denominadas como “doenças de final de ciclo” (DFCs). Os agentes infectantes são disseminados através de sementes e restos de culturas infectados, pela chuva ou vento, sendo favorecidos por temperaturas amenas, alta umidade e longos períodos de molhamento foliar (SARAN, 2017).

A *Cercospora kikuchii* ataca todas as partes da planta. Nas folhas, seus sintomas incluem pontos escuros, com coloração castanho-avermelhado e bordas difusas que com o tempo coalescem formando grandes manchas de cor púrpura-escura. É comum que seus primeiros sintomas apareçam nas hastes da cultura na forma de manchas avermelhadas, podendo ocorrer necrose quando o fungo consegue penetrar o tecido através dos nós da planta (HENNING, 2014).

Os sintomas da *Septoria glycines*, por sua vez, são muito semelhantes aos da *C. kikuchii*. A doença causa manchas de coloração parda e halos amarelados que com o decorrer, aumentam de tamanho podendo chegar a tomar toda a superfície superior e inferior da folha. Ambas doenças, em casos severos, como resultado provocam desfolha e maturação precoce, gerando perdas de rendimento e produtividade. Doenças como a antracnose e a mancha olho de rã, causada pelo fungo *Cercospora sojina*, podem ter ocorrência associada ao aparecimento das doenças do complexo de DFCs. Na Figura 4.12 podemos observar os sintomas das DFCs na folha de soja. (SARAN, 2017).

Figura 4.12: Sintomas em evolução das DFCs.



Fonte: Saran, 2017.

4.4 Métodos alternativos de controle fitossanitário.

4.4.1 Controle Biológico e o manejo integrado

Apesar do termo “Controle biológico de doenças” ter se popularizado nos últimos anos no Brasil, o primeiro artigo publicado no país sobre o tema é datado do ano de 1950, pelo autor Reinaldo Foster, pesquisador do Instituto Agrônomo de Campinas (BETTIOL E MORANDI, 2009). Por controle biológico, entende-se “Controle de um microrganismo por outro microrganismo” (GRIGOLETTI JÚNIOR, SANTOS E AUER, 2000) ou ainda, de forma mais abrangente, como proposto por Baker e Cook, 1974, pode-se entender como definição ou conceito que se trata da “redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocado por um ou mais organismos, realizando naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas”.

A ideia de utilizar inimigos naturais no controle de doenças e pragas, no entanto, é ainda mais antiga. Segundo Gallo et al., 1988, o conhecimento da existência de inimigos naturais de insetos remota ao século III, quando chineses utilizavam formigas predadoras no controle de insetos de citros. De acordo com Moraes, 2009, produtos naturais foram utilizados para essa finalidade até metade do século XIX. Dentre outros, produtos à base de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, *Chrysanthemum roseum*, *Chrysanthemum coccineum* (flores do piretro) e *Nicotiana*, eram utilizados, principalmente, como inseticidas e fungicidas.

Com o crescimento populacional, juntamente com o aumento da demanda por insumos agrícolas e impulsionados pelo advento da segunda guerra mundial, iniciou-se a busca por substâncias que fossem mais eficientes e pudessem substituir os métodos de controle convencionais, a base de compostos naturais, utilizados naquela época. Por alguns anos, os produtos sintéticos se apresentaram como a solução ideal para o controle fitossanitário, porém o uso indiscriminado dessas substâncias desencadeou uma série de outros problemas, não só ambientais, mas também para saúde humana, devido a sua alta toxicidade, gerando assim uma onda de conscientização e a necessidade de resgatar o uso

de substâncias naturais, biologicamente ativas e que fossem menos prejudiciais (MORAIS, 2009).

Segundo Lanna Filho, Ferro e Pinho, 2010, o controle biológico por microrganismos apresenta-se como uma alternativa inteligente para a redução do uso de agroquímicos, uma vez que a diversidade de microrganismos, bem como suas relações de interação surgem como ferramentas imprescindíveis para o controle de fitopatógenos. Dentre os tipos de interações realizadas pelos microrganismos que contribuem para o biocontrole podemos citar (PAL E GARDENER, 2006):

- Mutualismo: associação entre duas ou mais espécies onde ambas se beneficiam. Esse tipo de interação favorece o desenvolvimento da planta, fortificando-a por meio de uma nutrição melhorada e/ou estimulando defesas contra patógenos.
- Comensalismo: interação simbiótica, onde um organismo se beneficia e o outro não é prejudicado nem beneficiado. O microrganismo não causa danos ou benefícios à planta, porém age dificultando no desenvolvimento do patógeno.
- Antagonismo: resulta em consequências negativas para um organismo ou ambos.
- Competição: o biocontrole ocorre quando um não patógeno compete com patógenos por nutrientes na planta hospedeira, dificultando o desenvolvimento desse.
- Parasitismo: um organismo parasita se beneficia, enquanto o outro é prejudicado. Organismos que parasitam patógenos de plantas podem ser utilizados como método de biocontrole.

As bactérias antagonistas do grupo *Bacillus* spp., são um dos principais agentes de controle biológico, com destaque para a espécie *Bacillus subtilis*. Essa espécie tem sido utilizada comercialmente não só como agente de biocontrole, mas também como promotora de crescimento (GRIGOLETTI JÚNIOR, SANTOS E AUER, 2000) e (LANNA FILHO, FERRO E PINHO, 2010).

Apesar de não gerarem impactos negativos significativos ao ecossistema ou a saúde humana e apresentarem efeitos de controle fitossanitário comprovados, os

produtos biológicos ainda não são capazes de substituir por completo os químicos. Grigoletti Júnior, Santos e Auer, 2000, apontam que diferente do controle químico, o controle biológico não apresenta um efeito imediato e total, podendo ainda estar abaixo do necessário. Os autores ressaltam que a falta de um melhor entendimento a respeito da ecologia do patógeno e do antagonista impedem o pleno sucesso do método de controle, indicando como limitantes fatores como:

- Cultivo em grande escala e sucessivo: alguns microrganismos podem perder ou reduzir sua capacidade patogênica, diminuindo a eficiência do controle;
- Fatores edafoclimáticos (relativos ao solo e ao clima): antagonistas podem sofrer com as variações, não exacerbando todo seu potencial quando as condições se afastam do ótimo.

Nessa perspectiva o manejo integrado propõe a associação de múltiplas táticas de proteção de plantas, tendo como base um conjunto de regras, idealizadas a partir de considerações econômicas, sociais e ambientais, que orientam a tomada de decisão. O manejo integrado de doenças (MID) combina métodos físicos, mecânicos, genéticos, legislativos, biológicos e químicos para otimizar o controle, visando alcançar o máximo de produtividade e qualidade, reduzindo os impactos ambientais ocasionados pelo uso exclusivo e indiscriminado de fitossanitários (CARVALHO E BARCELLOS, 2012).

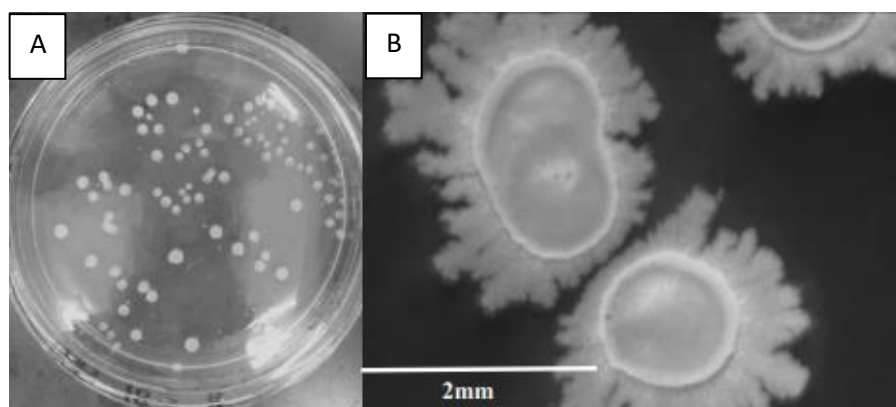
Dentre as táticas de controle propostas pelo manejo integrado de doenças podemos citar: época de plantio adequada, tratamento prévio da semente, utilização de mudas/variedades sadias ou resistentes geneticamente, realização da rotação de cultura, monitoramento, métodos mecânicos, físicos, de controle biológico e como último recurso, o controle químico. Sendo assim, o controle biológico quando associado à outras táticas de manejo, contribui com uma drástica redução do uso de fitossanitários, sem que comprometa o rendimento da cultura (VENTURA, 2016).

4.4.2 *Bacillus subtilis* como uma ferramenta biotecnológica: Biocontrole

Pertencente ao grupo das bactérias quimiorganotróficas, gram positivas, o *Bacillus subtilis* é uma das espécies mais estudadas como agente de biocontrole. A rizobactéria é encontrada em abundância no solo, podendo ainda sobreviver em ambientes extremos como desertos e geleiras (GRIGOLETTI JÚNIOR, SANTOS E AUER, 2000). Segundo Carvalho, 2005, esses microrganismos possuem várias vantagens que influenciam sua utilização no biocontrole, como: tolerância a altas temperaturas, rápido crescimento em meio líquido, ausência de patogenicidade para a maioria das espécies e produção de esporos tolerantes ao calor, frio, condições extremas de pH, pesticidas, fertilizantes e ao tempo de estocagem.

