



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL
PROGRAMA DE MESTRADO EM AGRONOMIA

CLÓVIS JOSÉ ALCIDES GOMES

***Macrophomina phaseolina* EM SOJA - PADRÃO DE
OCORRÊNCIA, DANOS E ASPECTOS FÍSICO-
QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO SOLO RELACIONADOS
À DOENÇA**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2014

CLÓVIS JOSÉ ALCIDES GOMES

***Macrophomina phaseolina* EM SOJA - PADRÃO DE
OCORRÊNCIA, DANOS E ASPECTOS FÍSICO-
QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO SOLO RELACIONADOS
À DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Programa
de Mestrado em Agronomia, da
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel

Orientador: Prof. Dr. João Pereira
Torres

BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2014

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central do Campus Luiz Meneghel da Universidade Estadual do Norte do Paraná.

Gomes, Clóvis José Alcides

G613m *Macrophomina phaseolina* em soja: padrão de ocorrência, danos e aspectos físico-químico e biológico do solo relacionado à doença / Clóvis José Alcides Gomes. – Bandeirantes, 2014.
39f. ilustr.

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Torres.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) –
Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, 2014.

Banca: Dr. João Pereira Torres, Dr. João Tavares Bueno, Dr^a. Aline Vanessa Sauer, Dr. Marco Antônio Gandolfo (suplente), Dr^a. Ana Maria Conte (suplente).

1. *Glycine max*. 2. Podridão de carvão. 3. Produtividade. 4. Potencial de inóculo. I. Universidade Estadual do Norte do Paraná. III. Título.

CDD –

CLOVIS JOSÉ ALCIDES GOMES

***Macrophomina phaseolina* EM SOJA - PADRÃO DE
OCORRÊNCIA, DANOS E ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E
BIOLÓGICOS DO SOLO RELACIONADOS À DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia, da Universidade
Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz
Meneghel.

Aprovada em: 26 /08 /2014

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. João Pereira Torres (titular)	UENP
Prof. Dr. João Tavares Bueno (titular)	UENP
Prof ^a . Dr ^a . Aline Vanessa Sauer (titular)	UNOPAR
Prof. Dr. Marco Antônio Gandolfo	UENP
Prof ^a . Dr ^a . Ana Maria Conte	UENP

Prof. Dr. João Pereira Torres
Orientador
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Ao meu Pai Lázaro, pelo suporte e apoio

A minha esposa Ana Maria, pelo amor e

companheirismo

A minha irmã Cláudia Maria, pelo incentivo

constante

Aos meus filhos: Igor, Amanda e Samuel pessoas

especiais em minha vida

Dedico

À minha mãe Batistina, (in memoriam) que

sempre esteve e estará comigo

Minha homenagem

Nada foi em vão....

Obrigado DEUS.

Agradecimentos

À Universidade Estadual do Norte do Paraná e aos coordenadores e professores do Curso de Mestrado em Agronomia pela acolhida e pela oportunidade.

À capes pela concessão da bolsa de estudos .

Ao meu orientador Prof. Dr. João Pereira Torres por dividir seus conhecimentos com paciência e dedicação e pelos conselhos e orientações fundamentais para o êxito deste trabalho.

Aos Professores Dr^a. Aline Vanessa Sauer, Dr. João Tavares Bueno e Dr. Marco Antônio Gandolfo pelas correções e sugestões oportunas.

Ao Prof. Dr. Rone Batista de Oliveira pela ajuda nas análises estatísticas.

À Prof^a. Dr^a. Ana Maria Conte que me incentivou mostrando os primeiros passos da pesquisa científica.

Quero agradecer também aos professores e funcionários que contribuíram com ajuda e amizade durante este trabalho de pós-graduação: Prof^a. Ms. Dirce, Prof. Ms. Gilberto (Gil), D. Conceição, Marly, Imaculada (Macu), Esmeralda, Solange (Sol), Soninha.

Aos agricultores das cidades de Abatiá, Bandeirantes, Itambaracá, e Santa Amélia onde foram feitos os estudos.

Gomes, Clóvis José Alcides. ***Macrophomina phaseolina* em soja - padrão de ocorrência, danos e aspectos físico-químicos e biológico do solo relacionados à doença.** 2014. Dissertação de Mestrado em Agronomia- Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2014.

RESUMO

A podridão de carvão da soja causada por *Macrophomina phaseolina*, tem crescido em importância a cada safra. A doença tem sido relatada como responsável por danos de até 50% em cultivares tardias. Para investigar a intensidade da doença e os danos impostos à cultura, foram comparadas as situações de reboleiras (manchas da doença na lavoura) com as áreas saudas. Também foram investigados o fator biológico concentração de inóculo e outros de natureza físico-química do solo, com possibilidade de ação ao nível das reboleiras, suscitando estresses na planta, levando conseqüentemente à infecção. Foram visitadas 25 lavouras ao acaso na região do Norte do Paraná. Em todas foi constatada a doença, com uma média de 35,21% da área com plantas afetadas nas lavouras. A massa total de grãos e o peso de mil grãos foram comparados entre as plantas coletadas das áreas saudas e plantas das reboleiras. Os danos foram da ordem de 3,61 % da produção final, representando 2,2 sacas/há. Avaliou-se a composição química e os atributos físicos do solo dentro e fora das reboleiras. A composição química (pH, M.O., Ca, P, K, Al) e os atributos físicos (micro e macroporosidade) não diferiram pelo teste de Student a 5% de probabilidade. No entanto a densidade do solo foi diferente estatisticamente nos dois ambientes com 1,23 (Mg m^{-3}) nas reboleiras e 1,37 fora delas. Nas áreas de reboleiras o potencial de inóculo foi de 65,5 microescleródios por grama de solo e 62,5 nas áreas saudas, não diferindo entre si ($p < 0,05$).

Palavras-chave: *Glycine max*. Podridão de Carvão. Produtividade. Potencial de inóculo.

GOMES, Clóvis José Alcides. ***Macrophomina phaseolina* at soybean, standard of any, damages and physical-chemical aspects and biological of soil related disease.** In 2014. Dissertação de Mestrado em Agronomia- Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2014.

ABSTRACT

The charcoal rot of soybean caused by *Macrophomina phaseolina*, has grown in importance with each harvest. The disease is liable for damages up to 50% in late cultivars. To investigate the intensity of the disease and damage imposed on the culture, we compared the situations reboleiras (spots of the disease on the crops) with the healthy areas in the search for a biological factor (inoculum concentration) and / or physical-chemical he was acting at the level of reboleiras, raising stress on the plant, thus leading to infection. 25 crops were inspected at random on North Paraná. In all of the disease was observed, with an average of 35.21% of the affected area with plants in crops. The total mass of grains and thousand grain weight were compared between plants collected from healthy plants and the reboleiras areas. The loss was approximately 3.61% of the final production due to illness. We evaluated the chemical composition and physical soil properties within and outside reboleiras. The chemical composition (pH, OM, Ca, P, K, Al) and physical (micro and macroporosity) attributes did not differ by Student's test at 5% probability. However soil density was statistically different in the two environments with 1.23 (Mg m⁻³) and 1.37 in reboleiras out of them. In areas reboleiras the inoculum potential was 65.5 microsclerotia per gram of soil and 62.5 in the healthy areas, not differing among themselves (p <0.05).

Keywords: Glycine max. Charcoal rot. Productivity. Inoculum potential.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 DOENÇAS RADICULARES	4
2.2 O PATÓGENO <i>Macrophomina phaseolina</i>	5
2.3 POTENCIAL DE INÓCULO	7
2.4 PODRIDÃO DE CARVÃO	9
2.5 ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO E OCORRÊNCIA DA DOENÇA	9
2.6 ASPECTOS QUÍMICOS DO SOLO E OCORRÊNCIA DA DOENÇA	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO DE CARVÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS.....	12
3.2 AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO.....	14
3.3 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO	15
3.4 QUANTIFICAÇÃO DO INÓCULO NO SOLO.....	15
3.4.1 Adaptação de Meio Seletivo – Substituição de Fungicida	15
3.5 AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DE MICROESCLERÓDIOS NO SOLO.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 INCIDÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS	19
4.2 ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO	21
4.3 ASPECTOS QUÍMICOS.....	23
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO INÓCULO NO SOLO	26
4.4.1 Meio Seletivo.....	26
4.4.2 Densidade de Micolescleródios	27
5. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

O cultivo da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no Brasil, começou no século XIX mas a produção aumentou no início da década de 60, primeiramente devido a necessidade da obtenção do óleo de cozinha recentemente introduzido na dieta humana e depois para obtenção do farelo rico em proteína usado na dieta animal (MUNDSTOK e THOMAS, 2005). O Brasil é segundo maior produtor de soja do mundo. A produção da oleaginosa aumentou quase 6% na última safra, passando de 82 para 86 milhões de toneladas. O grão de soja é uma das principais commodities do mundo e o principal produto do agronegócio brasileiro.

No Paraná foram colhidas 14,7 milhões de toneladas na safra 2013/14. Este valor representa 7,5% menos que o produzido na safra 2012/2013. Apesar do aumento de 5% da área, a produtividade foi inferior em 13% em relação à safra 2012/2013. Este resultado foi consequência do longo período de ausência de chuvas e elevadas temperaturas em fases importantes do desenvolvimento da cultura (CONAB, 2014).

Das limitações impostas à produção de soja, as doenças se apresentam como uma das principais ameaças à cultura. A importância econômica de cada doença varia de acordo com o ano e região, dependendo das condições climáticas de cada safra. Os danos anuais de produção por doenças são estimado em 15% a 20%. Muitas doenças são relatadas como fator limitante a produtividade, entre elas se destacam a ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*), antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*), oídio (*Erysiphe difusa*), dentre outras (EMBRAPA, 2013).

Dentre as mais de quarenta doenças relacionadas na cultura, treze ocorrem no sistema radicular, a partir de patógenos habitantes do solo. Entre elas se destaca a podridão de carvão, causada por *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goidanish (ALMEIDA et al., 2001).

