



Efeito de extratos de secreções glandulares de anfíbios na ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e biometria de plantas de soja

Camila Rocco da SILVA^{1,2*}, Monica Sayuri MIZUNO², Solange Maria BONALDO³,
Stela Regina FERRARINI⁴, Domingos de Jesus RODRIGUES⁵,
Kátia Regina Freitas SCHWAN-ESTRADA²

¹Botany and Plant Pathology Department, Purdue University, IN, United States.

²Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

³Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

⁴Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

⁵Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

*E-mail: crocoda@purdue.edu

(ORCID: 0000-0002-2040-1157; 0000-0001-7398-9831; 0000-0002-2240-2700; 0000-0003-4339-1307;
0000-0002-8360-2036; 0000-0001-8384-8557)

Submetido em 14/10/2022; Aceito em 20/12/2022; Publicado em 22/12/2022.

RESUMO: Extratos de secreções de anfíbios da família Bufonidae têm sido estudados pelo potencial de controle direto de fitopatógenos, bem como na ativação de mecanismos de defesa contra doenças em plantas. Assim, este estudo analisa os efeitos de extratos de secreções glandulares de *Rhaebo guttatus* e *Rhinella marina* contra o fungo *Phakopsora pachyrhizi* e na biometria de plantas de soja da cultivar TMG 132 RR. Aos 30 dias após a semeadura, notou-se o surgimento espontâneo da doença e, dois dias após o surgimento das primeiras pústulas, as plantas foram tratadas com extratos de secreções glandulares nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg mL⁻¹, acibenzolar-S-metil (500 L ha) e água destilada. Com relação ao número total de trifólios, teores de clorofila a, b e total não houve diferença estatística entre os tratamentos. Nas avaliações biométricas, o extrato de secreção glandular de *R. guttatus* proporcionou diferença estatística apenas na variável altura de plantas. Quando as plantas foram tratadas com extrato de secreção glandular de *R. marina*, houve diferença estatística no número de nódulos, porém, sem diferença estatística para as demais variáveis analisadas. Conclui-se que extratos de secreções glandulares de *R. guttatus* e *R. marina* não controlam ferrugem asiática da soja; porém concentrações de 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,3 mg mL⁻¹ de extrato de secreção glandular de *R. guttatus* promovem maior altura de plantas e extrato de secreção glandular de *R. marina*, nas concentrações de 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,4 mg mL⁻¹, afeta negativamente o número de nódulos.

Palavras-chave: altura de plantas; glândulas parotóides; *Rhaebo guttatus*; *Rhinella marina*; oleaginosas.

Effect of extracts from amphibian glandular secretions on asian rust (*Phakopsora pachyrhizi*) and biometry of soybean plants

ABSTRACT: Extracts from secretions of amphibians of the Bufonidae family were studied for their potential for direct control of phytopathogens, as well as for the activation of mechanism of defense against plant diseases. Thus, this study assessed the effects of glandular secretion extracts from *Rhaebo guttatus* and *Rhinella marina* against the fungi *Phakopsora pachyrhizi* and biometric responses on TMG 132 RR soybean cultivar. Thirty days after seeding, a spontaneously arise of the disease was noticed and, two days after the arise of the first pustules, plants were treated with glandular secretion extracts at the concentrations 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg mL⁻¹, acibenzolar-S-methyl (500 L ha) and distilled water. None of the treatments resulted in statistical differences at the photosynthetic rates of the plants for chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content. For the biometrical evaluations, glandular secretion extracts of *R. guttatus* resulted in statistical difference only for the variable plant height variable. Glandular secretion extracts from *R. marina* resulted in statistical difference only for number of root nodules but was not significant for the remaining variables. The results showed that glandular secretion extracts from *R. guttatus* and *R. marina* does not control Asian soybean rust; however glandular secretion extracts from *R. guttatus* at the concentrations 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,3 mg mL⁻¹ promotes greater plant height. The glandular secretion extracts from *R. marina* at the 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,4 mg mL⁻¹ negatively affects the number of plant nodules.

Keywords: height of plants; paratoid gland; *Rhaebo guttatus*; *Rhinella marina*; oleaginous.

1. INTRODUÇÃO

A ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) é uma doença altamente destrutiva, e a alternativa de controle mais utilizada é o uso de fungicidas (YORINORI, 2003). Entretanto, a aplicação intensiva e inadequada de fungicidas,

com uso repetido de moléculas com mesmo mecanismo de ação, utilização de doses diferentes das recomendadas na bula e uso de produto de forma curativa, quando a doença está estabelecida, contribui com a seleção de isolados fúngicos menos sensíveis, e, por consequência, diminui a eficiência

dos fungicidas no controle da doença (BRENT; HOLLOMON, 2007).

A perda da eficiência de fungicidas no controle da ferrugem asiática foi relatada em vários experimentos de campo e, está sendo associada à menor sensibilidade de *P. pachyrhizi* aos fungicidas (GODOY et al., 2015). Nesse sentido, quanto maior o número de aplicações mais intensa será a seleção direcional eliminando os indivíduos sensíveis e aumentando a população dos resistentes ao fungicida sítio específico (REIS et al., 2018).

Muitas pesquisas estão voltadas para a busca de novas substâncias para desenvolvimento de produtos inovadores a partir da biodiversidade, demonstrando a importância econômica dos recursos naturais, com potencial científico e tecnológico (MAGNUSSON et al., 2016).

Além das espécies da flora nativa, avaliações relacionadas à utilização de secreções produzidas por animais podem proporcionar novas alternativas para controle de pragas e doenças, buscando substâncias com baixa toxicidade, ação rápida e atividade antimicrobiana. Estas secreções podem conter venenos que são utilizados por alguns animais como defesa química na natureza. Nos anfíbios em geral, esses compostos são basicamente sintetizados pelo metabolismo do próprio animal (MAILHO-FONTANA, 2012).