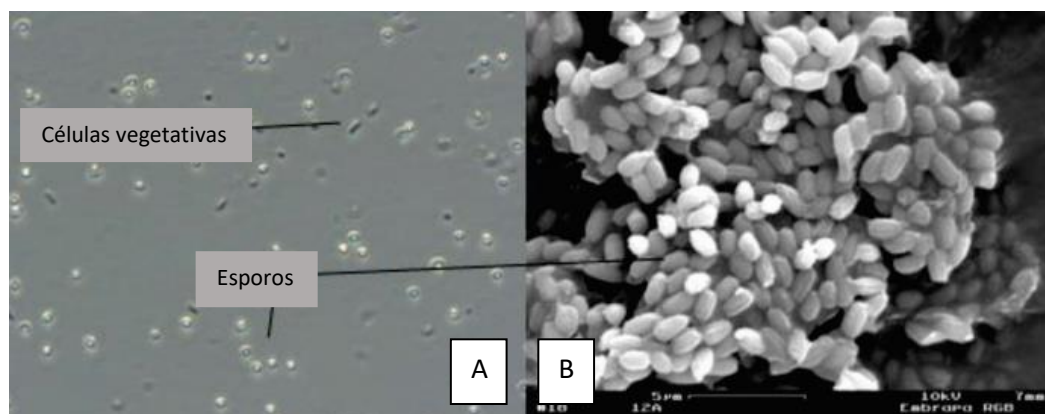
O *B. subtilis* é uma bactéria móvel, aeróbia facultativa, cujos esporos apresentam formato cilíndrico ou elipsoidal. Suas colônias têm colorações que variam do esbranquiçado ao preto, a depender do meio de cultura utilizado. Essa espécie se destaca devido a produção de inúmeros metabólitos secundários de interesse tanto no âmbito agrícola como medicinal (MONNERAT R., et al., 2020). Nas Figuras 4.13 e 4.14, podemos observar as características das suas colônias (A e B), células (A) e esporos (B), respectivamente.

Figura 4.13: Ilustração das colônias de *B. Subtilis* isoladas em diluição 10^3 (A) e suas características visuais (B).



Fonte: Gonçalves et al., 2017.

Figura 4.14: Células vegetativas (A) e esporos (B) de *B. subtilis* vistas através de microscopia de contraste de fase, microscopia eletrônica de varredura, respectivamente.



Fonte: Monnerat R., et al., 2020.

Alves et al., 2018, aponta a espécie como uma versátil ferramenta biotecnológica. Segundo os autores, as culturas dessas bactérias já eram muito populares mesmo antes da sua inserção no domínio agrícola. Essas eram de interesse mundial previamente aos antibióticos, uma vez que, a partir do ano de 1946, por toda América e Europa, essas bactérias foram utilizadas como agentes imunoestimulantes no auxílio de tratamentos do trato gastrointestinal. Em regiões da Ásia e África, por outro lado, esporos de *B. subtilis* foram utilizados como probióticos para humanos e animais. Os autores ainda ressaltam que a utilização dessas bactérias com finalidades industriais data-se de mais de mil anos, sendo aplicada na fermentação de *natto* (alimento tradicional japonês a base de soja fermentada) pela primeira vez em 1982, no Japão.

No contexto agrícola, o gênero *Bacillus* apresenta uma atividade biológica contra uma vasta gama de bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos devido à produção de antibióticos peptídicos, com destaque para o grupo de lipopeptídeos representando a classe de surfactantes microbiológicos mais eficientes e de maior interesse biotecnológico. Essas substâncias podem atuar como antibióticos, antifúngicos, antivirais, imunomoduladores, inibidores enzimáticos e toxicológicos (CARVALHO, 2005).

Dentre os metabólitos antifúngicos produzidos pelo gênero encontram-se lipopeptídeos das famílias surfactina, inturina e fengicina que, apesar da semelhança estrutural, diferem entre si em alguns aspectos biológicos em relação

a sua atividade. Inturinas e fengicinas, por exemplo, apresentam uma forte atividade antifúngica, sendo ainda inibidores de crescimento de uma ampla gama de fitopatógenos. As surfactinas, por outro lado, não desempenham atividade antifúngica isoladamente, porém exercem um efeito sinérgico quando associadas à inturina. (LANNA FILHO, FERRO E PINHO, 2010).

Segundo Oliveira, 2006, estudos realizados com a inturina A mostraram que essa se comporta como uma molécula anfifílica não-iônica contendo estruturas fosfolipídicas e esteróis como sítios alvo de ação. Tais moléculas agem sobre fungos e leveduras induzindo a abertura de poros/canais iônicos nas membranas de suas células, aumentando a permeabilidade e condutância a íons, principalmente K⁺, causando desequilíbrio eletroquímico entre os meios intra e extracelular e consequentemente levando a morte celular. O autor ainda ressalta que a presença da surfactina no meio age facilitando a interação da inturina A com os fosfolipídeos, uma vez que, devido sua forte propriedade surfactante, a surfactina apresenta uma atividade citolítica, enfraquecendo a membrana celular e permitindo o ataque da inturina A.

Como consequência de suas características metabólicas, bactérias *B. subtilis* são antagonistas, estabelecendo interações de antibiose e, ocasionalmente, de parasitismo e competição com um vasto espectro de microrganismos, (LANNA FILHO, FERRO E PINHO, 2010). Segundo Junges, 2016, o *Bacillus subtilis* pode não só atuar no biocontrole de fitopatógenos de forma direta, mas também indireta. A autora elucida que na forma indireta de ação, as bactérias dessa espécie são capazes de atuar como eliciadoras da resistência sistêmica induzida (ISR).

4.4.3 Resistência sistêmica induzida e o *Bacillus subtilis*.

As plantas apresentam um sistema de defesas estruturais e bioquímicas que, apesar de não ser comparável ao sistema de defesa imunológica dos animais, é capaz de evitar ou atrasar o desenvolvimento de uma vasta gama de microrganismos patogênicos gerando, para isso, condições desfavoráveis que inviabilizam a colonização de seus tecidos. Esses mecanismos de defesa, também denominados como fatores de resistência, podem ser divididos em (FINGER, 2015):

- Pré-formados: aqueles que já existem na planta previamente o contato com o patógeno. Podem ser estruturais, como as cutículas, tricomas e paredes celulares espessas, ou bioquímicos, como moléculas com atividade antimicrobiana, encontradas geralmente em altas concentrações, que são capazes de converter compostos em substâncias altamente tóxicas.
- Pós-formados: os fatores bioquímicos pós-formados, por sua vez, se apresentam ausentes nas células vegetais ou em baixas concentrações, manifestando-se apenas após o contato da planta com o patógeno ou agentes indutores que funcionam como eliciadores da resposta imune.

Araújo e Menezes, 2009, esclarecem que os mecanismos de defesa pós-formados das plantas podem ser geneticamente controlados e a possibilidade de ativação desses genes, em determinadas condições, torna as plantas mais resistentes, criando um fenômeno de indução de resistência que pode ser tanto local, como sistêmica. Esse aumento da resistência mediado por agentes externos pode ser classificado como resistência sistêmica adquirida (SAR), quando a indução dos mecanismos de defesa é feita através do contato com o próprio patógeno ou elicitores produzidos pelos mesmos, e resistência sistêmica induzida (ISR), que ocorre quando a planta é estimulada a ativar seus mecanismos de defesa sem que haja contato com o patógeno. Segundo os autores, o agente indutor da ISR pode ser um ativador químico (agente abiótico), microrganismos não patogênicos vivos ou extrato de suas células (agentes bióticos).

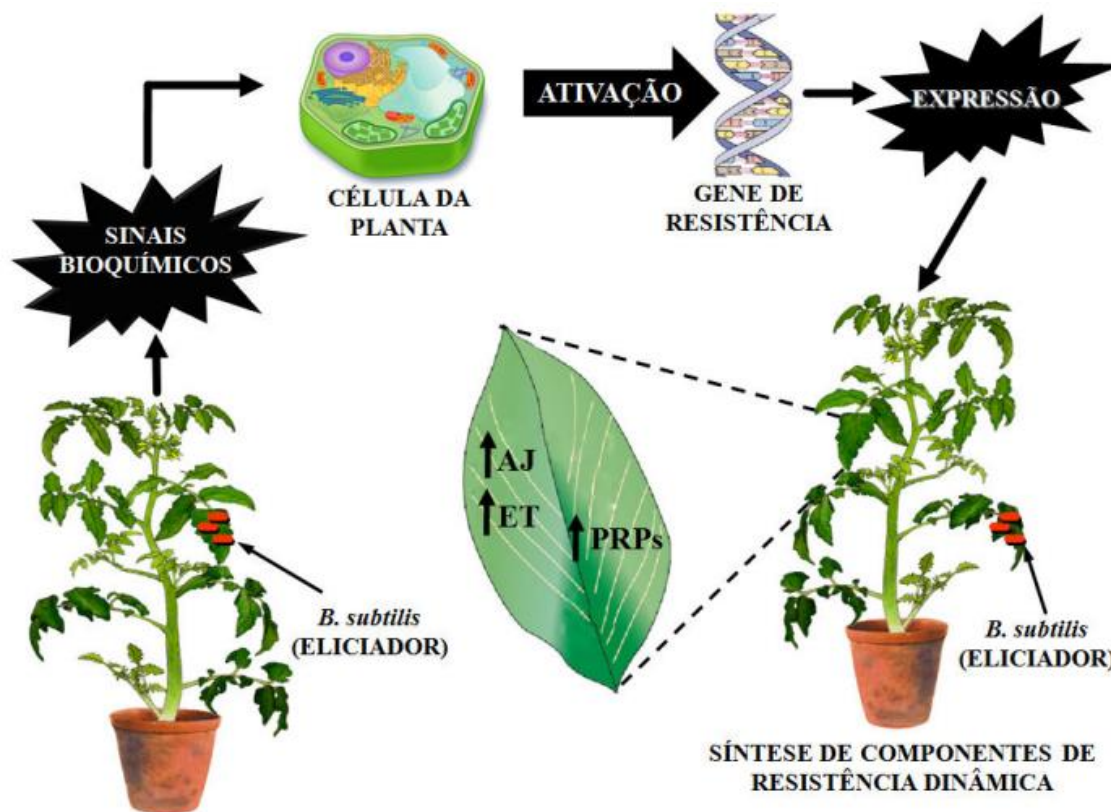
A ISR ocorre quando a planta recebe um “sinal externo” (agentes indutores bióticos ou abióticos) e a exposição a esses eliciadores induzem uma cascata de transdução de sinais, ativando rotas metabólicas específicas. Com o reconhecimento do eliciador por um PRR (receptores de reconhecimento de padrão) na superfície da planta, as rotas de sinalização envolvendo ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) são ativadas, resultando na biossíntese de altos níveis de AJ e ET no interior da célula vegetal. O acúmulo do ácido jasmônico e etileno levam a expressão dos genes relacionados à patogênese (PR), conferindo a planta resistência a futuros ataques, uma vez que o seu nível de preparação contra patógenos é aumentado (ENGELBERTH E TAIZ, 2017).