Grandes variações de níveis de danos no rendimento na cultura da soja têm sido relatados. Os danos de rendimentos devido à podridão de carvão em soja nos dez maiores países produtores, em 1994, ultrapassou 1,2 milhões de toneladas (WRATHER et al., 1997). A podridão de carvão foi responsável pelos

maiores danos na cultura da soja, em comparação com outras doenças do Central Mississippi e Alabama, Central Illinois e Indiana (MOORE, 1984). A podridão de carvão foi classificada em segundo lugar na lista de doenças que afetaram a produção de soja em 2003 nos EUA (WRATHER e KOENNING, 2006). No Brasil, a ocorrência de *M. phaseolina* foi relatada pela primeira vez infectando raízes de feijão (BITANCOURT, 1935). Na soja a doença é conhecida por podridão de carvão, geralmente encontrada nas raízes e colo da planta. Os sintomas se evidenciam normalmente no final do ciclo da cultura e se confundem com o estágio de senescência das plantas. Por este motivo, a doença pode passar despercebida nas lavouras (ALMEIDA et al., 2001). Sendo descrita pela primeira vez no Brasil por Ferreira et al., em 1979.

Na região norte do Estado do Paraná, constatou-se que em anos secos, as cultivares de soja tardias apresentaram até 50% de perdas na produção (ALMEIDA et al., 2001).

Em Bandeirantes - PR, na safra 2006/07, foram registrados danos de 28,12%, 32,52% e 22,27%, para o peso de plantas inteiras, peso total de grãos e massa de mil grãos nas reboleiras, respectivamente em comparação às áreas sadias (TORRES et al., 2007). No mesmo ano agrícola, em dez lavouras vistoriadas, constatou-se a presença da doença em reboleiras em todas as lavouras. O registro de danos nas reboleiras comparando-se com as áreas sadias foi de 55,51%, 29,86% e 12,37% para o peso de plantas inteiras recém colhidas, peso total de grãos e massa de mil grãos, respectivamente (BUENO et al., 2007).

O desenvolvimento vegetal e das doenças radiculares são influenciados pelos componentes físicos, químicos e biológicos do solo. A produção da cultura é dependente da interação entre estes fatores e a alteração deste conjunto pode determinar o nível de dano impostos a esta cultura (WHEELER et. al., 2001). Condições ambientais proporcionando estresses nas plantas, condicionando-as à infecção são descritas na literatura, como deficiência hídrica, altas temperaturas e compactação de solo (GIRISH, 2012).

De forma geral, *M. phaseolina* tem sido favorecida por práticas culturais de menor revolvimento de solo, como plantio direto (WRATER et al., 1998). E esse sistema de cultivo ganha cada vez mais importância no Brasil.

Boaretto e Danelli (2012) fazem referência a ausência de pesquisas mais precisas no que diz respeito aos danos ocasionados por podridão de carvão na cultura da soja.

Assim os objetivos deste trabalho foram:

- Quantificar a ocorrência da doença regionalmente;
- Quantificar a redução na produção da cultura da soja nas áreas com sintomas;
- Relacionar alguns parâmetros físico, químicos e biológicos do solo com o aparecimento dos sintomas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOENÇAS RADICULARES

As doenças radiculares se destacam nas culturas de interesse alimentar como uma das principais causas de redução na produtividade (HILLOCKS e WALLER, 1997).

Os patógenos radiculares em associação com as plantas, evoluíram por milhões de anos, tornando-se altamente adaptados ao ambiente e com isto dificultando o controle das doenças radiculares (BRUEHL, 1987).

Devido à infecção e desenvolvimento inicial das doenças ocorrerem abaixo do nível do solo, os patógenos radiculares geralmente são notados apenas quando atingem estados avançados. Desta forma as opções de controle tornam-se limitadas, pois ficam relativamente inacessíveis à manipulação direta do homem (WHEELER et al., 2001).

As doenças radiculares da soja, como: tombamento de plântulas (*Rhizoctonia solani*; *Pythium* spp.), murcha de fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *glycines*), murcha-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii*), podridão cinzenta do caule (*Macrophomina phaseolina*), podridão radicular vermelha (*Fusarium solani*), podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*), podridão radicular seca (*Fusarium solani* f.sp. *sojae*), podridão radicular mole (*Phytophthora megasperma* f.sp. *glycine*) geralmente são resultantes de solos com condições inapropriadas ao cultivo da soja, onde o sistema agrícola adotado pode desequilibrar o solo e favorecer a ocorrência das doenças radiculares, pois transforma os campos de cultivo em local de baixa diversidade ecológica, deixando esse ambiente mais propício aos agentes fitopatogênicos (MICHEREFF et al., 2005).

2.2 O PATÓGENO *Macrophomina phaseolina*

M. phaseolina (Tassi) Goid. é um importante fungo fitopatogênico capaz de infectar mais de 500 espécies de plantas, incluindo culturas de importância econômica como soja, feijão, milho, algodão, girassol, amendoim e mamona (KHAN, 2007; NDIAYE, 2007; GUPTA et al., 2012). No Brasil esse patógeno tem sido motivo de sérios problemas nestas culturas, bem como em caupi, sorgo, e crotalaria, dentre outras espécies cultivadas (ALMEIDA et al., 2001).

O patógeno foi descrito por Goidanish em 1947 após revisar a taxonomia do gênero *Macrophomina*, constituído por apenas uma espécie: *M. phaseolina* (Tassi) Goid. O fungo pertence ao filo Ascomycota, família Botryosphaeriaceae, sendo caracterizado pela produção de picnídios e microescleródios nos tecidos dos hospedeiros (NDIAYE, 2007). O micélio do fungo é uninucleado com crescimento concêntrico de coloração acinzentada a preto com as hifas formando ramificações em ângulo reto (MACHADO e KIMATI, 1975). O fungo produz picnídios negros e globulosos, que geralmente ocorrem nos tecidos vivos, sendo que apenas alguns isolados formaram picnídios em BDA com ambiente controlado (DHINGRA e SINCLAIR, 1978). Segundo Pearson et al. (1987) existem diferenças morfológicas entre isolados e quando cultivados em BDA alguns deles não produziram picnídios, e também podem variar quanto a virulência.

M. phaseolina é um patógeno polífago, por isso não é possível afirmar a especificidade do hospedeiro (MAIA et al. 2004). Os picnídios e microescleródios são responsáveis pela sobrevivência do patógeno em condições adversas ou na ausência de hospedeiro suscetível sendo usualmente a fonte primária de inóculo, pois ficam no solo, nas sementes e em restos de cultura (DHINGRA e SINCLAIR, 1978; VIANA, 1996; NDIAYE, 2007; GUTPA et al. 2012). Este fungo foi constatado nas Américas do Norte e do Sul, Ásia, África e Europa. Entretanto ele é economicamente mais importante em regiões semiáridas de países com clima tropical a subtropical (NDIAYE, 2007). Os microescleródios são estruturas duras e resistentes produzidas a partir do micélio do fungo, geralmente

encontrados sob a epiderme das raízes e no colo das plantas infectadas, apresentando coloração marrom escura a preta, globulosos e lenticulares.

M. phaseolina é um organismo habitante natural do solo capaz de infectar as plantas de soja em diferentes estágios de desenvolvimento, porém os sintomas aparecem principalmente na fase de florescimento e enchimento de grãos, em forma de reboleiras na lavoura (GUPTA et al., 2012).

Os exsudados do sistema radicular induzem a germinação dos microescleródios e a infecção das raízes dos hospedeiros que ocorrem com a penetração do micélio na epiderme da raiz ficando restrito aos espaços intercelulares do córtex das raízes primárias, podendo levar as plantas a morte por colapso das células. Durante o florescimento, hifas do fungo crescem intracelularmente através do xilema e formam microescleródios que bloqueiam os vasos e causam a quebra das células do hospedeiro (KHAN, 2007; KAUR et al. 2012).

As plantas doentes apresentam lesões necróticas nas raízes, caule, ramos e pedúnculos por onde chegam até as vagens e invadem os grãos, que se destinados à semente tornam-se a principal fonte de disseminação na maioria das culturas afetadas. (DHINGRA e SINCLAIR, 1978; 1990; NDIAYE, 2007). Plantas severamente infectadas morrem prematuramente em virtude da produção de toxinas do fungo e pelo bloqueio dos vasos do xilema. As lesões podem ser confundidas com as de *R. solani*, mas as lesões de *M. phaseolina* são mais superficiais e as plantas geralmente sobrevivem e vão apresentar sintomas de amarelecimento pouco antes da maturação normal.

As plantas sintomáticas que não morreram formam reboleiras ou faixas com folhas amareladas e posteriormente com ramos caídos com as folhas murchas presas às hastes (DHINGRA e SINCLAIR, 1978; NDIAYE, 2007; ALMEIDA, 2001).

Os sintomas na maioria das culturas vão desde podridão de sementes, passando pelo tombamento de plântulas, podridão de raízes e caules até a morte prematura das plantas (SHORT E WYLLIE, 1978).

Durante períodos de seca, onde a temperatura no solo se apresenta acima de 35 °C durante 2 a 3 semanas e sua umidade é baixa, as plântulas podem ser infectadas e após a emergência exibirem sintomas visíveis nos cotilédones. Os sintomas iniciais em plântulas apresentam coloração marrom

e evoluem para manchas escuras. A partir do estágio de folha unifoliolada as lesões tornam-se castanho avermelhadas, circulares a oblongas em hipocótilos emergentes de plântulas infectadas, tornando-se marrom escuro a preto após vários dias. Estas lesões podem estender-se até a haste das plântulas infectadas que podem morrer se o período de seca persistir (GUPTA et al., 2012).

Os sintomas da doença em plantas adultas aparecem na parte aérea entre 1 e 4 semanas antes da maturação normal. Ocorre o amarelecimento das folhas que após secas ficam retidas na planta. O adiantamento da senescência formam as reboleiras que são as manchas visíveis na lavoura com plantas doentes. O patógeno provoca lesões nas raízes, caules, vagens e sementes. Lesões superficiais de cor marrom claro ao cinza aparecem no tronco, folhas de plantas infectadas permanecem menores do que o normal e, posteriormente, amarelecem antes de murchar (GUPTA e CHAUHAN, 2005).