Essa defesa química em anfíbios representa um conjunto de adaptações defensivas que atuam na proteção contra predadores, parasitas e microrganismos (SAVITZKY et al., 2012).

Extratos metanólicos de secreções cutâneas de duas espécies de anfíbios da família Bufonidae, encontrada no bioma amazônico (*Rhaebo guttatus* e *Rhinella marina*), foram avaliados na síntese de fitoalexinas em cotilédones de soja, hipocótilos de feijão e mesocótilos de sorgo e; nas atividades enzimáticas de β -1,3-glucanase, peroxidase e polifenol oxidase e teor de proteína total. Os resultados indicaram que o extrato metanólico das secreções cutâneas de *R. guttatus* suprimiu a síntese de gliceolina e atividade de β -1,3-glucanase, porém observou-se aumento das atividades de peroxidase e polifenol oxidase em concentrações mais altas e teor de proteína total na concentração de 0,2 mg/mL. Por outro lado, o extrato metanólico de secreções cutâneas de *R. marina* induziu a síntese de gliceolina nas cultivares de soja 'TMG 132 RR' e 'Monsoy 8372 IPRO' a 0,1-0,2 mg/mL e 0,2 mg/mL, respectivamente. O extrato metanólico das secreções cutâneas de *R. marina* aumentou a atividade específica de POX e PPO em 'Monsoy 8372 IPRO' e 'TMG 132RR', respectivamente, e diminuíram a atividade das β -1,3-glucanases em 'Monsoy 8372 IPRO'. Em uma concentração de 0,3 mg/mL, estimulou a síntese de faseolina (RAASCH-FERNANDES et al., 2019).

Os anfíbios anuros (Anura), por exemplo, possuem glândulas granulosas em sua pele, também conhecidas como macroglândulas parotóides, ou popularmente conhecidas como glândulas de veneno, que são responsáveis pela produção da maioria das substâncias tóxicas existentes na pele destes anfíbios (HONORATO, 2009; MAILHO-FONTANA, 2012).

Sabe-se que estas secreções são compostas por substâncias que ainda não tem seu potencial completamente conhecido, que carecem de análises e pesquisas para testar seus efeitos sobre fitopatógenos, podendo ser utilizado pelas indústrias químicas como alternativa aos agroquímicos existentes ou mesmo na geração de novos fungicidas. Assim, este trabalho avalia o efeito de extratos de secreções

glandulares de *R. guttatus* e *R. marina* no controle da ferrugem asiática e biometria de plantas de soja em casa de vegetação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta das secreções glandulares de *Rhaebo guttatus* e *Rhinella marina*

Os anfíbios capturados (Licença de coleta do IBAMA nº 30034-1) e suas secreções glandulares coletadas pela equipe de biólogos da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT (campus Sinop), sob a coordenação do Prof. Dr. Domingos de Jesus Rodrigues. A realização do experimento foi executada em parceria com o Laboratório de Microbiologia/Fitopatologia, localizado na Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT (campus Sinop) no Estado de Mato Grosso.

2.2. Controle da Ferrugem asiática da soja em casa de vegetação

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação localizada na Universidade Estadual de Maringá (DAG/UEM) pertencente ao Departamento de Agronomia, em delineamento experimental inteiramente casualizado. Para tanto, sementes da cultivar TMG 132 RR foram semeadas em vasos com capacidade de 3,6 L contendo uma mistura de solo e areia (2:1) que foi utilizado na condução do experimento. A adubação com Super Simples (00-18-00) e KCl foi realizada a proximamente 7 cm de profundidade, a partir dos resultados obtidos na análise química do solo, com base nas exigências da cultura, de acordo com as recomendações proposta pela Embrapa para solos do Paraná (SFREDO et al., 1980). O raleio foi realizado quando as plantas se encontravam em estágio fenológico V2 (segundo nó; primeiro trifólio aberto), mantendo duas plantas por vaso, as quais receberam tratamento com fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metílico (200 mL 100 kg⁻¹) e foram semeadas a uma profundidade de 2,5 cm, para um total de sete tratamentos e cinco repetições para *R. guttatus* e *R. marina*, onde os extratos de secreções glandulares de cada espécie foram avaliados separadamente em ensaios simultâneos.

Aos 30 dias após semeadura, quando as plantas se encontravam em estágio fenológico V4 (quarto nó; terceiro trifólio aberto), notou-se o surgimento espontâneo da doença e, dois dias após o surgimento das primeiras pústulas, as plantas foram tratadas com extratos de secreções glandulares de *R. guttatus* e *R. marina* nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg mL⁻¹ de acordo com o trabalho de Raasch-Fernandes et al. (2019). Como controle positivo utilizou-se o produto comercial acibenzolar-S-metil (500 L ha⁻¹) e água como controle negativo. Cada planta recebeu um fitilho no segundo trifólio para identificação onde foram aplicados os tratamentos com o auxílio de um pincel para pintura 815 nº 8 Tigre, sendo depositado 300 µL de cada tratamento por trifólio, 100 µL em cada folíolo.

A avaliação da severidade da ferrugem asiática da soja iniciou-se a partir da observação dos primeiros sintomas da doença nas plantas (30 dias após a semeadura), sendo realizadas quatro avaliações, em duas plantas, com intervalos de sete dias, atribuindo-se notas percentuais (%) individuais para cada trifólio avaliado, em dois trifólios da planta: o trifólio que recebeu os tratamentos (segundo trifólio da planta – terço médio) e o trifólio com ausência de tratamentos (terceiro trifólio da planta – terço superior), com auxílio de escala diagramática (GODOY et al., 2006).

As notas de cada trifólio com e sem tratamento foram considerados como severidade incidente na planta no momento da avaliação e, com os dados das avaliações de severidade foi calculado a porcentagem de eficiência dos tratamentos (ABBOTT, 1925), AACPD e taxa de progresso da doença, segundo Campbell e Madden (1990), que permite uma avaliação mais estável e menos afetada pelo tempo de análise e variação ambiental.