Como exemplo de respostas potencializadas pela ISR podemos citar (ENGELBERTH, J., TAIZ, L., 2017):

- O acúmulo de enzimas relacionadas à defesa, como as hidrolases β -1-3-glucanase e quitinase, que promovem a desorganização da parede celular de patógenos, as peroxidases e a fenilalanina amônia liase, que estão envolvidas do processo de lignificação da parede celular (BARROS et al., 2010).,
- Reforço da parede celular;
- Acúmulo de metabólitos secundários.

Nesse contexto, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), como o *Bacillus subtilis*, se apresentam como potenciais agentes indutores bióticos, uma vez que metabólitos secundários produzidos pelas mesmas podem atuar como elicitores da ISR (BARROS et al., 2010). Resultados promissores foram obtidos por Finger, 2015, em folhas de videira contra míldio, por Gaspar Júnior, 2015, contra os patógenos *Fusarium subglutinans*, *Curvularia luneta* e *Bipolaris*, por Podile et al., 1995, no amendoim contra o *Aspergillus niger* spp., dentre outros. Lanna Filho, Ferro e Pinho, 2010, ressaltam, por sua vez, que compostos voláteis metabolizados por *B. subtilis* também podem levar a planta ao estado de indução, como foi observado em plantas de *Arabidopsis* contra o patógeno *Pectobacterium carotovorum*. Na Figura 4.15 podemos observar um diagrama esquemático do fenômeno de resistência induzida (ISR) mediada pelo *B. subtilis*.

Figura 4.15: Diagrama esquemático do fenômeno de resistência induzida, ocasionado pelo agente de biocontrole *B. subtilis*.



Fonte: Lanna Filho, Ferro e Pinho, 2010.

Se tratando da cultura da soja, estudos realizados por Dorighello, 2017, apontam que isolados de *B. subtilis* são capazes de inibir cerca de 7% do crescimento micelial do fungo *C. cassicola*, causador da mancha alva, além de reduzir a severidade da ferrugem asiática em folhas de soja destacadas em até 96% com aplicação preventiva e até 47% com aplicação curativa. O autor justifica tais resultados ressaltando que os metabólitos produzidos por *Bacillus* são considerados termicamente estáveis, possuem atividade em uma ampla faixa de pH e apresentam um efeito microbiano duradouro. Em um segundo experimento, o autor obteve, dentre os tratamentos utilizados, a maior produtividade para as aplicações intercaladas de *Bacillus* e de fungicidas (47% superior à testemunha) na cultura da soja, seguido do tratamento à base apenas de fungicidas nas quatro aplicações (41% superior à testemunha).

Ainda segundo os resultados obtidos por Dorighello, 2017, o *B. subtilis* além de contribuir no controle da FAS, “pode se tornar um importante aliado frente a outros patógenos como *Corynespora cassiicola* e *Cercospora sojina*, que também apresentam relatos de perda de sensibilidade a fungicidas.” Nesse cenário, o *B. subtilis* se configura como uma ferramenta de biocontrole promissora para a cultura da soja, principalmente quando utilizada como parte de um manejo integrado diversificando a rotação de produtos e contribuindo com a redução do uso de agroquímicos, bem como dos problemas com resistência de patógenos causados pelo uso exclusivo de fungicidas.

5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1 Material

- Sementes de soja Monsoy da variedade 8349 RR IPRO;
- Pulverizador agrícola costal com cilindro de CO₂;
- Isolados de *Bacillus subtilis*;
- Fungicidas: Elatus, Ochima, Fox, Aureo, Unizeb Gold, Cronnos e Rumba.

5.2 Metodologia

Os experimentos foram realizados no campo experimental da Fundação Bahia, instituição de apoio à pesquisa e desenvolvimento do Oeste baiano, em colaboração com a SOLUBIO, startup voltada ao desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis e econômicas na atividade rural, no período compreendido entre dezembro de 2020 e abril de 2021, safra 2020/21.

5.2.1 Multiplicação de *B. subtilis*

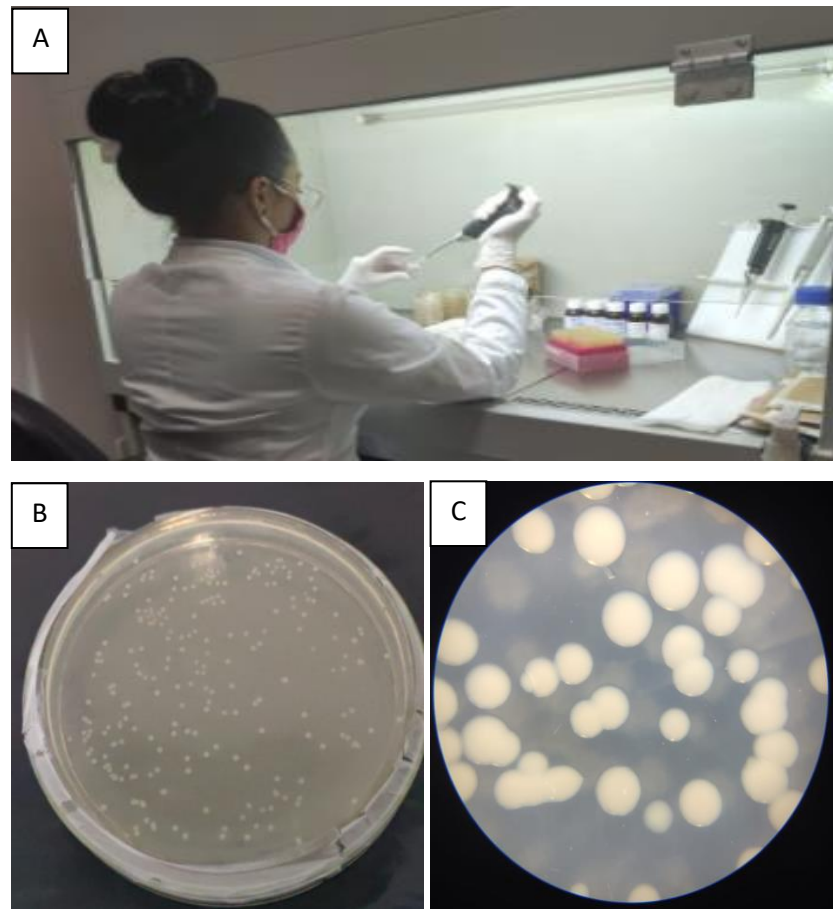
A multiplicação do microrganismo foi feita em laboratório seguindo o protocolo operacional padrão da Solubio, empresa detentora da tecnologia. Para o procedimento foi utilizado um biorreator de 250 L, inóculo e substrato fornecidos pela empresa. As multiplicações foram realizadas em bateladas de 24 horas, pouco antes das aplicações programadas. Cada batelada teve amostras retiradas para análise de qualidade, na qual o teste de coloração de gram foi executado para atestar a pureza das amostras, e quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC's), feita a partir de um processo de diluição fracionada utilizando solução salina 0,85% e plaqueamento das diluições 10^4 , 10^6 e 10^8 em meio TSA. O produto finalizado foi armazenado sob refrigeração por no máximo 3 dias.

Figura 5.1: Biorreator de 250 L utilizado na multiplicação.



Fonte: A autora.

Figura 5.2: Procedimento operacional padrão para análise de qualidade das amostras das multiplicações do *B. subtilis* (A) e quantificação de UFC's (B e C).