O fungo se propaga pelo caule da planta deixando os tecidos vasculares com coloração marrom-avermelhados. O patógeno penetra nas vagens e grãos, induzindo sintomas diversos, como manchas nas sementes e às vezes, com produção de microescleródios nas vagens e sementes (GUPTA et al., 2012). Os microescleródios formados nos tecidos vasculares e na medula deixam o caule com uma aparência acinzentada a escura, e a epiderme da raiz destaca-se facilmente (ALMEIDA et al., 2001).

2.3 POTENCIAL DE INÓCULO

Inóculo é qualquer estrutura do patógeno capaz de causar infecção, incluindo estruturas vegetativas e reprodutivas (Amorim, 1995).

Patógenos radiculares podem estar presentes no solo de várias formas e estádios, por isto deve-se expressar a densidade de inóculo por unidades formadoras de colônias (u.f.c.) por grama de solo ao invés de propágulos por grama (BENSON, 1994). Michereff et al. 1996 citam exemplos de densidades máximas de inóculos de fungos fitopatogenicos detectados no campo, por grama de solo: *F. oxysporum* f.sp *batatas* (50 u.f.c.); *F. solani* f. sp.*glycine*.

(650 u.f.c.); *M. phaseolina* (98,6 microescleródios); *Phytophthora parasitica* (48 u.f.c.); *R. solani* (98,6 microescleródios) *Thielaviopsis basicola* (221 u.f.c.).

A possibilidade de infecção das plantas por patógenos radiculares está relacionada à presença destes no solo e a quantidade de inóculo presente é muito importante devido à baixa disseminação destes propágulos (MICHEREFF et al. 1996).

No ciclo da podridão de carvão, após morte da planta, a colonização dos tecidos do hospedeiro e a formação de microescleródios continuam, e com a decomposição dos restos vegetais são liberados no solo. Quando introduzido em uma nova área, os microescleródios passam a ser a principal fonte de inóculo primário do fungo dependendo das condições ambientais e da associação ou não aos tecidos do hospedeiro podendo sobreviver de dois a quinze anos (MIHAIL, 1989; BAIRD et al., 2003).

A palhada de soja deixada sobre o solo no plantio direto se decompõe mais lentamente que quando enterrados podendo assim aumentar a permanência de agentes patogênicos necrotróficos consequentemente aumentar as doenças de soja na próxima safra, esse fato foi observado por Almeida et al. (2001), em restos de cultura de soja mantidos sob ou sobre o solo, demonstrando que o fungo sobrevive e se multiplica saprofiticamente

Segundo Short et al. (1980) a população de microescleródios foi proporcional ao número de anos cultivados, consecutivamente, com soja e milho. Da mesma forma, a severidade de raízes de soja infectadas foi diretamente relacionada à concentração de microescleródios no solo. Os autores concluíram que o rápido aumento dos microescleródios em solos cultivados com hospedeiros suscetíveis, a persistência desses propágulos no solo e em resíduos de soja e a direta relação entre concentração de microescleródios e redução de rendimento não permitem que esta doença possa ser controlada por rotação de cultura.

2.4 PODRIDÃO DE CARVÃO

Em Missouri (EUA) alguns produtores obtiveram danos de 30 a 50%, com reduções anuais estimadas em 5% devido a presença da podridão de carvão em soja (Wyllie, 1988). Em Iowa houve uma grave epidemia da doença na safra de 2003, a qual se destacou em segundo lugar na lista de doenças que causaram danos na produção de soja naquele ano nos Estados Unidos (YANG e NAVI 2005).

No Brasil, os prejuízos foram estimados em 900 mil toneladas de grãos de soja na safra 1996/97 (WRATHER et al. 1997).

Em um levantamento de doenças de soja, Lehman et al (1976) constataram que em 104 lavouras, avaliadas quanto à incidência e severidade das doenças, 5% apresentavam infecção radicular causada por *M. phaseolina*.

2.5 ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO E OCORRÊNCIA DA DOENÇA

A constituição química e as propriedades físicas do solo determinam direta e indiretamente os processos vitais para os microrganismos fitopatogênicos e as plantas que ali crescem. Essas propriedades como densidade, porosidade e tipo de minerais existentes, condicionam o teor de água, oxigênio e nutrientes, que afetam o crescimento e a produtividade das plantas bem como a sobrevivência e reprodução dos microrganismos que ali habitam. Portanto o conhecimento sobre essas propriedades e sua influência sobre as doenças radiculares serve de base para adoção de medidas de prevenção e controle (LIDDELL, 1997).

A disponibilidade de água e nutrientes do solo é significativamente afetada por suas propriedades físicas, tais como textura, estrutura, porosidade, consistência, temperatura e cor (SALUME et al., 2013). A constituição física do solo é determinada pela mistura de compostos orgânicos e partículas minerais (areia, silte e argila) e a proporção destes componentes determina suas características físicas. Solos melhor estruturados, geralmente apresentam altos níveis de matéria orgânica e argila (WHEELER et al., 2001).

A composição volumétrica de um solo de textura média, ideal para o desenvolvimento das plantas, é de 25% de água, 25% de ar, 45% de mineral e 1 a 5% de matéria orgânica. E dependendo do teor de umidade a proporção de ar e água pode ser alterada (MALAVOLTA, 1980).

O volume ocupado pela água e ar determina a porosidade do solo que permite o desenvolvimento radicular e o crescimento de microrganismos que podem ser benéficos, fitopatogênicos ou inertes para a planta (LIDDELL, 1997).

Há dois tipos de espaços porosos nos solos os macroporos de maior diâmetro, que permitem o livre movimento do ar e da água de percolação, e os microporos que impedem a movimentação do ar e retêm a água por capilaridade (RAIJ, 2011). Deste modo a porosidade do solo, determina maior ou menor aeração, assim como a disponibilidade de água, o que influencia diretamente sobre a ação biológica, incluindo patógenos habitantes do solo (LIDDELL, 1997).

2.6 ASPECTOS QUÍMICOS DO SOLO E OCORRÊNCIA DA DOENÇA

Os diferentes sistemas de cultivo agrícola podem promover desequilíbrio no solo e na comunidade edáfica, com a simplificação ecológica das espécies existentes. Plantas cultivadas em solo em desequilíbrio geralmente são mais susceptíveis as doenças radiculares por estarem sujeitas a ação de fitopatógenos (MICHEREFF et al.,1996).

A baixa fertilidade também é um fator que influencia na susceptibilidade das culturas às doenças radiculares, por produzir plantas menos vigorosas do que as produzidas em solos férteis. O cuidado no manejo pode ocasionar aumento no vigor das plantas bem como reduzir ou até mesmo eliminar totalmente estes efeitos adversos (MICHEREFF et al., 2005). O fornecimento adequado de macro e micronutrientes no controle de doenças por favorecer positivamente aspectos morfofisiológicos das plantas e inibir o desenvolvimento dos fitopatógenos (ENGELHARD, 1989).

A falta ou excesso de alguns nutrientes tornam as plantas mais susceptíveis as doenças. Foster e Walker (1947) trabalhando com tomate demonstraram uma maior predisposição da cultura à murcha de fusarium com alto

teor de potássio (K) e baixos teores de nitrogênio (N) e fósforo (P). Assim, o fornecimento de nutrientes pode reduzir a severidade da doença, entretanto a supressão aos patógenos pode ser por ação direta patógeno/hospedeiro ou indireta através de modificações nas características físico-química do solo e da rizosfera através da liberação de exsudados e/ou estímulo aos antagonistas. O fornecimento de nitrogênio em diferentes fontes reduziu a formação de clamidósporos de *F. solani* f.sp. *cucurbitae* e a permeabilidade de esclerócios de *S. rolfsii* (HENIS e CHET, 1968; SCHIPPERS, 1972). Fato que condiz com Chun e Lockwood (1985) que trabalhando em solos arenosos verificaram que as densidades populacionais de *P. ultimum*, *T. basicola* e *M. phaseolina* foram significativamente reduzidas com a aplicação de uréia a 0,25; 0,5 e 1%, respectivamente. Em trabalho realizado por Duffy e Défago (1997) foi observada ação indireta onde o acréscimo de zinco incrementou a atividade de *Pseudomonas fluorescens* no controle de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*.

O pH e a fertilidade do solo afetam significativamente a incidência e a severidade de muitas doenças radiculares entretanto, a forma de ação desses mecanismos são pouco compreendidos (WHEELER et al., 2001).

Michereff et al. (2005) citam que o pH exerce efeito direto sobre os patógenos e as doenças, pois condiciona a disponibilidade dos nutrientes presentes no solo, afetando a carga dos colóides orgânicos. Em solos básicos (pH > 7,5) nutrientes como cálcio, ferro, zinco e outros microelementos essenciais, ficam fortemente unidos e indisponíveis para as plantas e microrganismos do solo. Plantas cultivadas nesse ambiente são mais suscetíveis a infecção por patógenos radiculares.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO DE CARVÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS

A pesquisa foi realizada no norte do Paraná abrangendo 4 municípios: Abatiá (latitude 23° 18' 13" S, longitude 50° 18' 45" O, 620 m de altitude), Bandeirantes (23° 06' 36" S, longitude 50° 22' 03" O, 420m de altitude), Itambaracá (latitude 23° 01' 04" S e longitude 50° 24' 23" O, 402 m de altitude) e Santa Amélia (latitude 23° 15' 57" e longitude 50° 25' 27" O, 500m de altitude). O clima nesta região é definido como Cfa, sub tropical úmido, (KÖPPEN, 1918). O solo da região é predominantemente Latossolo Vermelho Eutroférico (EMBRAPA, 2006). Os dados meteorológicos do período equivalente ao ciclo da cultura, outubro de 2012 a fevereiro de 2013, encontram-se nas tabelas 3.1 3.2 e 3.3.