2.3. Determinação do teor de clorofila

Para a quantificação de clorofila, três discos de folhas com aproximadamente 10 mm de diâmetro foram retirados de três trifólios por planta, sendo o primeiro trifólio sem tratamento, o segundo trifólio com aplicação dos tratamentos e o terceiro trifólio sem aplicação dos tratamentos, aos 33, 36 e 39 dias após a semeadura e surgimento das primeiras pústulas, respectivamente.

As amostras de tecido vegetal foram pesadas e acondicionadas em frascos de vidro âmbar contendo 10 mL de acetona 80% e mantidas por sete dias, no escuro e a 25°C. Após esse período realizou-se leitura no espectrofotômetro a 663 nm e 645 nm para clorofila *a* e *b*, respectivamente. A concentração de clorofila *a* obteve-se pela fórmula $(0,0127 \cdot A_{663}) - (0,00269 \cdot A_{645})$ e para clorofila *b* $(0,0229 \cdot A_{645}) - (0,00468 \cdot A_{663})$. O teor de clorofila total foi obtido pela soma dos resultados. Os valores foram expressos em mg g⁻¹ tecido fresco (ARNON, 1949).

2.4. Número de folíolos

As avaliações foram realizadas semanalmente por um período de quatro semanas, onde contou-se número total de folíolos em duas plantas por vaso, com início 60 dias após a semeadura, quando as plantas estavam com o penúltimo nó com o trifólio aberto, antes da floração. Após a contagem foi realizada a média de cada repetição e tratamento.

2.5. Biometria

As avaliações ocorreram aos 120 dias após o plantio, quando as plantas apresentavam-se no estágio fenológico R6 (vagens com enchimento pleno (100%) e folhas verdes), sendo consideradas as variáveis: Altura de plantas (cm), medida com auxílio de fita métrica desde o solo até a última folha da planta; Diâmetro de caule principal (mm) com paquímetro digital no entrenó situado entre as folhas cotiledonares e as folhas primárias; Massa fresca da parte

aérea das plantas (g) cortadas rente ao solo, pesadas em balança de precisão eletrônica BL3200H da marca Shimadzu, acondicionadas em sacos de papel e levadas para secagem em estufa de circulação a 60°C por sete dias até peso constante. O valor obtido foi oriundo da média entre duas plantas. Massa seca da parte aérea das plantas de soja (g), foi determinada em balança de precisão eletrônica.

Para avaliação da Massa fresca das raízes de soja (g), as raízes foram retiradas de dentro dos vasos e lavadas em água corrente com o auxílio de uma peneira e em seguida, permaneceram dispostas sobre folhas de jornal para que fosse retirado o excesso de água.

No momento em que as raízes se encontravam dispostas sobre as folhas de jornal, contou-se o número de nódulos e o resultado do número de nódulos foi representado pela média de duas plantas por vaso. Posteriormente as raízes foram pesadas em balança de precisão eletrônica e acondicionadas em sacos de papel permanecendo por sete dias em estufa de circulação a 60°C até peso constante. O valor obtido foi oriundo da média entre as duas plantas. Após secas, as raízes foram pesadas em balança de precisão eletrônica.

O número de vagens por planta foi determinado na finalização do experimento, contando-se o número total de vagens por planta e representado pela média de duas plantas por vaso.

2.6. Análise estatística

Para verificar a normalidade dos dados e a homogeneidade de variâncias realizou-se os testes de Levene e Shapiro-Wilk. As variáveis que não atenderam aos pressupostos da análise de variância (ANOVA), foram transformadas. Posteriormente os dados foram submetidos à (ANOVA), observados e comparados pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

3. RESULTADOS

3.1. Teor de clorofila

O conteúdo de clorofila *a*, *b* e total em plantas de soja tratadas com secreções glandulares de *R. guttatus*, *R. marina* e acibenzolar-S-metil e, desafiadas com *P. pachyrhizij*, não apresentaram alterações estatisticamente entre os tratamentos (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Teores de clorofila *a*, *b* e total em soja aos 33, 36 e 39 dias após a semeadura (DAS), com plantas não tratadas e plantas tratadas, respectivamente, com as diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhaebo guttatus*, água e acibenzolar-S-metil. Os valores estão expressos em mg⁻¹ tecido fresco.

Table 1. Chlorophyll *a*, *b*, and total content in soybean 33, 36, and 29 days after plating (DAP), with untreated and treatment plants, respectively, with different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhaebo guttatus*, water, and acibenzolar-S-metil. The values are expressed in mg⁻¹ fresh tissue.

Tratamentos	33 DAS			36 DAS			39 DAS		
	<i>a</i>	<i>b</i>	Total	<i>a</i>	<i>b</i>	Total	<i>a</i>	<i>b</i>	Total
Água	0,25*	0,11*	0,40*	0,35*	0,13*	0,46*	0,31*	0,13*	0,40*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	0,32	0,16	0,46	0,33	0,13	0,51	0,31	0,11	0,48
0,1mg mL ⁻¹	0,30	0,11	0,39	0,23	0,09	0,44	0,27	0,13	0,30
0,2 mg mL ⁻¹	0,32	0,14	0,42	0,36	0,14	0,49	0,32	0,11	0,39
0,3 mg mL ⁻¹	0,30	0,12	0,37	0,37	0,15	0,47	0,26	0,08	0,39
0,4 mg mL ⁻¹	0,29	0,12	0,34	0,33	0,16	0,44	0,30	0,12	0,40
0,5 mg mL ⁻¹	0,25	0,11	0,36	0,31	0,13	0,47	0,29	0,12	0,39
CV (%)	28,18			34,91			30,69		

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,01).

Tabela 2. Teores de clorofila *a*, *b* e total em soja aos 33, 36 e 39 dias após a semeadura (DAS), com plantas não tratadas e plantas tratadas, respectivamente, com as diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhinella marina*, água e acibenzolar-S-metil. Os valores estão expressos em mg⁻¹ tecido fresco.