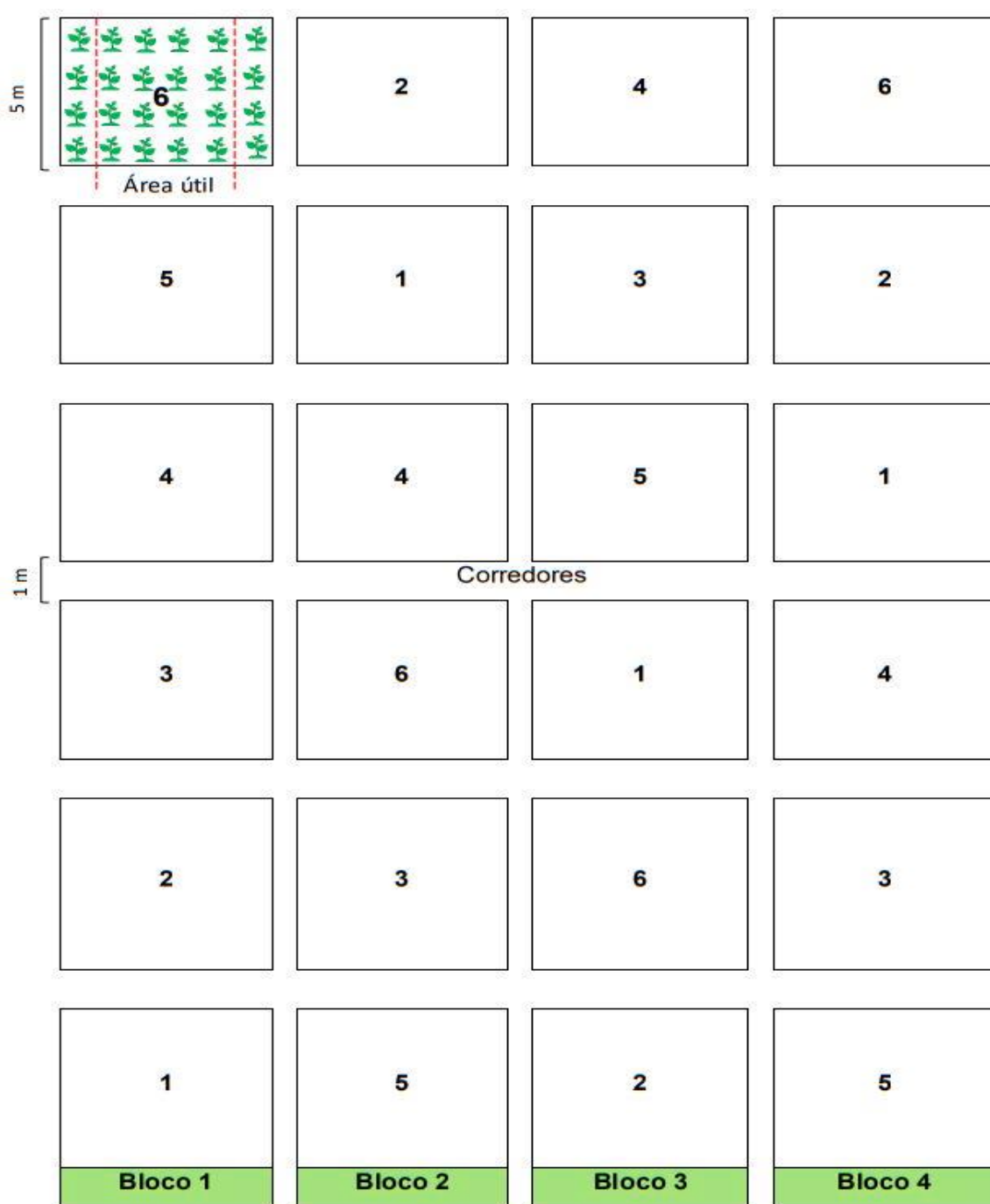
Fonte: A autora.

5.2.3 Delineamento experimental

O experimento em campo foi montado adotando um delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada bloco constituído por 6 parcelas. As parcelas foram compostas por 6 linhas de 5 metros de comprimento, uma vez que, para a avaliação dos tratamentos, foi considerada como área útil as quatro linhas centrais, e como bordaduras, as duas linhas externas (Figura 5.3). Os resultados obtidos para as variáveis estudadas provenientes da área útil de cada parcela experimental foram submetidos à análise de variância e os efeitos estatisticamente significativos foram analisados pelo teste de Scott-Knott com 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa Sisvar.

O ensaio fundamentou-se na avaliação de 6 tratamentos distribuídos casualmente dentro das parcelas de cada bloco do experimento como mostrado no croqui da Figura 5.3. A relação dos tratamentos, doses e metodologias de aplicação estudados no presente trabalho encontram-se dispostas na Tabela 5.1.

Figura 5.3: Croqui do ensaio implementado no campo experimental apresentando o número referente ao tratamento aplicado em cada parcela.



Fonte: A autora.

Tabela 5.1: Relação dos tratamentos, produtos e épocas de aplicação avaliados.

| Nº | Tratamentos | Produtos | Doses | Época e identificação da aplicação |
|----|--|--|---|---|
| 1 | Testemunha (sem aplicação) | -- | -- | -- |
| 2 | <i>B. subtilis</i> em V3 | <i>B. subtilis</i> | 2 L/ha | Estádio V3 da soja- A |
| 3 | Padrão fungicida | Elatos + Ochima Fox + Aureo Fox + Aureo + Unizeb Gold Cronnos + Rumba | 0,2 L/ha + 0,25 L/ha 0,5 L/ha + 0,25 % v/v 0,5 L/ha + 0,25% v/v + 1,5 Kg/ha 2,25 L/ha + 0,5% v/v | Estádio R1 da soja- B 15 dias após a aplicação B (R1+15) - C 15 dias após a aplicação C (R1+30) - D 15 dias após a aplicação D (R1+ 45) - E |
| 4 | <i>B. subtilis</i> em V3 + padrão fungicida | <i>B. subtilis</i> Elatos + Ochima Fox + Aureo Fox + Aureo + Unizeb Gold Cronnos + Rumba | 2 L/ha 0,2 L/ha + 0,25 L/ha 0,5 L/ha + 0,25 % v/v 0,5 L/ha + 0,25% v/v + 1,5 Kg/ha 2,25 L/ha + 0,5% v/v | Estádio V3 da soja- A Estádio R1 da soja- B 15 dias após a aplicação B (R1+15) - C 15 dias após a aplicação C (R1+30) - D 15 dias após a aplicação D (R1+ 45) - E |
| 5 | <i>B. subtilis</i> em todas as aplicações | <i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> | 2 L/ha 2 L/ha 2 L/ha 2 L/ha 2 L/ha | Estádio V3 da soja- A Estádio R1 da soja- B 15 dias após a aplicação B (R1+15) - C 15 dias após a aplicação C (R1+30) - D 15 dias após a aplicação D (R1+ 45) - E |
| 6 | <i>B. subtilis</i> em todas a aplicações + padrão fungicida | <i>B. subtilis</i> Elatos + Ochima + <i>B. subtilis</i> Fox + Aureo + <i>B. subtilis</i> Fox + Aureo + Unizeb Gold + <i>B. subtilis</i> Cronnos + Rumba + <i>B. subtilis</i> | 2 L/ha 0,2 L/ha + 0,25 L/ha + 2 L/ha 0,5 L/ha + 0,25 % v/v + 2 L/ha 0,5 L/ha + 0,25% v/v + 1,5 Kg/ha + 2L/ha 2,25 L/ha + 0,5% v/v + 2L/ha | Estádio V3 da soja- A Estádio R1 da soja- B 15 dias após a aplicação B (R1+15) - C 15 dias após a aplicação C (R1+30) - D 15 dias após a aplicação D (R1+ 45) - E |

Fonte: A autora.

O programa padrão fungicida de aplicação se refere a metodologia comumente indicada para o tratamento de doenças de uma cultura. Tendo em vista que os fitossanitários tem como um dos pontos negativos o desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos, um programa padrão de aplicação apropriado deve intercalar o uso de produtos com diferentes princípios ativos. Sendo assim, nesse trabalho avaliou-se a eficiência do *Bacillus subtilis* como agente de biocontrole isoladamente (tratamentos 2 e 5, Tabela 5.1) ou quando associado ao tratamento padrão frequentemente utilizado por produtores da região (tratamentos 4 e 6, Tabela 5.1). Os tratamentos 1 e 3 (Tabela 5.1) foram incluídos a quesito de comparação com os demais resultados. As doses, bem como a metodologia de aplicação, foram feitas seguindo recomendação do fabricante e protocolo sugerido pela SOLUBIO, para os fitossanitários e o *B. subtilis*, respectivamente. Dados de precipitação, umidade relativa do ar e temperaturas foram coletados pela estação meteorológica do campo experimental da Fundação BA durante toda a safra.

Figura 5.4: Aplicação dos tratamentos no ensaio em campo.



Fonte: A autora.

5.2.4 Avaliações periódicas

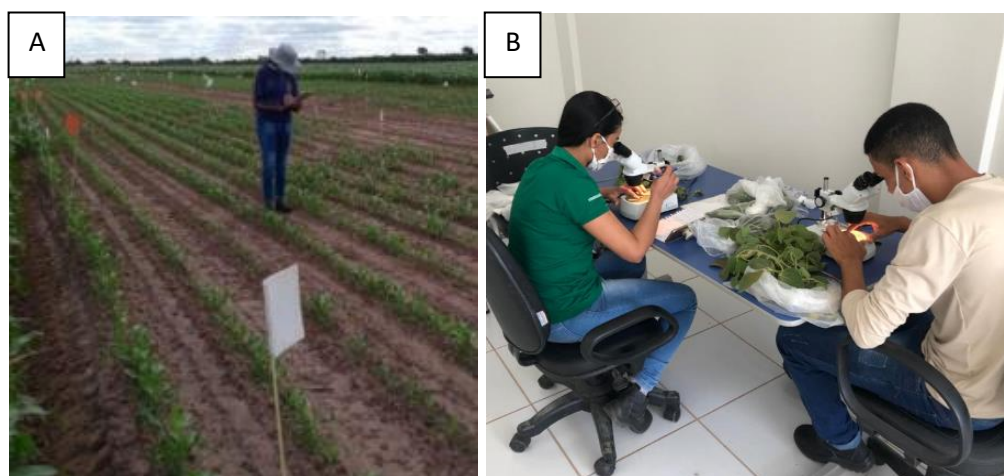
Na Tabela 5.2 encontram-se as avaliações realizadas no ensaio, bem como sua metodologia e periodicidade.

Tabela 5.2: Avaliações realizadas no ensaio.

| Avaliações | Metodologia | Periodicidade |
|------------------------------|---|--|
| Severidade de doenças | Foram coletados 10 trifólios do baixeiro, terço médio e ponteiro das plantas. As folhas foram avaliadas quanto a severidade das doenças observadas. Dados significativos só foram obtidos para a ocorrência da ferrugem, sendo assim, as folhas foram avaliadas atribuindo-lhes notas de acordo com a escala diagramática de severidade de ferrugem, Anexo A. | Antes de cada aplicação + 7 dias após a última aplicação (E+7) |
| Desfolha | Atribuiu-se notas, de acordo com a escala diagramática de avaliação de desfolha, Anexo B, para cada parcela. | Após a última aplicação |
| Produtividade (Kg/ha) | Foi realizado o PMG (peso de mil grãos), peso total e umidade de cada parcela após colheita (4 metros das duas linhas centrais, totalizando 8 metros colhidos) e beneficiamento. | Pós-colheita |

Fonte: A autora

Figura 5.5: Realização das avaliações periódicas no ensaio (A e B).



Fonte: A autora.