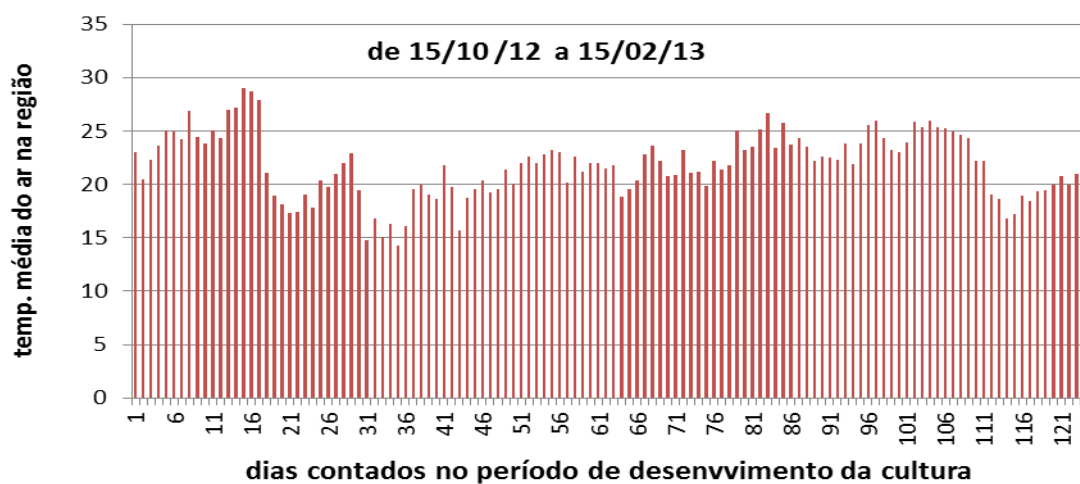


Figura 3.1-Temperatura média do ar durante o período de desenvolvimento da cultura. (Estação UENP-CLM)

Foram definidas ao acaso 25 plantações de soja ao longo da rodovia que liga estes quatro municípios. Quando as plantas de soja se encontravam nos estádios R7 e R8 estas foram percorridas e avaliadas quanto à ocorrência da doença e realizou-se a estimativa do tamanho das reboleiras (manchas de área com plantas doentes).

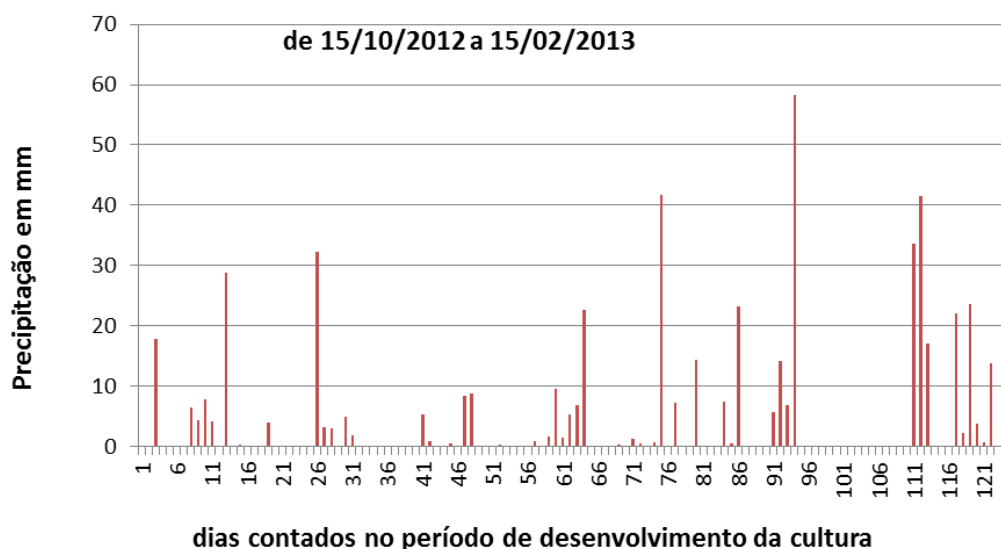


Figura 3.2 Precipitação em mm durante o ciclo de desenvolvimento da cultura (Estação UENP-CLM)

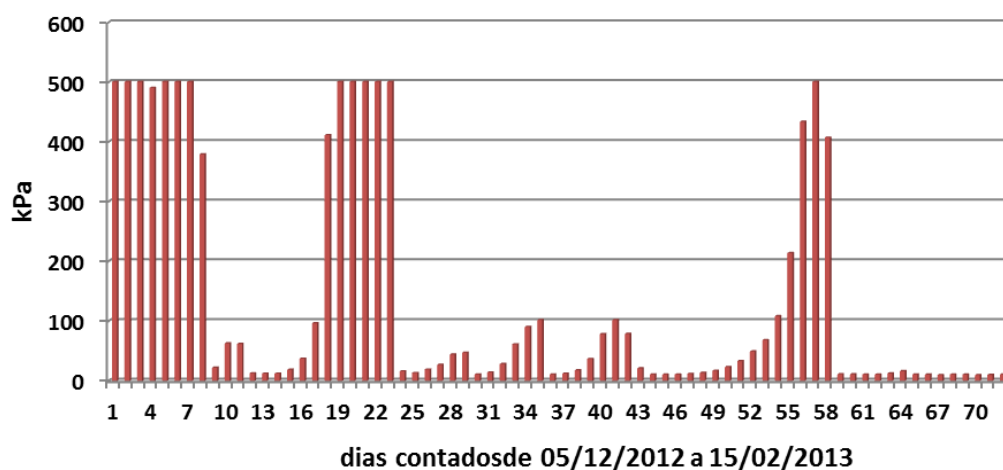


Figura 3.3 - Níveis de tensão da água (kPa) no solo nos últimos 70 dias do ciclo da cultura de soja (Agrodetecta, Basf - Fundação ABC – UENP (CLM), Bandeirantes-PR).

As reboleiras da doença foram detectadas através dos sintomas, por meio de plantas amareladas ou em senescência, apresentando visível adiantamento do ciclo e folhas presas ao caule. A confirmação do diagnóstico foi efetuada pela presença de microescleródios na raiz e no colo das plantas (BOARETTO e DANELLI, 2012).

A quantificação dos danos foi realizada pela delimitação das reboleiras, estimando-se visualmente comparando a dimensão das reboleiras com a área total avistada, isto é, dentro de um campo visual. Assim obteve-se um valor, em porcentagem, para a soma das reboleiras, respectivamente para cada área / lavoura amostrada, versus a área sadia.

A produtividade foi avaliada em todas as lavouras, através da coleta de duas fileiras de plantas no estágio R8 (maturação plena), com cinco metros de comprimento cada, sendo uma amostra na área sadia e outra dentro da reboleira com sintomas da doença. As plantas coletadas foram secas ao sol e as vagens foram debulhadas para a determinação da massa total dos grãos e massa de mil grãos. Os resultados da produção foram expressos em Kg ha^{-1} , com umidade corrigida para 13%. As coletas foram realizadas nas reboleiras e nas áreas sadias e este procedimento foi repetido nas 25 propriedades.

Os dados formam um quadro comparativo onde são calculados os danos decorridos da doença e o índice de ocorrência através do teste t de Student.

3.2 AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO

Por questão de tempo, das 25 lavouras pesquisadas, em 18 foram avaliados os parâmetros físicos como densidade do solo, macroporosidade, microporosidade e porosidade total. Em cada lavoura foram coletadas três amostras indeformadas por reboleira. A coleta foi realizada na entrelinha de plantio (profundidade de 0 a 10 cm) com auxílio de anel volumétrico de 100 cm^{-3} . Desta forma obteve-se a média das reboleiras e a média da área sadia, para cada propriedade.

Através da metodologia do anel volumétrico, foi determinado a densidade do solo (Mg m^{-3}). A macroporosidade e a microporosidade foram

determinadas através da metodologia da mesa de tensão (EMBRAPA, 1997), com três pontos de amostragem.

Os dados foram comparados através do teste de Student.

3.3 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Em todas as 25 propriedades foram coletadas amostras de solo nas áreas de reboleiras e nas áreas sadias para a realização das análises químicas. Foram coletadas 5 sub amostras em cada área e misturadas passaram a formar uma única amostra por área, a coleta foi de 0-10cm de profundidade sempre nas entre linhas das plantas.

O material coletado foi analisado no Laboratório de Análises Química e Física do Solo da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), *campus* Luiz Meneghel. Foi realizada a caracterização química, onde avaliou-se pH (em CaCl_2), matéria orgânica (MO) (g Kg^{-1}), fósforo (P) (mg dm^{-3}), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), hidrogênio (H) + alumínio (Al), saturação de bases (SB) e capacidade de troca catiônica ($\text{CTC}_{7,0}$) ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$). Potássio e P foram obtidos através da solução extratora Melich 1; Ca, Mg e Al pela solução extratora KCl 1 mol L^{-1} . A acidez ativa (pH) foi determinada através de solução com CaCl_2 e a acidez potencial (H+Al) foi obtida pelo método pH em SMP. Os valores de CTC a pH 7, Soma de Bases (SB) e Saturação por Bases (V %) foram obtidos por cálculo, segundo Embrapa (2009) e avaliados pelo teste t de Student, para comparação dos dois grupos de dados.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DO INÓCULO NO SOLO

3.4.1 Adaptação de Meio Seletivo – Substituição de Fungicida

. O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da UENP, *campus* Luiz Meneghel (CLM).

A quantificação de microescleródios de *M. phaseolina* no solo conforme Mihail e Alcorn (1982) é feita utilizando meio de cultura seletivo com o

fungicida, chloroneb. Mas como este fungicida não foi encontrado, houve a necessidade de pesquisar outros fungicidas para compor o meio seletivo.

Para avaliar fungicidas com potencial de substituição, foram utilizados os fungicidas quintozeno, iprodione, clorothalonil, procymidone, captana, diclorana, e os fungicidas compostos, metalaxil + fludioxonil, metalaxil + mancozeb, carboxim + thiram. As doses utilizadas foram: 50, 100, 150, 200 e 250 ppm referindo-se ao primeiro componente no caso dos fungicidas compostos. As características dos respectivos produtos estão relacionadas na Tabela 3.1.

O isolado de *M. phaseolina* foi obtido a partir do cultivo *in vitro* de microescleródios retirados com um estilete de metal diretamente de uma planta de soja coletada no município de Bandeirantes, fazendo isolamento direto para a placa de Petri contendo meio BDAA e incubados a 33°C por 7 dias.