Table 2. Chlorophyll *a*, *b*, and total content in soybean 33, 36, and 29 days after plating (DAP), with untreated and treatment plants, respectively, with different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhinella marina*, water, and acibenzolar-S-metil. The values are expressed in mg⁻¹ fresh tissue.

Tratamentos	33 DAS			36 DAS			39 DAS		
	Sem tratamento			Com tratamento			Sem tratamento		
	<i>a</i>	<i>b</i>	Total	<i>a</i>	<i>b</i>	Total	<i>a</i>	<i>b</i>	Total
Água	0,27*	0,12*	0,37*	0,38*	0,18*	0,65*	0,28*	0,11*	0,43*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	0,26	0,11	0,36	0,41	0,17	0,63	0,29	0,11	0,42
0,1mg mL ⁻¹	0,21	0,09	0,34	0,43	0,19	0,67	0,33	0,12	0,42
0,2 mg mL ⁻¹	0,23	0,09	0,29	0,48	0,19	0,66	0,24	0,09	0,38
0,3 mg mL ⁻¹	0,23	0,10	0,34	0,43	0,22	0,64	0,28	0,11	0,39
0,4 mg mL ⁻¹	0,24	0,11	0,36	0,31	0,18	0,45	0,25	0,10	0,36
0,5 mg mL ⁻¹	0,23	0,09	0,32	0,31	0,18	0,51	0,27	0,11	0,40
CV (%)	24,01			24,92			27,11		

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,01).

3.2. Controle da Ferrugem asiática da soja

Levando em consideração a avaliação da severidade da doença e AACPD com base na presença de pústulas que surgiram espontaneamente 30 dias após a semeadura, foi possível constatar que os tratamentos não diferiram estatisticamente do controle (Tabela 3). Entretanto, observa-se que a severidade de todas as concentrações do extrato de secreção glandular de *R. guttatus* foi menor numericamente, em relação a testemunha. O mesmo comportamento foi observado nas duas semanas seguintes, onde as mesmas

concentrações do extrato de secreções glandulares de *R. guttatus* apresentaram menor severidade que o controle e o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (Tabela 3).

Na última semana de avaliação, apenas a concentração de 0,3 mg mL⁻¹ do extrato de secreção glandular de *R. guttatus* continuou com valores inferiores que o controle. Em relação ao tratamento com acibenzolar-S-metil, verificou-se que este não reduziu a severidade da doença em nenhuma das avaliações ao longo de 30 dias e apresentou maior AACPD dentre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Severidade média (%), taxa de progresso da doença (r) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de *Phakopsora pachyrhizi* em plantas de soja à diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhaebo guttatus*, água e acibenzolar-S-metil.

Table 3. Average severity (%), disease progress rate (r), and area under the disease progress curve (AUDPC) of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean plants at different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhaebo guttatus*, water, and acibenzolar-S-metil.

Tratamentos	<i>Rhaebo guttatus</i>											
	Trifólios tratados						Trifólios não tratados					
	V5	V6	V7-8	R1	AACPD	r	V5	V6	V7-8	R1	AACPD	r
Água	2,28*	5,75*	26,34*	51,60*	413,23*	0,15*	0,99*	4,47*	8,96*	22,00*	174,46*	0,14*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	4,85	11,41	30,07	57,80	509,60	0,13	4,39	5,41	8,27	28,87	212,12	0,11
0,1 mg mL ⁻¹	2,17	10,17	32,47	62,40	524,46	0,15	0,16	4,17	6,57	26,50	168,49	0,07
0,2 mg mL ⁻¹	2,94	8,05	21,40	51,50	396,71	0,12	0,32	1,03	4,82	23,64	124,82	0,18
0,3 mg mL ⁻¹	2,31	9,27	30,87	54,00	478,08	0,14	0,23	2,62	5,20	18,38	119,86	0,15
0,4 mg mL ⁻¹	4,23	11,32	35,20	63,60	563,03	0,15	0,77	3,08	6,13	41,63	212,85	0,18
0,5 mg mL ⁻¹	0,93	6,16	26,93	50,00	409,83	0,18	0,64	2,87	5,47	31,43	170,64	0,13
CV (%)	30,82	27,27	20,30	15,00	15,77	2,20	35,56	45,78	28,46	24,51	26,06	2,93

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,01). Dados transformados em (x + 1)^{0,5}. V5 = quinto nó; quarta folha trifoliada completamente desenvolvida; V6 = sexto nó; quinta folha trifoliada completamente desenvolvida; V7-8 = sétimo/oitavo nó; sétima/oitava folha trifoliada completamente desenvolvida; R1 = início do florescimento; uma flor aberta em qualquer nó da haste principal; r = taxa de progresso da doença e AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença.

Para a severidade da doença no ensaio utilizando o extrato de secreções glandulares de *R. marina* (Tabela 4), pode-se verificar que os tratamentos não diferiram significativamente (p<0,01). Entretanto, nota-se que os trifólios não tratados apresentaram diferença numérica inferior ao controle nas doses de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg mL⁻¹ do extrato de secreções glandulares de *R. marina* na primeira semana de avaliação.

A concentração de 0,5 mg mL⁻¹ reduziu em 15,7; 45,3 e 14,4% a severidade da doença nas três semanas seguintes de avaliação, respectivamente, em relação ao controle, mesmo não havendo diferença estatística. Assim como neste estudo, Bigaton et al. (2013) constataram que extratos e óleos

essenciais de aroeira-pimenteira (*S. terebinthifolius*) e quebra-machado (*T. silvatica*) não controlaram *P. pachyrhizi*. Ao contrário, as plantas pulverizadas com extrato de aroeira-pimenteira a 5% e óleo essencial da mesma espécie a 1% mostraram maior intensidade da doença, comparadas às pulverizadas com água.