Figura 5.6: Colheita (A) e beneficiamento da soja (B).

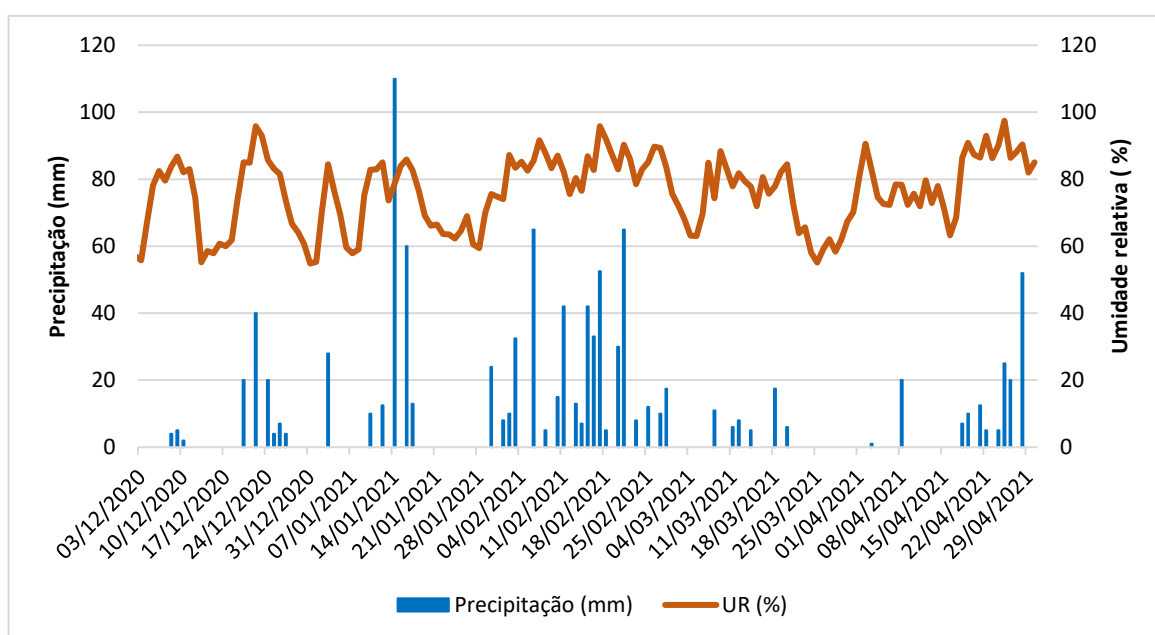


Fonte: A autora.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

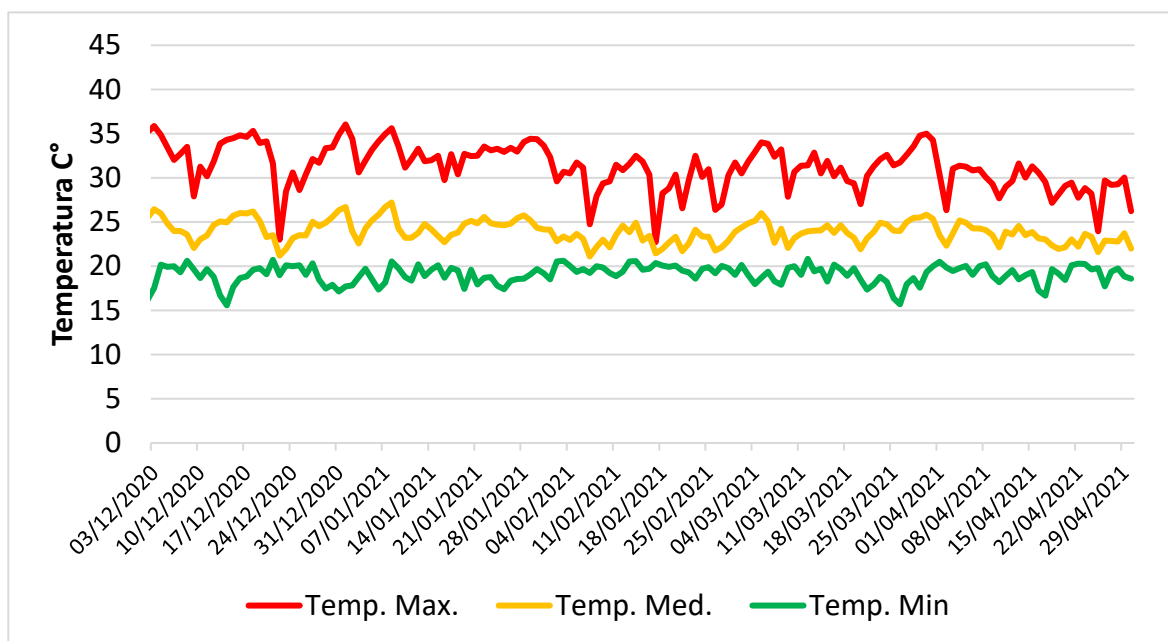
A partir dos dados coletados pela estação meteorológica do campo experimental da Fundação BA, verificou-se que a safra de 2020/21, compreendida entre o período de dezembro de 2020 a abril de 2021, foi caracterizada por intensos períodos chuvosos e conseqüentemente uma alta umidade relativa do ar (Figura 6.1), além de temperaturas médias em torno dos 25 ° C (Figura 6.2).

Figura 6.1 Precipitação (mm) e umidade relativa do ar (%) semanal entre o período de plantio e colheita da cultura da soja em Luís Eduardo Magalhães, Ba.



Fonte: A autora.

Figura 6.2: Temperaturas máxima, média e mínima entre o período de plantio e colheita da cultura de soja em Luís Eduardo Magalhães, BA.



Fonte: A autora.

As condições climáticas não só favoreceram o desenvolvimento do fungo *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática da soja, como também contribuíram para que a doença se instalasse na cultura com uma maior severidade quando comparada as safras anteriores, mostrando seus sintomas logo nos primeiros estádios reprodutivos. A ferrugem se estabeleceu de forma tão intensa que demais patologias não foram observadas ou apresentaram relevância. Por esse motivo, apesar de terem sido feitas avaliações para outras doenças, dados significativos só foram obtidos para a ocorrência da ferrugem.

Como resultados do processo da multiplicação do *B. subtilis* foram obtidos produtos que, a partir da quantificação das unidades formadoras de colônias, alcançaram o pico máximo de crescimento em até 48 horas e apresentaram uma concentração média na ordem de 10^9 UFC/ml. Durante o experimento foram realizadas cinco multiplicações, conciliando-as com os estádios da soja e as aplicações programadas no ensaio em campo. Na Tabela 6.1 encontram-se as concentrações atingidas para os produtos em cada aplicação.

Tabela 6.1: Resultados da quantificação de UFC's das amostras das multiplicações do *B. subtilis* em cada aplicação realizada.

| Identificação | Época da aplicação | UFC/ml |
|---------------|--------------------------------------|-------------------------|
| A | Estádio V3 da soja | 1,32 x 10 ¹⁰ |
| B | Estádio R1 da soja | 4,3 x 10 ⁷ |
| C | 15 dias após a aplicação B (R1+15) | 3,4 x 10 ⁸ |
| D | 15 dias após a aplicação C (R1+30) | 1,6 x 10 ⁷ |
| E | 15 dias após a aplicação D (R1+ 45). | 2,1 x 10 ⁸ |

Fonte: A autora.

Nas Tabelas 6.2, 6.3 e 6.4 registram-se os resultados provenientes das análises de variância e estatística partindo dos dados coletados nas avaliações de severidade de doença (ferrugem), desfolha e produtividade, respectivamente.

Tabela 6.2: Médias de severidade (%) e área abaixo da curva de progressão de doença (AACPD) da ferrugem asiática da soja observadas em função dos diferentes tratamentos utilizados no programa de manejo, para as diferentes épocas de avaliação na cultura da soja. Tratamentos 1: Testemunha; 2: *B. subtilis* em V3; 3: padrão fungicida; 4: *B. subtilis* em V3 + padrão fungicida; 5: *B. subtilis* em todas as aplicações; 6: *B. subtilis* + padrão fungicida em todas as aplicações. Avaliação das aplicações A: estágio V3 da soja; B: estágio R1 da soja; C: 15 dias após aplicação B; D: 15 dias após aplicação C; E: 15 dias após aplicação D; E+7: 7 dias após aplicação E.

| Tratamentos | Avaliação das aplicações | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|--------------------------|---|------|---|-------|-------|-------|---|-------|---|-------|---|---------|---|
| | A | B | C | D | E | E + 7 | AACPD | | | | | | | |
| 1 | 0,00 | a | 0,00 | a | 5,52 | c | 17,63 | b | 45,70 | d | 60,25 | c | 1060,75 | c |
| 2 | 0,00 | a | 0,00 | a | 5,25 | c | 19,05 | b | 45,10 | d | 53,29 | b | 1047,11 | c |
| 3 | 0,00 | a | 0,00 | a | 3,96 | b | 5,62 | a | 16,22 | b | 18,83 | a | 387,80 | b |
| 4 | 0,00 | a | 0,00 | a | 2,20 | a | 5,13 | a | 8,45 | a | 15,75 | a | 257,88 | a |
| 5 | 0,00 | a | 0,00 | a | 5,75 | c | 20,43 | b | 40,85 | c | 52,66 | b | 1026,29 | c |
| 6 | 0,00 | a | 0,00 | a | 2,45 | a | 6,32 | a | 11,48 | a | 14,25 | a | 307,66 | a |
| CV (%) | 0,00 | | 0,00 | | 13,71 | | 14,86 | | 10,49 | | 8,69 | | 7,83 | |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. CV: Coeficiente da variação. Fonte: A autora.