Foi preparado um meio de cultivo base com os ingredientes: Arroz-Ágar (15 g de arroz e 20 g ágar por 1000 ml de meio), cloreto de mercúrio 7mg/L (Rosa de Bengala 90 mg/L) e sulfato de estreptomicina (60 mg/L). Os fungicidas utilizados foram diluídos em água destilada e esterilizada e acrescentados ao meio base. Após a adição do fungicida, o meio foi agitado e vertido em placas de Petri, totalizando de 6 para cada fungicida. Em cada placa foi transferido um disco de 0,7 cm de diâmetro do meio BDAA contendo micélios de *M. phaseolina* com 7 dias de cultivo. A testemunha consistiu no cultivo do fungo apenas no meio base sem fungicida. Em seguida as placas foram colocadas em câmara de crescimento a 33°C no escuro. A avaliação foi realizada por meio da medição dos diâmetros (cm) das colônias, no momento em que a testemunha apresentava crescimento total na placa, geralmente entre cinco a dez dias.

Devido a irregularidade no desenvolvimento do fungo no meio base, este foi substituído definitivamente por BDAA. Assim todo o trabalho de seleção e substituição de fungicida, foi repetido usando como base o meio BDAA com os respectivos fungicidas.

Tabela 3.1 Fungicidas testados para avaliar o crescimento de colônias de *Macrophomina phaseolina*.

Ingrediente ativo (i.a)	Grupo químico	classe	Formulação	Concentração i a	Produto comercial
Clorotalonil	isoftalomitrila	C	PM	750 g/kg	DACONIL
Iprodione	dicarboximida	C	SC	500 g/L	ROVRAL
Procymidone	dicarboximida	S	WP	500 g/kg	SUMILEX
Captana	ftalimidas	C	PM	500 g/kg	CAPTAN
Diclorana	cloroaromatico	C	PM	750 g/kg	BOTRAM
Fludioxonil + Metalaxil	fenilpirrole acilalaninato	S C	SC	25+10 g/L	MAXIM XL
Carboxin + Thiram	carboxanilida + dimetilditiocarbamato	S C	SC	200 + 200 g/L	VITAVAX THIRAM
Mancozeb + Metalaxil	ditiocarbamatos acilalaninato	C C	PM	640 g/k 40 g/kg	RIDOMIL
Quintozeno	cloroaromatico	C	PM	750 g/kg	TERRA-CLOR

3.5 AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DE MICROESCLERÓDIOS NO SOLO

Para avaliação da densidade de microescleródios no solo foram utilizadas as mesmas amostras compostas, usadas para análise química. De cada uma dessas amostras de solo foi retirado 20 gramas e após secas ao ar foram peneiradas individualmente em uma malha de 60 mesh. Cinco gramas desse solo foram suspensos em um erlenmeyer de 500 ml, com 250 ml de hipoclorito de sódio a 0,5%. O balão volumétrico foi agitado por 10 minutos em um agitador rotativo de 120 ciclos por minuto. A suspensão foi vertida em uma peneira de 325 mesh e o material retido foi lavado com água destilada por 30 segundos. O resíduo foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL

contendo 100 mL do meio seletivo testado (BDAA + diclorana a 100 ppm). Após uma leve agitação a suspensão foi vertida em cinco placas de Petri e incubada no escuro, a 33°C.

As avaliações de crescimento de colônias foram realizadas aos sete e quatorze dias, através da contagem do número de colônias de *M. phaseolina*. A confirmação da espécie foi realizada com base nas características morfológicas das colônias, repicando-as para BDAA sem fungicidas.

A densidade dos microescleródios foi calculada contando o número de colônias das cinco placas e dividindo por cinco, chegando-se ao número de microescleródios viáveis por grama de solo. Foi aplicado o teste t de Student, para comparação dos dois grupos de dados, com e sem doença.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INCIDÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS

A incidência de *M. phaseolina* na cultura da soja foi constatada em todas as lavouras amostradas (Figura 4.2). Esse índice corrobora com Boaretto e Danelli (2012), segundo os quais é raro a não constatação dessa doença numa lavoura de soja. As reboleiras apresentaram-se distribuídas de forma aleatória, mesclando áreas doentes e áreas saudias, o que pode ser observado, por exemplo, na figura 4.1.

O padrão de distribuição em reboleiras é considerado normal para as doenças conhecidas como “doenças de solo” ou podridões de raízes e colo, fato geralmente relacionado à maior concentração de inóculo do patógeno (BEDENDO, 2011).



Figura 4.1 Reboleiras da podridão de carvão na lavoura de soja no município de Abatiá PR

As reboleiras representaram em média 35,21% de área com sintomas da doença na media das lavouras de soja (Figura 4.2). Dentro das reboleiras a produtividade foi estatisticamente inferior, apresentando-se em média 10,27% menor que nas áreas sem a doença. Considerando o menor rendimento nas partes onde ocorreu a doença (10,27%) e a porcentagem de área com

doença na média das lavouras (35,21%), as perdas gerais resultaram em 3,61%, equivalente a 134,52 Kg ha⁻¹ ou 2,2 sacas/ha (Figura 4.2 e Tabela 4.1).

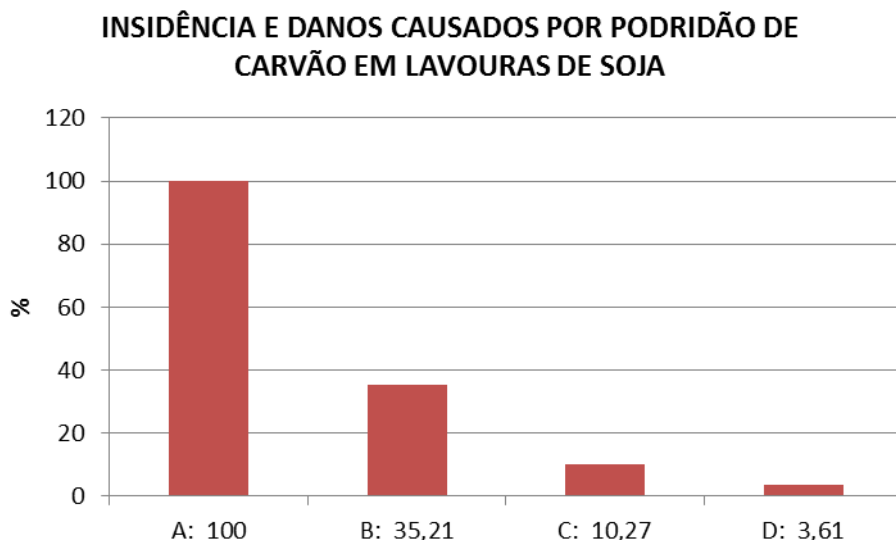


Figure 4.2- A:Lavouras com presença da doença (%); B:área das reboleiras (%); C:redução da produção nas reboleiras (%); D:Redução da produção nas lavouras avaliadas.

Nos EUA, Wyllie (1974) relatou danos de até 20% e em 1988 o mesmo autor estimou danos nas médias anuais de 5% em Missouri, com alguns produtores alcançando perdas de 30% a 50% (WYLLIE, 1988). No Brasil Wrather et al. (1997) estimaram danos de 900 mil toneladas de grãos na safra 1996/97, como a produção foi de 26,2 milhões de toneladas (CONAB, 2010) correspondeu a 3,4% de danos. Os dados de ocorrência e danos concluídos nesta pesquisa apontam prejuízos de 631.760 toneladas de soja no Paraná devido a presença da podridão de carvão. A estimativa de produtividade das lavouras amostradas foi de 3590 Kg/ha, e os dados oficiais (DERAL, 2013) para o Estado do Paraná foram de 3348 Kg/ha no mesmo ano.

M. phaseolina pode infectar a cultura a partir de vários estágios de crescimento do hospedeiro e dependendo do estágio da planta em que a infecção se inicia e da severidade da doença, vários componentes da produtividade na cultura da soja podem ser afetados. A partir da associação com sementes (GUPTA et al., 2012) e infecção de plântulas a doença pode afetar o número de plantas por área. Em seguida o número de vagens por planta, número

de grãos por vagem e a massa dos grãos podem ser afetados (AMMON *et al.*, 1974). Neste trabalho o componente de produtividade avaliado foi a massa de mil grãos, que demonstrou significância estatística (Tabela 4.1). Assim, sugere-se que a diminuição da produtividade foi basicamente em função da redução da massa de grãos, como consequência da seca prematura das folhas, diminuindo os assimilados e fotossintetizados para enchimento dos grãos.

O ano 2012/13 foi considerado satisfatório para a cultura da soja em geral. A média de produtividade do Estado do Paraná no ano de 2013 foi de 3.348 Kg/ha (DERAL, 2013). A precipitação pluviométrica no período da cultura, novembro/12 a março/13, somou 706 mm de chuva, próximo ao que é considerado ideal para a cultura da soja no Brasil (840) mm, de acordo com Berlato e Bergamaschi (1979), citado por Almeida *et al.* (2001). Vários autores têm encontrado maior índice de *M. phaseolina* em anos mais secos ou em comparação de situação com e sem irrigação (ALMEIDA *et al.*, 2003; MENGISTU *et al.*, 2011). Isso sugere que em anos menos favoráveis à cultura da soja a incidência / severidade da podridão de carvão seja maior, podendo significar maiores danos proporcionais do que os registrados nesta pesquisa.

Tabela 4.1 Produtividade, massa de mil grãos e danos em lavouras de soja, em função da podridão de carvão. Bandeirantes PR, 2013.

Variáveis	Reboleiras	Fora da reboleira	Total
Produtividade (kg há ⁻¹)	3.343,34 b ²	3.726,35 a	-
MMG ¹ (g)	144,00 b	160,40 b	-
DANOS (%)	10,27	-	3,61

^{1/} Massa de mil grãos; ^{2/} médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student a 5 % de probabilidade.

4.2 ASPECTOS FÍSICOS DO SOLO

Os dados com os parâmetros físicos de solo analisados encontram-se relatados na Tabela 4.2. Como pode ser observado não houve diferença significativa para macro e microporosidade na comparação entre as médias, pelo teste t de Student ($p > 0,05$).

Tabela 4.2. Aspectos físicos do solo, densidade e porosidade, no interior das reboleiras e fora delas.