Para os trifólios que receberam os tratamentos, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos em nenhuma avaliação, porém, nota-se que no estágio V5 observou-se menores valores de severidade nas concentrações 0,1; 0,2; 0,4 e 0,5 mg mL⁻¹ quando comparadas ao controle. Este mesmo efeito não se repete nas três seguintes avaliações, o que se leva a crer que o extrato de

secreção glandular de *R. marina* apresenta baixo poder residual e não estaria mais ativo ou em concentrações necessárias para ativar mecanismos de defesas na planta.

A taxa de progresso da doença refere-se ao aumento percentual de uma doença policíclica em determinado intervalo de tempo (VANDERPLANK, 1963). Neste estudo foi observado que o maior valor de r está associado ao tratamento cuja concentração é de 0,3 mg mL⁻¹.

Os dados de severidade foram utilizados na estimativa da porcentagem de controle em relação a testemunha, mostrando baixa eficiência de controle nos trifólios tratados (Tabela 5). A concentração 0,5 mg mL⁻¹ do extrato de secreção de *R. guttatus* apresentou controle equivalente a 60% quando comparado a testemunha, sendo a dose mais efetiva entre os tratamentos. A menor eficiência de controle foi observada para a concentração de 0,1 mg mL⁻¹ (5%), porém, sendo superior ao indutor acibenzolar-S- metil (500 L ha⁻¹) e as concentrações 0,3 e 0,4 mg mL⁻¹.

Os trifólios que não receberam os tratamentos apresentaram valores satisfatórios e acima de 50% nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3 mg mL⁻¹ do extrato de secreções glandulares de *R. guttatus* quando comparados com a testemunha, apresentando 84; 77 e 77% de controle, respectivamente. O tratamento com acibenzolar-S-metil apresentou apenas 8% de eficiência no controle.

Utilizando os extratos de secreções glandulares de *R. marina* (Tabela 6), observa-se que a concentração 0,1 mg mL⁻¹ do extrato apresentou 42% de eficiência no controle da ferrugem asiática da soja, seguido por 31; 18 e 10% das concentrações 0,2; 0,4 e 0,5 mg mL⁻¹, respectivamente.

Nota-se que entre os tratamentos com os extratos de secreções glandulares de *R. marina* a porcentagem de controle variou de 66% (0,1 mg mL⁻¹) a 85% (0,3 mg mL⁻¹). A menor eficiência de controle foi observada com acibenzolar-S-metil (500 L ha⁻¹) em trifólios tratados e não tratados.

Tabela 4. Severidade média (%), taxa de progresso da doença (r) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de *Phakopsora pachyrhizi* em soja à diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhinella marina*, água e acibenzolar-S-metil.

Table 4. Average severity (%), disease progress rate (r), and area under the disease progress curve (AUDPC) of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean plants at different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhinella marina* water, and acibenzolar-S-metil.

Tratamentos	<i>Rhinella marina</i>											
	Trifólios tratados						Trifólios não tratados					
	V5	V6	V7-8	R1	AACPD	r	V5	V6	V7-8	R1	AACPD	r
Água	1,02*	1,56*	13,55*	29,20*	211,56*	0,17*	1,63*	2,23*	3,68*	17,17*	107,17*	0,14*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	1,66	4,63	23,70	38,80	339,93	0,15	2,53	3,35	5,78	18,13	136,27	0,11
0,1 mg mL ⁻¹	0,59	4,73	23,73	48,80	372,08	0,19	0,56	2,51	4,57	16,90	110,67	0,14
0,2 mg mL ⁻¹	0,70	4,29	19,49	42,80	318,67	0,18	0,29	2,69	4,76	19,80	122,43	0,18
0,3 mg mL ⁻¹	3,44	11,15	31,20	52,60	492,60	0,14	0,24	3,67	4,69	21,63	135,08	0,19
0,4 mg mL ⁻¹	0,84	5,86	21,53	40,40	336,12	0,18	0,53	3,60	7,24	22,40	163,12	0,17
0,5 mg mL ⁻¹	0,92	7,05	25,20	43,20	380,16	0,18	0,50	1,88	2,01	14,70	80,45	0,11
CV (%)	32,24	28,75	20,53	11,61	15,18	1,72	32,53	41,95	26,45	24,51	21,76	2,24

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,01$). Dados transformados em $(x + 1)^{0,5}$. V5 = quinto nó; quarta folha trifoliada completamente desenvolvida; V6 = sexto nó; quinta folha trifoliada completamente desenvolvida; V7-8 = sétimo/oitavo nó; sétima/oitava folha trifoliada completamente desenvolvida; R1 = início do florescimento; uma flor aberta em qualquer nó da haste principal; r = taxa de progresso da doença e AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença.

Tabela 5. Porcentagem de eficiência dos tratamentos com relação a testemunha (água) em plantas de soja inoculadas com *Phakopsora pachyrhizi* e tratadas com secreção glandular de *Rhaebo guttatus* e acibenzolar-S-metil.

Table 5. Efficiency of treatments over the nontreated control (water) in soybean plants inoculated with *Phakopsora pachyrhizi* and treated with glandular secretion extracts of *Rhaebo guttatus* and acibenzolar-S-methyl.

Tratamentos	Trifólios tratados				Trifólios não tratados			
	V5	V6	V7-8	R1	V5	V6	V7-8	R1
Água	-	-	-	-	-	-	-	-
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	0	0	0	0	0	0	8	0
0,1 mg mL ⁻¹	5	0	0	0	84	7	27	0
0,2 mg mL ⁻¹	0	0	19	0	68	77	46	0
0,3 mg mL ⁻¹	0	0	0	0	77	41	42	16
0,4 mg mL ⁻¹	0	0	0	0	23	31	32	0
0,5 mg mL ⁻¹	60	0	0	3	35	36	39	0

V5 = quinto nó; quarta folha trifoliada completamente desenvolvida; V6 = sexto nó; quinta folha trifoliada completamente desenvolvida; V7-8 = sétimo/oitavo nó; sétima/oitava folha trifoliada completamente desenvolvida; R1 = início do florescimento; uma flor aberta em qualquer nó da haste principal.