Tabela 6.3: Porcentagem de desfolha (%) em função dos diferentes tratamentos. Tratamentos 1: Testemunha; 2: *B. subtilis* em V3; 3: padrão fungicida; 4: *B. subtilis* em V3 + padrão fungicida; 5: *B. subtilis* em todas as aplicações; 6: *B. subtilis* + padrão fungicida em todas as aplicações.

| Tratamentos | Avaliação de desfolha |
|-------------|-----------------------|
| | Data: (23/03/21) |
| 1 | 82,5 c |
| 2 | 78,75 c |
| 3 | 42,5 b |
| 4 | 33,75 a |
| 5 | 81,25 c |
| 6 | 42,5 b |
| CV (%) | 4,53 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. CV: Coeficiente da variação. Fonte: A autora.

Tabela 6.4: Produtividade e peso de mil grãos (PMG) em função dos diferentes tratamentos. Tratamentos 1: Testemunha; 2: *B. subtilis* em V3; 3: padrão fungicida; 4: *B. subtilis* em V3 + padrão fungicida; 5: *B. subtilis* em todas as aplicações; 6: *B. subtilis* + padrão fungicida em todas as aplicações.

| Tratamentos | Produtividade (sc/ha) | PMG (g) |
|-------------|-----------------------|----------|
| 1 | 37,62 b | 106,98 b |
| 2 | 38,50 b | 106,03 b |
| 3 | 62,12 a | 127,05 a |
| 4 | 65,48 a | 125,64 a |
| 5 | 39,77 b | 106,67 b |
| 6 | 63,59 a | 128,46 a |
| CV (%) | 17,37 | 7,39 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. CV: Coeficiente da variação. Fonte: A autora.

Através da Tabela 6.2, nota-se que a incidência da ferrugem, bem como seus primeiros sintomas, fora percebida a partir da avaliação C (15 dias após o estágio R1) evoluindo sua severidade ao longo da safra. Analisando a progressão da doença (AACPD), observa-se que os tratamentos 2 e 5 não diferiram estatisticamente da testemunha (sem aplicação) apresentando as maiores médias de severidade de ferrugem e conseqüentemente os piores resultados, ao passo

que os tratamentos 4 e 6 mostraram uma maior eficiência de controle, com as menores porcentagens de severidade em todas as aplicações, seguidos do tratamento 3, sendo esse o método de controle convencional a base de fungicidas comumente adotado pelos produtores.

Resultados obtidos por Dorighello et al., 2015, mostraram que o uso de isolados de *B. subtilis* QST 713 no controle da ferrugem em folhas destacadas de soja foi capaz de inibir a germinação de esporos em mais de 70% e reduzir a severidade da doença em mais de 90%, mas que por outro lado a eficiência de controle desse mesmo isolado, ao passar de condições controladas para condições de campo, diminuiu. Já Angonese et al., 2009, em um estudo a respeito do efeito fungistático de *Bacillus* spp., concluiu que isolados do gênero ou moléculas liberadas por eles, têm potencial para serem utilizados em programas de controle biológico ou de manejo integrado de doenças de plantas, reafirmando os resultados obtidos por Dorighello, 2013, que ao realizar um estudo sobre a utilização de isolados de *B. subtilis* QST 713 no controle de ferrugem asiática da soja, observou que os isolados eram capazes de inibir totalmente a germinação de esporos, entretanto, em condições de campo, havia a necessidade de integrar seu uso com outras alternativas, pois aparentemente, separadamente essas bactérias apresentavam eficiência limitada nas condições ecológicas estudadas.

Os resultados obtidos por Dorighello et al., 2015, Angonese et al., 2009 e Dorighello, 2013 vão de encontro aos resultados obtidos no presente trabalho, uma vez que foi observado a ineficiência do *B. subtilis* na redução da severidade de doença quando utilizado isoladamente (tratamentos 2 e 5), o que pode ser justificado por uma possível interferência das condições de campo as quais o ensaio estava submetido, havendo a necessidade de utilizá-lo em associação (tratamentos 4 e 6) para que os efeitos de biocontrole desejados fossem observados. Já o destaque dos tratamentos 4 e 6, perante os demais, comprova o potencial da espécie para ser utilizada como parte de um programa de manejo integrado.

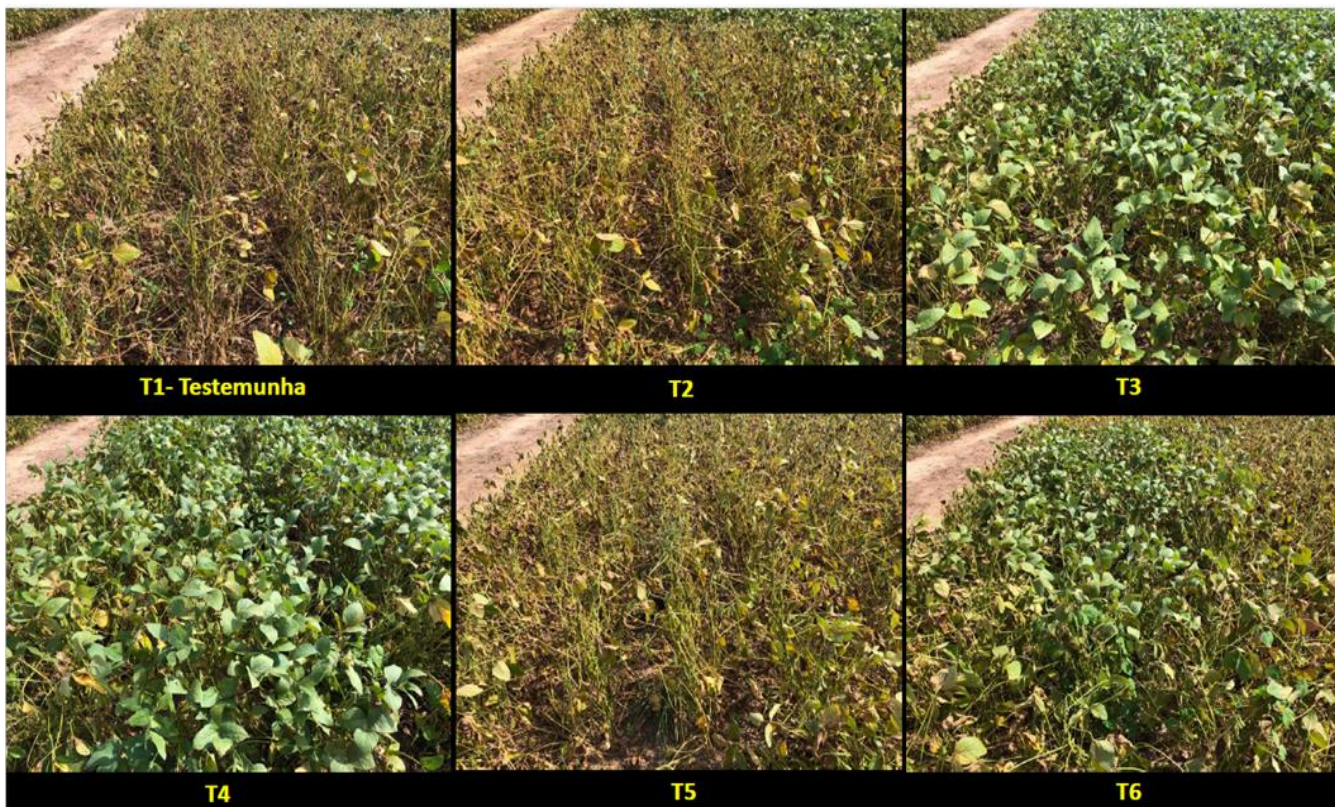
É possível ainda supor que o incremento relacionado ao uso do *B. subtilis* ainda no estágio V3, antes da ocorrência da ferrugem, nos tratamentos 4 e 6, pode estar relacionado a uma provável indução de resistência sistêmica, levando a

planta a ativar seus mecanismos de defesa e permanecer em um “estado de alerta”. Dessa maneira, aproximadamente 20 dias após sua aplicação na cultura, ao se deparar com o patógeno, a resposta de defesa das plantas dessas parcelas foi mais eficaz quando comparada as demais, o que pode ser observado através dos dados da avaliação C, com os tratamentos 4 e 6 apresentando as menores médias de severidade (2,20% e 2,45%, respectivamente) dentre todos os tratamentos para aquela avaliação. Segundo Araújo e Menezes, 2009, o controle biológico relacionado a indução de resistência já foi comprovado com rizobactérias, sendo que resultados obtidos por Schonbeck et al., 1980, mostraram efetividade de proteção sistêmica de filtrados de *B. subtilis* contra oídio, míldio e outras ferrugens em diferentes hospedeiros.

Se tratando da desfolha, pela Tabela 6.3, percebe-se novamente que o tratamento 4 se destacou dos outros, com uma porcentagem de aproximadamente 34%, seguido dos tratamentos 3 e 6 que não diferiram estatisticamente entre si e detiveram o segundo melhor desempenho, com 42,5% de desfolha. Esses resultados estão diretamente relacionados aos dados da Tabela 6.2, uma vez que a progressão da doença causa, como um dos principais sintomas, a desfolha precoce das plantas infectadas, o que justifica a similaridade dos resultados quanto ao desempenho dos tratamentos em ambas tabelas. Os tratamentos que melhor controlaram a doença e reduziram a sua severidade, evitaram que as plantas perdessem suas folhas precocemente, apresentando conseqüentemente as menores porcentagens de desfolha. Em contrapartida, os tratamentos 1, 2 e 5 obtiveram os piores resultados, com os maiores índices de desfolha para essa avaliação.

Na Figura 6.3 podemos observar visualmente o impacto causado pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, bem como a eficiência do controle da severidade da doença e a porcentagem da desfolha nas parcelas de cada tratamento.

Figura 6.3: Ilustração dos tratamentos durante a avaliação de desfolha. T1: tratamento 1 (Testemunha); T2: tratamento 2 (*B. subtilis* em V3); T3: tratamento 3 (padrão fungicida); T4: tratamento 4 (*B. subtilis* em V3 + padrão fungicida); T5: tratamento 5 (*B. subtilis* em todas as aplicações); T6: tratamento 6 (*B. subtilis* + padrão fungicida em todas as aplicações).