Tratamentos	Porosidade (%)			Densidade (Mg m ⁻³)
	Macro	Micro	Total	
Reboleiras	14,42 a	28,20 a	42,63 a	1,22 a
Área sadia	11,94 a	26,77 a	38,71 a	1,37 b
CV (%)	53,64	22,73	17,09	15,55

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si estatisticamente ($p < 0,05$).

Entretanto, a porosidade do solo foi maior dentro das reboleiras, fator físico que influi diretamente na densidade do solo. Quanto menor a porosidade maior a densidade, que mostrou-se coerentemente maior, com significância estatística ($p > 0,05$). Ou seja, fora das reboleiras, a porosidade mostrou-se inferior, embora sem diferença estatística, porém com densidade estatisticamente superior.

Esta condição de maior porosidade na reboleira pode favorecer a germinação dos microescleródios. Collins *et al.* (1991) observaram maior germinação de microescleródios em solo arenoso em comparação a solo siltoso e a inibição na germinação de microescleródios de *M. phaseolina* em solos arenosos com tensão de água de 10 kPa. Estes autores atribuem tal inibição à redução no conteúdo de oxigênio do solo. Gangopadhyay *et al.* (1982) verificaram que a germinação de microescleródios de *M. phaseolina* foi reduzida em solos com teor de umidade igual a 5% e densidade variando entre de 1,30 g cm⁻³ e 1,56 g cm⁻³, porém não foi reduzida em densidade de 1,15 g cm⁻³, com mesma condição de umidade ($\Theta = 5\%$). Para umidade mais elevada ($\Theta = 15\%$) os autores descreveram maior germinação de microescleródios, exceto quando o solo foi mais compactado.

Kending *et al.* (2000), estudando a influência da irrigação e déficit hídrico, conduziram experimento em soja observando que a densidade de microescleródios no solo e nas raízes foi intermediário nas parcelas irrigadas até a floração e após a floração. Na comparação descrita por estes autores entre áreas constantemente irrigadas e áreas não irrigadas, demonstrou-se que a umidade possui efeito significativo nos níveis de infecção. É provável que as diferenças de densidade entre as reboleiras e as áreas sadias levem a uma dada combinação de umidade e oxigênio no solo que seja menos favorável às plantas,

levando-as a estresse, favorecendo o patógeno, permitindo a infecção e desenvolvimento da doença.

Déficit hídrico e temperatura do solo têm sido relatados por diversos autores como fundamentos básicos predispondo as plantas à infecção e contribuindo para o aumento da severidade da doença, Almeida t. al., 2001. Em experimentos com irrigação e sem irrigação suplementar combinado com inoculação do patógeno e sem inoculação, condições normais de campo, durante duas estações, Mengistu (2011) observou maior influência do ano agrícola que do tipo de experimento, demonstrando a importância do potencial de água no solo e das temperaturas do ar e do solo. Alemida *et al.*, (2001), embora reconheçam a importância da temperatura do solo, entenderam que o déficit hídrico foi mais determinante que a temperatura para a severidade da doença em ano mais seco.

Estudando o efeito da interação temperatura – tensão de água sobre a germinação de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* substrato de areia, Viana & Souza (2002) concluíram que o efeito isolado da tensão de água só foi importante em situações extremas desse fator, substrato absolutamente seco, tensão infinita de água, e no ponto de saturação, tensão zero de água. Na faixa intermediária a esses extremos, ou seja, do ponto de murcha permanente à capacidade de campo as temperaturas mais eficientes para germinação variaram entre 27 a 36 °C. De acordo com Boaretto & Danelle (2012), na safra de soja 2009/2010 observou-se no sul do Brasil a ocorrência da doença com níveis nunca antes registrados, relacionando a epidemia aos fatores favoráveis, temperatura elevada e umidade abaixo da normal para o ano.

4.3 ASPECTOS QUÍMICOS

Os parâmetros químicos do solo analisados estão registrados na tabela 4.3. Como pode ser observado, nenhum fator apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) entre as situações de presença e ausência da doença.

Uma das formas de mitigar a doença é manter níveis adequados de nutrientes, especialmente fósforo e potássio, que auxiliam no desenvolvimento e resistência das plantas (EMBRAPA, 2013). Também Csondes et al. (2008)

afirmam que o aumento do nitrogênio, fósforo e potássio na adubação são importantes no manejo da podridão de carvão da soja

Tabela 4.3 Características químicas do solo dentro e fora das reboleiras.

Variáveis	Unidades	Reboleira	Área sadia
pH (CaCl ₂)	-	4,84 ns ¹	4,99
MO	g/kg	26,18	24,46
P	mg dm ⁻³	8,01	11,43
K	cmol _c dm ⁻³	0,39	0,44
Ca	cmol _c dm ⁻³	8,01	8,63
Mg	cmol _c dm ⁻³	4,41	5,08
Al	cmol _c dm ⁻³	0,75	0,63
SB	cmol _c dm ⁻³	8,72	8,95
H+Al	cmol _c dm ⁻³	3,50	3,18
CTC	cmol _c dm ⁻³	13,8	14,33
V	%	54,21	56,86
Sat Al	%	18,29	17,63

¹/As variáveis não apresentaram diferença estatística pelo teste de Student a 5% de probabilidade

De acordo com os resultados das análises de solo os nutrientes em geral estavam adequados nas áreas amostradas. O fósforo e o potássio foram detectados em níveis considerados altos, maior que 6,0 mg dm⁻³ e maior que 0,3 cmol dm⁻³, respectivamente, para solos com mais de 40% de argila. A recomendação de adubação de fósforo e potássio em solos oriundos do basalto devidamente adubados para o Estado do Paraná, na cultura da soja sob condições de plantio direto e em sucessão a milho/trigo no outono/inverno, sugere a possibilidade de não adubar com esses nutrientes quando os níveis encontrarem-se acima de 9 mg dm⁻³ e 0,3 cmol dm⁻³, respectivamente (EMBRAPA, 2013).

Também deve ser ressaltado que a presença de um nutriente no solo não significa necessariamente a sua disponibilidade para a planta (ZAMBOLIM et al., 2005), pois isso depende além da quantidade e solubilidade, da capacidade assimilativa da planta e do ambiente como pH, umidade e temperatura. Neste trabalho, foi detectada a presença de *M. phaseolina* em todas

as propriedades amostradas, apesar da quantidade dos principais nutrientes (P, K, Ca e Mg) encontrarem-se em níveis considerados altos. Entretanto, um importante fator condicionador da disponibilidade de nutrientes no solo, no caso o pH, foi encontrado abaixo da faixa ideal (entre 5,5 e 6,5).

De acordo com Malavolta (1980) a disponibilidade de potássio, cálcio, magnésio e principalmente fósforo, são fortemente comprometidos em pH abaixo de 5,5. O fósforo melhora a resistência da planta por aumentar o balanço de nutrientes (ZAMBOLIM et al., 2005). Esses autores relatam ainda estudos em que o fósforo reduziu a exsudação de aminoácidos radiculares, por reduzir a permeabilidade da membrana celular, interferindo nas relações patógeno-hospedeiro. Os exsudatos radiculares constituem-se em estimuladores da germinação dos microescleródios de *M. phaseolina* (BOARETTO e DANELLI, 2012). Ainda de acordo com os mesmos autores a *M. phaseolina* tem o seu ótimo crescimento na faixa de pH entre 3,6 a 5,0.

Outro fator de fertilidade que pode estar impondo limitações à cultura da soja nas áreas pesquisadas, diz respeito a saturação de bases e alumínio, 54,21% a 56,86% e 18,29% a 17,63%, respectivamente. No Estado do Paraná a indicação de saturação de bases para maiores rendimentos na cultura da soja em áreas tradicionais com a oleaginosa é de 70% (EMBRAPA, 2013), com indicação de calagem quando a saturação encontrar-se 10% abaixo da faixa indicada. Portanto, a média dos dados de saturação de bases encontrados neste trabalho indicam a recomendação de calagem. O alumínio no solo foi encontrado com saturação de 18,29% a 17,73% e está acima dos 10% toleráveis, passando a ser prejudicial para a cultura. Assim a calagem poderia implicar no favorecimento de condições ideais para o desenvolvimento da cultura, beneficiando as plantas em detrimento aos patógenos.

De acordo com Zambolim et al. (2005), o efeito da nutrição é marcante em plantas com algum grau de tolerância ou moderada resistência, enquanto plantas com alto grau de resistência ou suscetibilidade, praticamente a nutrição não tem efeito. Para a matéria orgânica do solo foram encontrados valores médios, da ordem de 2,6% a 2,4%, também sem significância estatística entre as áreas doentes e sadias. Taxas da ordem de 3% de matéria orgânica seriam ideais, porém extremamente difíceis de se atingir em área de agricultura intensiva, mesmo sob condição de plantio direto. Quanto mais rico o solo em

matéria orgânica maior a capacidade de suporte para atividades microbianas, melhor estrutura e retenção de umidade, o que poderia implicar em maior supressividade para patógenos de solo (BETIOL e GHINI, 2005).

Nas análises de correlação efetuadas não houveram significância entre os componentes químicos do solo e as manchas da doença. Também não houve interação entre pH e matéria orgânica com a densidade de microescleródios de *M. phaseolina* na faixa de 0 – 10 cm de profundidade de solo, resultado semelhante ao de Wrather et al., (1998) em relação à matéria orgânica.

4.4 QUANTIFICAÇÃO DO INÓCULO NO SOLO

4.4.1 Meio Seletivo

Devido às dificuldades de crescimento de *M. phaseolina* no meio Arroz-Ágar, o trabalho foi repetido sob as mesmas condições de cultivo, porém substituindo-se o meio Arroz-Ágar por BDAA. Com base nesse trabalho os fungicidas captan e diclorana, na concentração de 100 ppm, permitiram o bom crescimento de *M. phaseolina* no meio seletivo. Estes resultados demonstraram a resistência de *M. phaseolina* a estes princípios ativos, sendo que o diclorana demonstrou-se superior ao captan, prestando-se bem à quantificação de microescleródios no solo, conforme pode ser observado na Figura 4.4.