3.3 Número de folíolos

Considerando as avaliações realizadas nos dois experimentos (Tabela 7), observa-se que nenhum tratamento proporcionou diferença estatística nas quatro avaliações realizadas durante o período de 30 dias. Nota-se que em V7-8 (sétimo/ oitavo nó com trifólio aberto, antes da floração), as plantas apresentavam pequena quantidade de folíolos, aumentando o número de folíolos nos estádios fenológicos seguintes, sendo eles os estádios reprodutivos R1 (início da

floração com até 50% das plantas com uma flor), R2 (floração plena, possuindo maioria dos ramos com flores abertas) e R3 (final da floração com vagens de até 1-5 cm de comprimento). Acredita-se que este acontecimento está relacionado ao fato das avaliações terem sido realizadas no estágio vegetativo, onde as plantas ainda estavam emitindo folíolos e ramos secundários. Observou-se que nos estádios reprodutivos R1 e R2 o número de folíolos diminuiu.

Tabela 6. Porcentagem de eficiência dos tratamentos com relação a testemunha (água) em plantas de soja inoculadas com *Phakopsora pachyrhizi* e tratadas com secreção glandular de *Rhinella marina* e acibenzolar-S-metil.

Table 6. Efficiency of treatments over the nontreated control (water) in soybean plants inoculated with *Phakopsora pachyrhizi* and treated with glandular secretion extracts of *Rhinella marina* and acibenzolar-S-methyl.

Tratamentos	Trifólios tratados				Trifólios não tratados			
	V5	V6	V7-8	R1	V5	V6	V7-8	R1
Água	-	-	-	-	-	-	-	-
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1 mg mL ⁻¹	42	0	0	0	66	0	0	3
0,2 mg mL ⁻¹	31	0	0	0	82	0	0	0
0,3 mg mL ⁻¹	0	0	0	0	85	0	0	0
0,4 mg mL ⁻¹	18	0	0	0	68	0	0	0
0,5 mg mL ⁻¹	10	0	0	0	69	16	45	15

V5 = quinto nó; quarta folha trifoliada completamente desenvolvida; V6 = sexto nó; quinta folha trifoliada completamente desenvolvida; V7-8 = sétimo/oitavo nó; sétima/oitava folha trifoliada completamente desenvolvida; R1 = início do florescimento; uma flor aberta em qualquer nó da haste principal.

Tabela 7. Número total de folíolos de plantas de soja na presença da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja em função a diferentes concentrações dos extratos de secreções glandulares de *Rhaebo guttatus* e *Rhinella marina*, água e acibenzolar-S-metil.

Table 7. Number of total folios of soybean plants with soybean asian rust (*Phakopsora pachyrhizi*) under different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhaebo guttatus* and *Rhinella marina*, water, and acibenzolar-S-metil.

Tratamentos	<i>Rhaebo guttatus</i>				<i>Rhinella marina</i>			
	Número total de folíolos				Número total de folíolos			
	V7-8	R1	R2	R3	V7-8	R1	R2	R3
Água	29*	44*	34*	26*	27*	39*	31*	28*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	31	37	28	24	27	33	28	23
0,1mg mL ⁻¹	31	35	26	23	29	37	28	26
0,2 mg mL ⁻¹	31	35	27	24	29	33	26	23
0,3 mg mL ⁻¹	30	39	31	26	28	32	25	21
0,4 mg mL ⁻¹	28	37	26	23	31	35	28	24
0,5 mg mL ⁻¹	31	42	30	27	30	37	30	24
CV (%)	6,91	10,75	13,20	15,30	9,77	12,08	12,39	11,39

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,01).

V7-8 = sétimo/oitavo nó; sétima/oitava folha trifoliada completamente desenvolvida; R1 = início do florescimento; uma flor aberta em qualquer nó da haste principal; R2 = florescimento pleno; uma flor aberta num dos dois últimos nós da haste principal com folha completamente desenvolvida; R3 = início da formação da vagem; vagem com 5 mm de comprimento num dos quatro últimos nós da haste principal com folha completamente desenvolvida.

3.4 Biometria

As secreções glandulares de *R. guttatus* nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3 mg mL⁻¹ e acibenzolar-S-metil (500 L ha⁻¹) diferiram estatisticamente quanto à altura das plantas quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 8), proporcionando incremento de 104, 110, 112 e 115%

superior ao controle, respectivamente. A variável diâmetro de caule não apresentou diferença estatística entre os tratamentos e não houve diferença significativa entre os valores médios observados.

Tabela 8. Biometria de plantas, 120 dias após a semeadura submetidas à diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhaebo guttatus*, água e acibenzolar-S-metil.

Table 8. Biometric properties, 120 days after planting subjected to different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhaebo guttatus*, water, and acibenzolar-S-metil.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro de caule (mm)	Massa fresca aérea (g)	Massa seca aérea (g)	Massa fresca raiz (g)	Massa seca raiz (g)	Número de vagens	Número de nódulos
Água	38,79 a	3,55*	30,90*	5,73*	5,77*	1,35*	27*	74*
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	40,40 a	3,39	29,69	5,75	3,53	0,70	24	50
0,1mg mL ⁻¹	42,70 b	3,43	28,64	5,66	3,64	0,86	23	40
0,2 mg mL ⁻¹	43,30 b	3,58	33,02	6,72	5,14	1,41	26	50
0,3 mg mL ⁻¹	44,75 b	3,40	34,78	6,44	5,98	1,49	28	58
0,4 mg mL ⁻¹	40,28 a	3,32	30,86	5,91	5,70	1,19	24	77
0,5 mg mL ⁻¹	38,93 a	3,16	29,74	5,68	5,84	1,64	28	77
CV (%)	6,12	6,59	18,78	19,56	24,12	28,76	19,62	28,19

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,01). Dados transformados em (x)^{0,5}.