Fonte: A autora.

A produtividade, nesse cenário, é uma consequência do controle da severidade e progressão da doença associado a porcentagem de desfolha da parcela, já que, segundo Abdelnoor et al., 2013, a queda das folhas interrompe a atividade fotossintética das plantas e interfere na formação plena dos grãos. Sendo assim, intuitivamente, partindo dos resultados apresentados anteriormente para severidade e desfolha, espera-se que as parcelas que receberam os tratamentos 3, 4 e 6 tivessem uma maior produtividade, o que pode ser confirmado através dos dados da Tabela 6.4, com produtividades de aproximadamente 62 sc/ha, 65 sc/ha e 64 sc/ha para os tratamentos 3, 4 e 6 respectivamente. Nesse caso, os 3 tratamentos em questão não diferiram estatisticamente entre si e da mesma forma também apresentaram os melhores resultados para o peso de mil grãos (PMG) (aproximadamente 127 g, 126 g e 128 g, respectivamente), sugerindo que o desenvolvimento das plantas, bem como o processo de formação, enchimento e

maturação dos grãos foi favorecido pelos tratamentos utilizados. Já os tratamentos 2 e 5, utilizando o *B. subtilis* isoladamente não discordaram da testemunha, mostrando-se iguais quando analisados estatisticamente pelo teste Scott-Knott. Radons, 2016, por sua vez, avaliando o *B. subtilis* na cultura do trigo, observou que o tratamento químico da semente associado a aplicação do *B. subtilis* da parte aérea da planta proporcionou um maior rendimento de grãos, atribuindo esse acréscimo ao fato de que além de biocontroladores de fitopatógenos, as bactérias em questão são consideradas promotoras de crescimento de plantas, efeitos que foram avaliados em plântulas de citros, pepino, alface e trigo. Porém concluiu que a utilização de agentes de controle biológico deve estar relacionada com o manejo integrado de doenças para que se tenha sucesso.

Dorighello, 2017, por outro lado, relacionou o sucesso no controle de doenças por produtos biológicos em condições de campo a, pelo menos, cinco aspectos, fazendo o seguinte levantamento:

- Homogeneidade de aplicação: Cunha, Reis e Santos, 2006, em seu trabalho, defenderam que os produtos aplicados devem atingir de maneira homogênea todo o dossel da planta.
- Momento de aplicação: De acordo com Reiss e Jorgensen, 2017 e Twizeyimana e Hartman, 2017, deve-se aplicar no momento de maior vulnerabilidade do patógeno, ou seja, antes do seu estabelecimento na cultura, sendo esse um aspecto decisivo.
- Número de aplicações: Baker, Stavely e Mock, 1985 observaram que o controle da ferrugem do feijão foi melhorado ao aumentar o número de aplicações por semana.
- Concentração do produto: Gao et al., 2015, indicaram que apenas concentrações superiores a 1×10^7 UFC/ ml de *B. subtilis* E 1R-j foram eficientes no controle de oídio do trigo.
- Formulação: Phae e Sodha, 1991, obtiveram que as características do meio de cultivo podem influenciar na concentração de células e metabólitos produzidos.

Apesar dos tratamentos 4 e 6 terem resultado em uma produtividade estatisticamente igual ao tratamento 3, se tratando de eficácia, os tratamentos 4 e

6 se destacaram no ensaio, uma vez que controlaram satisfatoriamente a evolução e severidade da ferrugem, resultando na redução da porcentagem de desfolha e melhor desenvolvimento das plantas. É importante salientar que a obtenção de uma produtividade similar entre os tratamentos que utilizaram o *B. subtilis* em associação (tratamentos 4 e 6) e um tratamento convencional baseado apenas em fungicidas (tratamento 3), reforça a possibilidade de se utilizar o *B. subtilis* como uma alternativa ao uso indiscriminado e exclusivo de fitossanitários, auxiliando na redução dos impactos negativos ocasionados por esses, sem que haja perdas na produtividade da cultura.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir desse trabalho denotam que, apesar da utilização do *Bacillus subtilis* isoladamente como agente de biocontrole não ter sido muito promissora, seu uso quando associado ao padrão fungicida contribuiu significativamente para a repressão do fungo *Phakopsora pachyrhizi* e redução da severidade da ferrugem asiática da soja, confirmando seu potencial como uma ferramenta biotecnológica de biocontrole a ser utilizada como parte de um manejo integrado de doenças visando a redução do uso de fitossanitários, assim como melhorias no controle de doenças e produtividades satisfatórias. Vale ressaltar que condições de campo nas quais o ensaio esteve submetido podem ter interferido no pleno desempenho do *Bacillus*, e por isso a utilização de bactérias isoladas da rizosfera da mesma região de sua utilização como produto de biocontrole pode resultar em uma melhor atividade, já que esses microrganismos estariam mais adaptados a essas condições e conseqüentemente sua estabilidade seria favorecida. Essa possibilidade abre margens para estudos futuros, avaliando assim a atividade de linhagens do *B. subtilis* isoladas da mesma região a ser realizado o ensaio, ou até mesmo avaliando o desempenho de filtrados da espécie em diversos hospedeiros.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDLNOOR R. V., et al., **Tecnologias de produção de soja- Região central do Brasil 2014**, Sistemas de produção, Embrapa Soja, ISSN 2176-2902, n.16, 265 p., Londrina, 2013.

ABIOVE- Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais, **Estatísticas mensais do complexo de soja**, 2021. Disponível em: <https://abiove.org.br/estatisticas/> Acesso em: 18/02/2021.

AGNOL, A. D., **A soja no Brasil: evolução, causas, impactos e perspectivas**, Quinto Congresso de la Soja del Mercosur, Rosario, Argentina, 2011.

ALVES K. C., et al., *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica, **Scientia Amazonia**, v.7, n.2, p. B15-B23, 2018.

ANDRADE P. J., ANDRADE D. F., **Ferrugem Asiática: uma ameaça à sojicultura Brasileira**, Circular Técnica, Embrapa, n. 11, 12 p., Dourados, MS, 2002.

ANGONESE M. T., et al., Efeito fungistático de *Bacillus* spp. sobre fungos fitopatogênicos, **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p. 97-100, 2009.

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

BAKER F. K., COOK R. J., Biological control of plant pathogens, **Freeman and Company**, São Francisco, 1974. 433 p.

BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; MOCK, N., Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. **Plant Disease Journal**. 69, 770-772, 1985.

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

BETTIOL W., MORANDI M. A. B., **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**, Embrapa Meio Ambiente, ISBN 978-85-85771-48-5, Cap. 1, 341 p., Jaguariúna, 2009.

BEZERRA, G. A., MACEDO, D. A., NASCIMENTO, I. O., et al. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS valiosa RR, **Agroecossistemas**, v. 5, n. 1, p. 68-73, 2013.

BONATO, E.R., BONATO, A. L. V., **A soja no Brasil: história e estatística**, EMBRAPA-CNPSO, 61 p. Londrina, 1987.

CÂMARA, G. M. S., Introdução ao agronegócio soja, **Departamento de produção vegetal**, USP/ESALQ, Piracicaba, 2015.

CAMPANHOLA, C., BETTIOL W., **Métodos alternativos de controle fitossanitário**, Embrapa Meio Ambiente, 279 p. Jaguariúna, SP, 2003.

CARVALHO, A. L. U., **Fisiologia de Bacillus subtilis R14 sob condições restrita e irrestrita de oxigênio: produção de compostos bioativos e esporulação**, Dissertação (mestrado em biotecnologia), Universidade Federal de Pernambuco, 57 p., Recife, 2005.

CARVALHO, N. L.; BARCELLOS, A. L. Adoção do manejo integrado de pragas baseado na percepção e educação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 749-766, 2012.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento, **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Safra 2019/20, v.7, n. 12, 68 p., Brasília, 2020.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento, **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Safra 220/21, v.8, n. 5, 94 p., Brasília, 2021.

Consórcio Antiferrugem. Disponível em <http://www.consorcioantiferrugem.net/#/main>. Acesso: 17/03/2021

CONTINI E., et al., **Série desafios do agronegócio brasileiro: Complexo soja- Caracterização e desafios tecnológicos**, Embrapa, 35 p., 2018.

CUNHA, J. P. A. R., REIS, E. F., SANTOS, R. O., Controle químico da ferrugem asiática da soja em função de ponta de pulverização e de volume de calda. **Cien. Rural**. 36, 1360-1366, 2006.

DORIGHELLO, D. V. **Controle da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) com óleo de café e *Bacillus* spp.** Dissertação (mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2013.

DORIGHELLO D.V., et al. Controlling asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) with *Bacillus* spp. and coffee oil. **Crop Protection**. 67, 59-65, 8, 2015.

DORIGHELLO, D. V., **Versatilidade de *Bacillus* spp. no controle biológico de doenças de plantas e na promoção de crescimento de soja.** Tese (doutorado em agronomia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2017.

ENGELBERTH, J., TAIZ, L., Interações bióticas. *In*: TAIZ, L. et al., **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**, 6ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 23, pag. 693-729.

FARIAS, J. R. B., NEPOMUCENO, A. L., NEUMAIER, N., **Ecofisiologia da soja**, Circular Técnica n. 48, Embrapa, Paraná, 2007.

FEHR, W. R., CAVINESS, C. E., **Stages of soybean development**, Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977, 11p. (Special Report 80).

FINGER, G., **Resistência induzida por elicitores e proteção de videira contra míldio**, Dissertação (mestrado em agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

FONSECA, D. R., **Associação de fungicidas multissítios e pH na calda de pulverização no controle da ferrugem asiática.** Dissertação (mestrado em produção vegetal), Universidade de Rio Verde, Rio Verde, 2018.

GALLO D. et al., **Manual de entomologia agrícola**, v. 10, 920 p., Piracicaba, 2002.