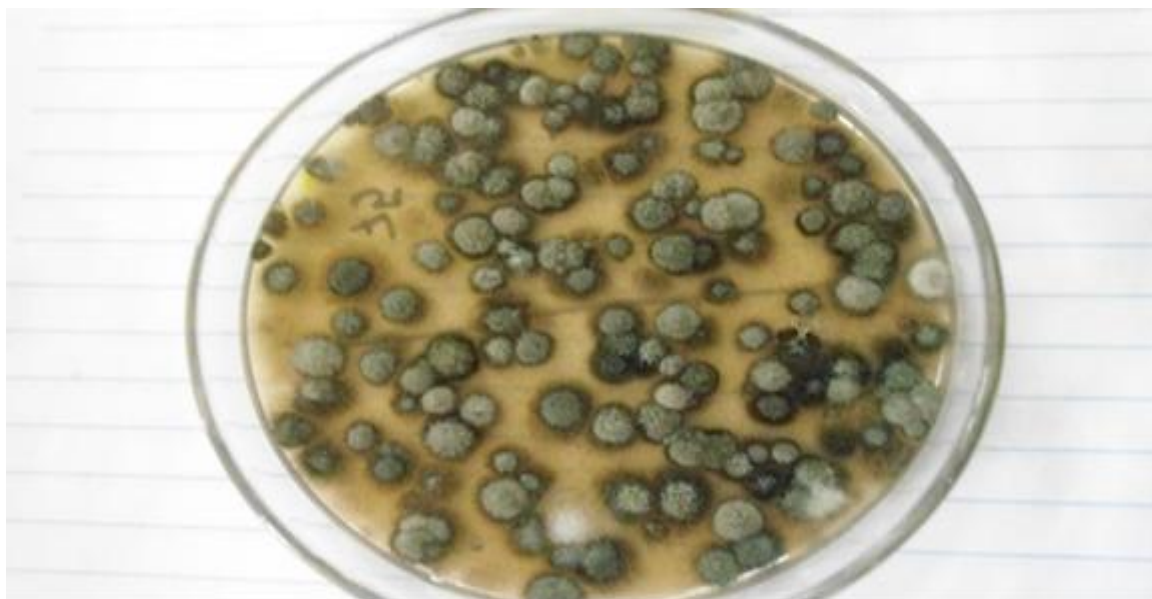


Figura 4.4 Colônias de *Macrophomina phaseolina* em meio seletivo, com o fungicida diclorana, a partir de microescleródios presentes no solo.

4.4.2 Densidade de Microescleródios

Os resultados encontrados para a densidade de inóculo de *M. phaseolina* no solo estão registrados na Tabela 4.4. A quantidade de inóculo no solo, no caso microescleródios, foi muito próxima entre as áreas doentes (reboleiras) comparativamente às áreas saudas, sem qualquer significância estatística. Estes resultados contrariaram a expectativa inicial de que um dos aspectos prováveis para a formação das reboleiras pudesse estar relacionado com uma maior concentração de inóculo, fato esse normalmente relatado como comum no caso das podridões de raízes e colo (BEDENDO, 2011).

Tabela 4.4 Densidade de inóculo – número de microescleródios por grama de solo.

Microescleródios / g solo	
Reboleiras	Área Sadia
65,56 ns ¹	62,54

^{1/} não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Student

Os valores numéricos encontrados neste trabalho são compatíveis com os valores descritos por Michereff et al. (2005), 98,6

escleródios/g de solo. Almeida et al. (2003) encontraram 26,4 e 73,8 microescleródios/g de solo em ano mais seco, 689,9 mm durante a estação da cultura da soja, e ano mais úmido, 846,9 mm, respectivamente, em situação de plantio direto, contra 27,2 e 59,2 em plantio convencional, sem diferença estatística entre os dois sistemas de manejo. No entanto, estes autores registraram maior severidade da doença, medida pela porcentagem de raízes infectadas, para o sistema convencional no ano mais seco, ao passo que no ano mais úmido não encontraram diferença significativa entre os dois sistemas de manejo. Isto demonstra uma importante variação entre anos, em função das condições pluviométricas dentro da estação da cultura da soja, sugerindo que as condições de umidade e estresse hídrico, podem ser mais importantes que a concentração do inóculo no solo.

O número de microescleródios nas áreas amostradas corroboram com esses autores para o ano mais úmido, onde a precipitação foi de 846,9 mm, o que equivale às chuvas registradas na safra 2012/13, 804,9 mm para os meses de outubro a março na região norte do Estado do Paraná. Assim o ano desta pesquisa pode ser considerado úmido, ou pelo menos dentro da normalidade para as exigências da cultura da soja, 840 mm, de acordo com Berlato e Bergamaschi (1979), indicando que os dados registrados para incidência/severidade da doença e conseqüentemente danos na produção poderiam ser ainda maiores caso o ano fosse mais seco.

Wrater et al., (1998) estudando o efeito de diferentes preparos de solo, convencional com aiveca, convencional com arado de disco e semeadura direta, encontraram variações de 61,38 a 99,58 microescleródios por grama de solo na profundidade de 7,5 cm e de 22,99 a 50,92 entre 7,5 e 15 cm de profundidade. Os autores registraram maior efeito da profundidade que o sistema de preparo do solo. Enquanto a semeadura direta apresentou em média 98,58 e 22,99 microescleródios/g solo, respectivamente, nas profundidades de até 7,5 cm e de 7,5 a 15 cm, o arado de disco registrou 78,33 e 31,98 e o de aiveca 61,38 e 50,92 nas respectivas profundidades. Estudos conduzidos na Embrapa soja registraram a presença do fungo desde mata nativa, com 0,42 microescleródios/g de solo, até 15 a 111 microescleródios/g de solo em áreas vizinhas cultivadas com soja e milho há mais de cinco anos (ALMEIDA et al.,2001). A medida que se

cultivam hospedeiros suscetíveis sucessivamente, aumenta a densidade de inóculo no solo (BOARETTO e DANELLI, 2012).

Dhingra e Sinclair (1978) encontraram 80 microescleródios/g de solo no primeiro ano de cultivo de soja, aumentando para 120 na segunda, 149 na terceira e chegando ao quinto ano com 165 por g de solo.

Por se tratar de um patógeno de solo, os sintomas da podridão de carvão se manifestam na forma de manchas na lavoura (reboleiras). O inóculo apresenta-se muito fortemente ligado às partículas de tecidos da planta, sendo lentamente liberados no solo na medida da decomposição dos restos culturais. Isto gera ao patógeno uma dificuldade de disseminação mais uniforme na área, por estar de certa forma preso ao solo. Por isso, maior concentração dos sintomas em determinadas áreas é esperada, gerando a doença em forma de reboleiras, o que tem sido relatado como característica das podridões de raízes e colo das plantas (BEDENDO, 2011; BOARETTO e DANELLI, 2012). No entanto os resultados desta pesquisa para concentração de microescleródios, comparando as áreas de reboleiras e fora delas, não apresentaram diferenças significativas. A severidade de raízes de soja infectadas com *M. phaseolina* está diretamente relacionada à concentração de microescleródios, de acordo com Short et al. (1980). Também Zambolim et al. (1983) verificaram maior infecção de raízes de soja com o aumento da concentração de inóculo.

Trabalhando com um grid 4 x 4, com cada quadrado medindo 0,4 x 0,4 m, em seis locais diferentes, Almeida *et al.* (2001), encontraram uma distribuição irregular dos microescleródios no solo, chamando atenção para manchas claramente com maior concentração, embora nesse estudo não foi avaliada a doença. O estudo contemplou áreas de soja em semeadura direta e convencional, mata nativa e café, e mesmo nestas áreas os autores constataram a presença de microescleródios de *M. phaseolina*, porém em menor quantidade, com média variando entre 0,39 e 0,29 / grama de solo, respectivamente, contra uma variação de 7,89 a 68,52 nas demais áreas.

Trabalhos específicos comparando situações de reboleiras e áreas sadias não foram encontrados. No entanto outros trabalhos não apontam uma relação direta entre concentração de microescleródios e doença. Conforme Wrather et al. (1998), a distribuição agregada na densidade de *M. phaseolina* tem sido observada em alguns campos, mas o grau de agregação decresce com o

decorrer dos cultivos. Os dados dos autores não indicaram agregação dentro das parcelas individualizadas. Eles atribuíram isso provavelmente aos 14 anos de cultivo de soja nessas áreas. A cultura da soja no norte do Estado do Paraná, região em que se realizou esta pesquisa, vem sendo cultivada há mais de 20 anos.

5. CONCLUSÃO

- A presença de *M. phaseolina* foi constatada em todas as lavouras vistoriadas;
- *M. phaseolina* reduziu a produtividade das lavouras em 3,61%, representando 2,2 sacas por ha;
- Os parâmetros físicos e químicos do solo não apresentaram relação com a incidência da doença;
- A concentração do inóculo, pelo número de microescleródios por grama de solo, não foi diferente dentro e fora das reboleiras;
- O meio seletivo BDAA com diclorana permitiu quantificar microescleródios de *M. phaseolina* no solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. M. R.; TORRES, E.; FARIAS, J. R. B.; BENATO, L.C.; PINTO, M.C.; MARIN, S. R. R. **Macrophomina phaseolina em soja: sistema de semeadura, sobrevivência em restos cultura e diversidade genética.** Londrina: Embrapa Soja, 2001. 47 p.

ALMEIDA, A. M. R.; SARAIVA, O. F.; FARIAS, J. R. B.; GAUDÊNCIO, C. A.; TORRES, E. Survival of pathogens on soybean debris under no tillage and conventional tillage systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36: n.10, p.1231-1238, 2001.

ALMEIDA, A. M. R. ABDELNOOR, R.V., ARIAS, C. A. A., CARVALHO, V. P, JACOUD FILHO, D. S., MARIN, S. R. R., BENATO, L. C., PINTO, M. C. e CARVALHO, C.G.P. Genotypic diversity among brazilian isolates of *Macrophomina phaseolina* revealed by RAPD. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, n. 3, p. 279-285, 2003.