O acúmulo de massa fresca e seca da parte aérea e das raízes por parte da planta ao longo do ciclo não foi afetado pelos tratamentos, não havendo diferença estatística. Quanto

ao número de vagens e nódulos por planta, a análise de variância não detectou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos.

Para todas as análises biométricas das plantas tratadas com o extrato de secreções glandulares de *R. marina* (Tabela 9), notou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos nas variáveis altura das plantas, diâmetro de

caule, massa fresca e seca da parte aérea e raiz e número de vagens, de maneira que se pode afirmar que não existe relação entre a aplicação dos tratamentos e o desenvolvimento destas variáveis nas plantas.

Tabela 9. Biometria de plantas 120 dias após a semeadura submetidas à diferentes concentrações do extrato de secreção glandular de *Rhinella marina*, água e acibenzolar-S-metil.

Table 9. Biometric properties, 120 days after planting subjected to different concentrations of glandular secretion extracts of *Rhinella marina*, water, and acibenzolar-S-metil.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro de caule (mm)	Massa fresca aérea (g)	Massa seca aérea (g)	Massa fresca raiz (g)	Massa seca raiz (g)	Número de vagens	Número de nódulos
Água	38,80*	3,74*	31,21*	5,93*	8,25*	2,25*	28*	62 b
Acibenzolar-S-metil (500 L ha ⁻¹)	42,79	3,52	28,24	5,57	3,41	1,35	25	51 b
0,1mg mL ⁻¹	42,03	3,55	31,48	5,89	3,24	1,47	27	36 a
0,2 mg mL ⁻¹	40,18	3,40	27,62	4,80	2,49	0,81	22	37 a
0,3 mg mL ⁻¹	39,85	3,47	29,91	4,96	4,83	1,45	22	53 b
0,4 mg mL ⁻¹	40,85	3,51	28,62	4,70	4,82	1,21	25	34 a
0,5 mg mL ⁻¹	42,28	3,63	33,22	5,61	5,49	1,44	24	53 b
CV (%)	5,75	9,60	21,37	26,35	25,45	28,47	14,80	26,83

*NS = não houve diferença estatística entre as variáveis analisadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,01$). Dados transformados em $(x)^{0,5}$.

4. DISCUSSÃO

Estes resultados podem ser explicados pelo fato de que na fase vegetativa as folhas de soja apresentam menor conteúdo de clorofila, aumentando gradativamente em razão da expansão da folha e pela demanda energética da planta, onde a ordem prioritária é determinada em função do estágio de desenvolvimento da cultura, sendo flores, vagens e grãos, órgãos prioritários na fase reprodutiva, e folhas, raízes e gemas vegetativas, no estágio vegetativo (JIANG et al., 2006).

Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, Campos et al. (2010) notaram que aplicação de giberelina em plantas de soja também não alterou o teor de clorofila das folhas. De acordo com Bigaton et al. (2013), ao trabalharem com plantas de soja pulverizadas com extrato e óleo essencial de quebra-machado (*Trichilia siphatica*) e extrato de aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius*), não apresentaram diferença estatística quanto ao índice de clorofila.

Diferente dos resultados encontrados por Gupta et al. (2011) que relatam que plantas de milho submetidas à aplicação de fertilizantes à base de *Trichoderma* spp. apresentaram maior teor de clorofila, melhor assimilação de CO₂ e foram influenciadas pelo fungo na transpiração. Porém, paclobutrazol em *Phaseolus vulgaris*, proporciona menor índice de clorofila foliar na ausência do regulador (GITTI et al., 2012).

Soares et al. (2004) também não encontraram respostas positivas da utilização do acibenzolar-S-metil para o controle da bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro comum. Da mesma forma, Querino et al. (2005) não observaram efeito positivo da utilização do acibenzolar-S-metil sobre o mal-do-Panamá em bananeira.

Entretanto, em condições controladas e com aplicação do acibenzolar-S-metil em tratamento de sementes, Debona et al. (2009) observaram efeito positivo deste indutor sobre a AACPD da ferrugem asiática da soja. Comportamento semelhante foi observado em tomateiro, onde houve aumento de eficácia dos fungicidas difenoconazole, azoxistrobina e mancozeb com a adição de acibenzolar-S-metil sobre o controle da pinta-preta (*Alternaria solani*) (TÓFOLI; DOMINGUES, 2005).

Nos trifólios que receberam os tratamentos não houve diferença estatística entre os tratamentos, sem redução da

severidade da doença quando comparado ao controle. Porém, a concentração de 0,5 mg mL⁻¹ em V5 apresentou diferença numérica quando comparada ao controle, proporcionando inibição de 57%.

De acordo com os resultados encontrados neste estudo, Borges (2007), testando extratos aquosos de *Tilia cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium* sobre a ferrugem asiática da soja, em plantas com diferentes níveis de resistência, não observou efeito dos extratos na severidade da doença, mesmo em duas pulverizações, sendo 7 dias antes e 7 dias depois da inoculação.

Assim como neste estudo, Bigaton et al. (2013) constataram que extratos e óleos essenciais de aroeira-pimenteira (*S. terebinthifolius*) e quebra-machado (*T. siphatica*) não controlaram *P. pachyrhizii*. Ao contrário, as plantas pulverizadas com extrato de aroeira-pimenteira a 5% e óleo essencial da mesma espécie a 1% mostraram maior intensidade da doença, comparadas às pulverizadas com água.

Semelhante aos resultados deste estudo, ao trabalharem com feijoeiro, Iriti; Faoro (2003) utilizaram acibenzolar-S-metil em uma única aplicação e, não detectaram diferenças na taxa de crescimento, comprimento de entrenós e expansão foliar ao longo do ciclo em casa de vegetação. Dados semelhantes ao de Resende et al. (2004), que não obtiveram incrementos significativos na altura de plantas de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum*.