GAO X., et al., Endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-J is a promising biocontrol agent for wheat powdery mildew. **Biomed Res. Int.** 20, 1-8, 2015.

GODOY C. V. et al., **Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência**, Embrapa Soja, n. 428, 39 p., Londrina, 2020.

GONÇALVES, O. S., et al., Prospecção de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrole contra *Fusarium* sp., **Revista Mirante**, v.10, n.1, 11 p., Anápolis- GO, 2017.

GRIGOLETTI JÚNIOR A., SANTOS A. F., AUER C. G., Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais, **Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, Curitiba, 2000.

HENNING A. A. et al, **Manual de identificação de doenças de soja**, Embrapa Soja, ISSN 1516-781, n. 256, 5ª ed., 76 p., Londrina, 2014.

HENNING A. A., et al, **Manual de identificação de doenças de soja**, Embrapa Soja, ISSN 1516-781, n. 256, 1ª ed., 72 p., Londrina, 2005.

JUHÁSZ A. C. P., et al., Desafios fitossanitários para a produção de soja, **Informe Agropecuário**, v. 34, n. 276, p. 66-75, Belo Horizonte, 2013.

JUNGES E., **Indução de resistência à antracnose em feijoeiro por *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis***, 2016. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12, 2010.

LORINI, I., **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil safra 2017/18**, editor técnico, n. 422, p. 220, Embrapa Soja, 2019.

MENDES, W. S., SILVA, I. J., FONTES, D. O., et al., Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 207-213, Minas Gerais, 2004.

MONNERAT R., et al., **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero Bacillus para o uso na agricultura**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 46 p., Brasília, 2020.

MORAIS L. A., **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**, Embrapa Meio Ambiente, ISBN 978-85-85771-48-5, Cap. 9, 341 p., Jaguariúna, 2009.

Oídio em soja, Mais Soja, 2020. Disponível em: <https://maissoja.com.br/oidio-em-soja/>. Acesso em: 19/03/2021.

OLIVEIRA F. H. P. C.; **Fisiologia de *Bacillus subtilis* R14: crescimento e produção de lipopeptídeos em cultivos descontínuos**, Dissertação (mestrado em biotecnologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

PAL, K. K., GARDENER, B., Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor**, v. 2, p. 1117-1142, 2006.

PHAE, C., SODHA, M., Investigation of optimal conditions for separation of iturin an antifungal peptide produced by *Bacillus subtilis*. **J. Ferment. Bioeng.** 71, 118-121, 1991.

PODILE, A.R. et al., *Bacillus subtilis* AF1 as biocontrol PGPR: Towards understanding survival and mechanism of action. In: ADHOLEGA, S.; SINGH, S. **Mycorrhizae: Biofertilizers for the future**, Teri, New Delhi, Índia, 1995, p. 506-509.

Portal Syngenta, **Morfologia e fisiologia da soja**. Disponível em: <https://portalsyngenta.com.br/sementes-soja-morfologia-fisiologia>. Acesso em: 08/01/2021.

RANDOS A. F. S., **Avaliação da aplicação de *Bacillus subtilis* na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**, Dissertação (graduação em Agronomia), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2016.

REISS, A.; JORGENSEN, L.N., Biological control of yellow rust of wheat (*Puccinia striiformis*) with Serenade® ASO (*Bacillus subtilis* strain QST 713). **Crop Protection**. 93, 1-8, 2017.

RICHETTI A., ROESE A. D., **Custo do controle químico da ferrugem asiática da soja para a safra 2010/11**, Comunicado técnico n. 161, Embrapa, Dourados, MS, 2011.

SARAN P. E., **Manual de identificação das doenças da soja**, FASB, Bahia, 2017. Disponível em: <http://www.faesb.edu.br/biblioteca/wp-content/uploads/2017/09/publication1.pdf>. Acesso em: 18/03/2021.

SEIXAS C. D., **Algumas doenças foliares da cultura da soja**, Embrapa, Londrina, 2019. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Doen%C3%A7as+foliares_nov_Claudine.pdf/f4b38836-c7a3-c8eb-5db8-248f55ba5fcf. Acesso em 19/03/2021.

SEIXAS C. D., et al., **Tecnologias de produção de soja**, Sistemas de produção, Embrapa Soja, n.17, 347 p., Londrina, 2020.

SHONBECK, F.; DEHNE, H. W.; BEIGHT, W. Activation of inespecific resistance mechanism in plants. **Journal of Plant Disease and Protection**, Stuttgart, v.87, p.654-666, 1980.

SIEBEN, A., MACHADO, C.A., Histórico e contextualização socioeconômica e ambiental da soja (*Glycine Max*) no Brasil, **Geoambiente On-line**, n.7, Jataí, Goiás, 2006. Disponível em: <https://www.jatai.ufg.br/geo/geoambiente>. Acesso em: 13/01/2021.

SILVA, M. S. et al., Composição química e valor proteico do resíduo de soja em relação ao grão de soja, **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 26, n.3, p. 571-576, Campinas, 2006.

SOUZA, M. O. et al., **O complexo de soja: aspectos descritivos e previsões**, Pesquisa Operacional para o Desenvolvimento, Embrapa, v.2, n.1, p. 1-86, Rio de Janeiro, 2010.

TEJO, D. P., FERNANDES, C. H. S., BURATTO, J. S., Soja: Fenologia, morfologia e fatores que interferem na produtividade, **Revista Científica Eletrônica de Agronomia da FAEF**, Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral, v. 35, n. 1, 2019.

TWIZEYIMANA, M., HARTMAN, G.L., Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* isolates to fungicides and reduction infection based on fungicide and timing of application. **Plant Disease Journal**. 101, 121-128, 2017.

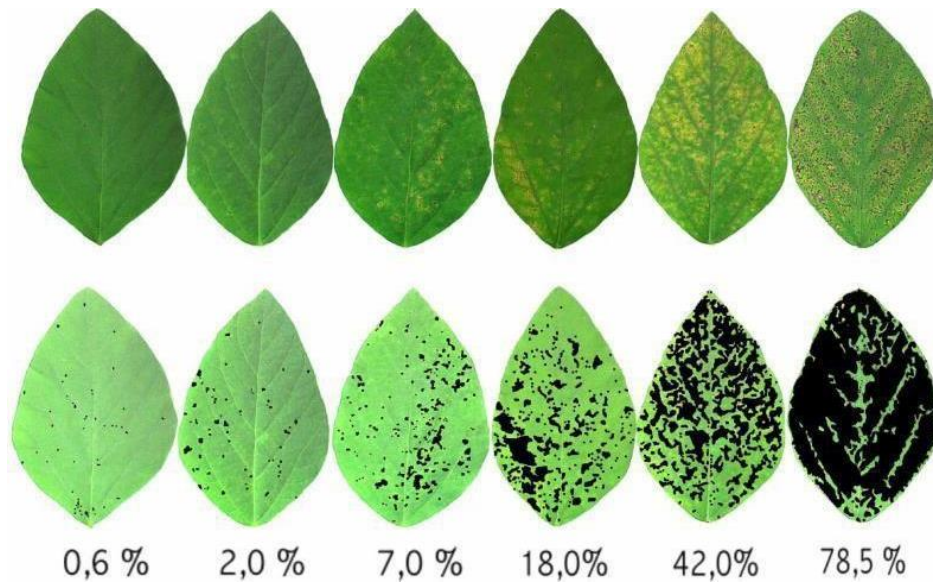
VENTURA, J. A. **Táticas de controle no manejo integrado de doenças**. Vitória, ES, 2016.

VIEIRA, C. R., CABRAL, L. C., PAULA, A. C. O., Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinados à alimentação humana, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 1277-1283, Brasília, 1999.

YORINORI J. T., JUNIOR J. N., LAZZAROTTO J. J., **Ferrugem “asiática” da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle**, Embrapa Soja, n.247, 36 p., Londrina, 2004.

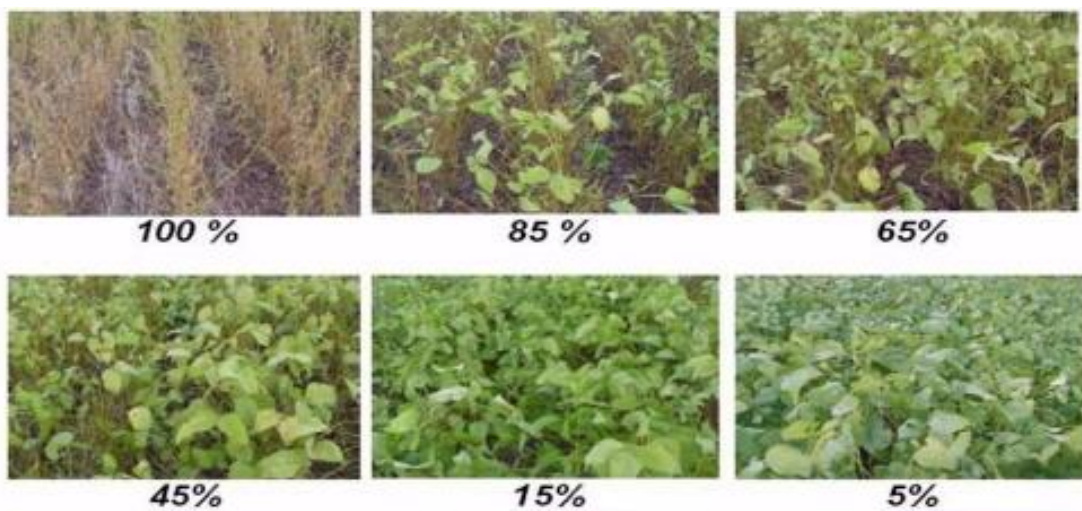
ANEXOS

Anexo A: Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem.



Fonte: Fonseca, 2018.

Anexo B: Escala diagramática para avaliação de desfolha na cultura de soja



Fonte: Fonseca, 2018.