5. CONCLUSÕES

Nas plantas de soja cultivadas em casa de vegetação extratos de secreções glandulares de *R. guttatus* e *R. marina* não controlam ferrugem asiática da soja.

Concentrações de 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,3 mg mL⁻¹ de extrato de secreção glandular de *R. guttatus* promovem maior altura de plantas e extrato de secreção glandular de *R. marina*, nas concentrações de 0,1mg mL⁻¹, 0,2 mg mL⁻¹ e 0,4 mg mL⁻¹, afeta negativamente o número de nódulos

6. AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso e Universidade Estadual de Maringá.

7. REFERÊNCIAS

- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949. <https://doi.org/10.1104%2Fpp.24.1.1>
- BIGATON, D.; BACCHI, L. M. A.; FORMAGIO, A. S. N.; GAVASSONI, W. L.; ZANELLA, C. S. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 4, p. 757-763, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000400012>
- BORGES, D. I. **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merrill.)**. 2007. 99p. Dissertação [Mestrado em Agronomia] – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?** Bruxelas: FRAC, 2007. 60p.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley and Sons, 1990. 532p.
- CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Arquitetura de plantas de soja e a aplicação de reguladores vegetais. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 1, p. 153-159, 2010.
- DEBONA, D.; FIGUEIREDO, G. G.; CORTE, G. D.; NAVARINI, L.; DOMINGUES, L. da S.; BALARDIN, R. S. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-metil no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 26-31, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052009000100004>
- FERREIRA, D.F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- GITTI, D. C.; ARF, O.; BUZETTI, S.; FERREIRA, M. M. R.; KAPPES, C.; KANEKO, F. H.; RODRIGUES, R. A. F. Aplicação de paclobutrazol e doses de nitrogênio em feijão de inverno cultivado em sistema plantio direto. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 3, p. 35-46, 2012. <https://doi.org/10.18188/sap.v11i3.5678>
- GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 63-68, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000100011>
- GODOY, C. V.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; CASSETARI NETO, D.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R. de; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P. da; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; MADALOSSO, M.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MONTECELLI, T. D. N.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. In: CIRCULAR TECNICA 111, 2015, Londrina, 6p. Disponível em: <http://www.infotec.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1021068>
- GUPTA, R.; PANDEY, S. K.; SINGH, A. K.; SINGH, M. Response of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and yield of finger millet (*Eleusine coracana*) influenced by bio-chemical fertilizers. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 81, p. 445-449, 2011.
- HONORATO, C. T. M. **Análise peptidômica da secreção cutânea do anuro *Eupemphix nattereri* com ênfase na prospecção de peptídeos antimicrobianos**. 2009. 74p. Dissertação [Mestrado em Biologia Animal] – Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 79p.
- IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, v. 85, n. 4, p. 265-270, 2003.
- JIANG, A. C. D.; GAO, H. Y.; ZOU, Q.; JIANG, G. M.; LI, L. H. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. **Environmental and Experimental Botany**, v. 55, p. 87-96, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.003>
- MAGNUSSON, W. E.; ISHIKAWA, N. K.; LIMA, A. P.; DIAS, D. V.; COSTA, F. M.; HOLANDA, A. S. S.; SANTOS, G. G. A.; FREITAS, M. A.; RODRIGUES, D. J.; PEZZINI, F. F.; BARRETO, M. R.; BACCARO, F. B.; EMILIO, T.; VARGAS-ISLA, R. A linha de véu: a biodiversidade brasileira desconhecida. Políticas do SNCTI sobre meio ambiente. **Parcerias Estratégicas**, v. 21, n. 42, p. 45-60, 2016.
- MAILHO-FONTANA, P. L. **Estudo morfológico comparativo do sistema de defesa química cutânea em duas espécies de sapos amazônicos (*Rhinella marina* e *Rhaebo guttatus*)**. 2012. 103p. Dissertação [Mestrado em Toxicologia] – Instituto Butantan, São Paulo, 2012.
- QUERINO, C. M. B.; LARANJEIRA, D.; COELHO, R. S. B.; MATOS, A. P. Efeito de dois indutores de resistência sobre a severidade do mal-do-Panamá. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 239-243, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000300004>
- REIS, E. M.; REIS, A. C.; ZANATTA, M. Reflexo econômico e desenvolvimento da resistência de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas em função do número de aplicações. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 3, p. 289-292, 2018. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176382>
- RESENDE, L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000400010>
- SAVITZKY, A. H.; MORI, A.; HUTCHINSON, D. A.; SAPORITO, R. A.; BURGHARDT, G. M.; LILLYWHITE, H. B.; MEINWALD, J. Sequestered defensive toxins in tetrapod vertebrates: principles, patterns, and prospects for future studies. **Chemoecology**, v. 22, p. 141-158, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00049-012-0112-z>
- SFREDO, G. J.; CAMPO, R. J.; MUZILLI, O.; PALHANO, J. B.; LANTMANN, A. F. In: **Recomendação de adubação para a soja no Estado do Paraná**. Londrina: Embrapa, 1980, 5p. (Comunicado Técnico)

- SOARES, R. M.; MARINGONI, A. C.; LIMA, G. P. P. Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro à murcha-de-Curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 373-377, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000400002>
- TÖFOLI, G. J.; DOMINGUES, J. R. Controle da pinta preta do tomateiro com o uso de acibenzolar-s-metil isolado, em mistura com fungicidas e em programas de aplicação. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 481-487, 2005. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v72p4812005>
- VANDERPLANK, J. E. **Plant Diseases: Epidemics and Control**. New York: Academic, 1963. 366p.
- YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F. Ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*): identificação e controle. **Informações Agronômicas**, n. 104, p. 5-8, 2003.