AMMON, V.; WYLLIE, T. D.; BROWN, JR. M. F. An ultrastructural investigation of pathological alterations induced by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in **seedlings of soybean, Glycine max (L.) Merrill**, Physiological Plant Pathology. v. 4, p.1-4, 1974.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: Bergamin Filho, A., Kimati, H. & Amorim, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia** v.1. São Paulo. Editora Ceres. 1995. p.647-671.

AIRD, R. E.; WATSON, C. E.; SCRUGGS M. Relative longevity of *Macrophomina phaseolina* and associated mycobiota on residual soybean roots in soil. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 563–566, 2003.

BEDENDO, I. P. **Podridões de Raiz e Colo.** IN: L. AMORIM ; J. A. M. REZENDE; A. BERGAMIN FILHO. (Org.). **Manual de Fitopatologia : Princípios e Conceitos.** IV ed. São Paulo: Ceres, 2011, v. I, p. 443-449.

BENSON, C., H. ZHAI, AND X. WANG. Estimating the hydraulic conductivity of compacted clay liners. **Journal of Geotechnical Engineering**, ASCE 120: p. 366-387. 1994.

BERLATO, M. A.; BERGAMASCHI, H. Water consumption by soybeans: I – Seasonal evapotranspiration of optimal water availability in soil. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1979, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA – CNPSo. p. 53-58, 2011.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 125-152. 2005.

BITANCOURT, A. A. Uma nova doença do feijão. **O Biológico**, v.1, n. 2, p.41, 1935.

BOARETTO, C.; DANELLI, D. L. A. Podridão Cinzenta da Raíz. In: REIS, M. E.; CASA, T. R. **Doenças da Soja**. Passo Fundo; Berthier, p. 281-296, 2012.

BRUEHL, G.W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York. MacMillan. 1987. 368p.

BUENO, J T.; TORRES, J. P.; SAUER, A. V.; AFONSO, M. C.; EUGÊNIO, E. F. Ocorrência de *Macrophomina phaseolina* em soja e quantificação de danos na microregião de Bandeirantes-PR. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 231, 2007.

CHUN, D. & LOCKWOOD, J.L. Reduction of *Pythium ultimum*, *Thielaviopsis basicola*, and *Macrophomina phaseolina* population in soil associated with ammonia generated from urea. **Plant Disease** v. 69, p.154-158. 1985.

LEMOS, RC de; SANTOS, RD dos. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996.

COLLINS, D.J.; WYLLIE, T.D.; ANDERSON, S.H. **Biological activity of M. phaseolina in soil**. *Soil Biol Biochem*, v. 23: 495–496. 1991.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, **Série Histórica de Produção, Safras 1976/77 a 2009/10, Brasília 2010**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/SojaSerieHist.xls>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2013/14, v. 1, n. 8 - Oitavo Levantamento, Brasília, maio 2014.** Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

CSONDES I, BALIKO K, DEGENHARDT A. Effect of different nutrient levels on the resistance of soybean to *Macrophomina phaseolina* infection in field experiments. **Acta Agron Hung**, v. 56, n. 1, p. 357–362, 2008.

DERAL - Departamento de Economia Rural. **Soja – Análise da Conjuntura Agropecuária, nov. 2013.** Disponível em: <www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/.../soja_2013_14.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2014

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina*.** Viçosa: UFV, 1978. 166p.

DUFFY, B.K. e DÉFAGO, G. Zinc improves biocontrol of Fusarium crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. **Phytopathology** v.87, p. 1250-1257. 1997.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos.** 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes/editor técnico,** Fabio César Silva. 2 eds. Rev. Ampliada. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** Brasília, DF: Embrapa - Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 412p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014.** Londrina/PR. Sistema de Produção 16, 2013. 265p

ENGELHARD, A.W. (Ed.) Soilborne Plant Pathogens: **Management of Diseases with Macro-and Microelements.** St Paul. APS Press. 1989.

FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. **Doenças da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA.CNPSo, 1979. 42 p.

FOSTER, R.E. & WALKER, J.C. Predisposition of tomato to *Fusarium* wilt. **Journal of Agricultural Research**, v. 74, p. 165-185. 1947.

GANGOPADHYAY, S.; WYLLIE, T. D.; TEAGUE, W. R. Effect of bulk density and moisture content of soil on the survival of *Macrophomina phaseolina*. **Plant and Soil**, v. 68, n. 1, p. 241-247, 1982.

GUPTA, G. K.; CHAUHAN, G. S. **Symptoms, Identification and Management of Soybean Diseases**. Technical Bulletin 10. Indore, India, National Research Centre for Soybean. 2005.

HENIS, Y. & CHET, I. The effect of nitrogenous amendments on the germinability of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* and on their accompanying microflora. **Phytopathology** v.58, p. 209-211. 1968.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v.160, n. 1, p.167-180, 2012.

HILLOCKS, R.J.; WALLER, J.M. Soilborne diseases and their importance in tropical agriculture. In: Hillocks, R.J.; Waller, J.M. (Eds.) **Soilborne diseases of tropical crops**. Wallingford: CAB International, p. 3-16, 1997.

KAUR, S.; DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; VALLAD, G. E.; CHAND, R.; CHAUHAN, V. B.; Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews in Microbiology**, v.38, p.136-151, 2012.

.KHAN, S. N. **Macrophomina phaseolina como agente causal de podridão de carvão girassol**. Mycopath, v 5, p. 111-118, 2007

KENDIG, S.R.; RUPE, J. C.; SCOTT, H. D. Effect of irrigation and soil water stress on densities of *Macrophomina phaseolina* in soil and roots of two soybean cultivars. **Plant Disease**, v. 84, n.1, p. 895-900, 2000.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A (Ed.). **Manual de fitopatologia**, Piracicaba: Agronômica Ceres, v.1, 4. ed. p. 307-1323, 2011.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Economica, 478 p. 1918.

LEHMAN, P. S.; MACHADO, C. C.; TARRAGO, M. T. Frequência e severidade de Doenças de Soja nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.1, n. 1, p. 183-193.

LEMOS, RC de; SANTOS, RD dos. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996.

LIDDELL, C.M. Abiotic factors and soilborne diseases. In: HILLOCKS, R.J. & WALLER, J.M. (Eds.) **Soilborne Diseases of Tropical Crops**. Wallingford. CAB International. 1997. pp.365-376.

MACHADO, C.C., KIMATI, H. Effect of light on pycnidia formation by *Macrophomina phaseolina* in culture media. **Summa Phytopathologica**, v.1, p. 65-66, 1975.

MAIA, G. L.; SILVA, J. C.; MEYER, M. C. **Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* isolates from soybean**. VII World Soybean Research Conference Documentos 228, EMBRAPA, Brazil, 2004. 83p.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MENGISTU, A.; RAY, J. D.; SMITH, J. R.; PARIS, R. L. Podridão de carvão avaliação de doenças de genótipos de soja, usando uma colônia formando índice unidade. **Cortar Sci**. v. 47, n. 1, p. 2453-2461, 2007.

MENGISTU, A.; SMITH, J.R.; RAY, J.D.; BELLALLOUI, N. Seasonal progress of charcoal rot and its impact on soybean productivity. **Plant Disease**, v. 95: p.1159–1166. 2011.

MICHEREFF FILHO, M., MICHEREFF, S.J., SILVA, E.B., ANDRADE, D.E.G.T., ANTUNES SOBRINHO, S., NORONHA, M.A. & MARIANO, R.L.R. **Influência**

de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. Fitopatologia Brasileira 21: 19-25. 1996

MICHEREFF, S. J.; PERUCH, L. A. M.; ANDRADE, D. E. G. T. Manejo integrado de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Recife: Imprensa Universitária da UFRPE, 2005. p. 367-388.

MIHAIL, J. D.; ALCORN, S. M. Quantitative recovery of *Macrophomina phaseolina* sclerotia from soil. **Plant Disease**, v.66, n. 8, p. 662-663. 1982.

MIHAIL JD. *Macrophomina phaseolina*: spatio-temporal dynamics of inoculum and of disease in a highly susceptible crop. **Phytopathology** 79:848–855. 1989.

MIHAIL, J. D. *Macrophomina* in: **Métodos de Pesquisa em habitantes do solo Fungos fitopatogênicos**. L. S. Singleton, J. D. Mihail e C. M. Rush, eds. American Phytopathological Society, São Paulo, MN. 1992. p. 134-136.

MOO, W. F. Stem canker and charcoal rot. In: Proc Annual Soybean Research Conference 14. Washington, DC, USA, **American Seed Trade Association**, 1984. p 68–72.

MUNDSTOK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja:fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos.** Porto Alegre: Evandraf, 2005. 31 p.

NDIAYE, M. **Ecology and management of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) on cowpea in the Sahel.** 114f. PhD Thesis Wageningen University, the Netherlands, 2007.

PEARSON, C.A., LESLIE, S., SCWENK, F.W. Host preference correlated with chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina*. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, n.9, p.828-831, 1987

PEARSON, C.A., LESLIE, S., SCWENK, F.W. Nitrogen source utilization by chlorate-resistant and chlorate-sensitive isolates of *Macrophomina phaseolina*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.88, p.497-502, 1987.

PEARSON, C. A.; LESLIE, S.; SCWENK, F. W. Variable chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina* from corn, soybean, and soil. **Phytopathology**, v. 76, n. 6, p. 646-649, 1986.

SALUME, J.A.; ROBERTO, C.E.O.; VALENTIM, S.B.; BURAK, D.L.; RUIZ, H.A.; PASSOS, R.R. Planejamento amostral da porosidade do solo em relevo ondulado sob cafeeiro Conilon. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. Florianópolis, 2013. **Resumos expandidos...** Florianópolis: SBCS e EPAGRI, 2013. (disponível em: www.sbc.org.br).

SCHIPPERS, B. Reduced chlamyospore formation and lysis of macroconidia of *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* in nitrogen-amended soil. Netherlands Journal of Plant Pathology v.78, p. 189-197. 1972

SHORT GE, WYLLIE TD, AMMON VD. Quantitative enumeration of *Macrophomina phaseolina* in soybean tissues. **Phytopathology** 68,736–741, 1978.

SHORT. G. E.; WYLLIE. T. D.; BRISTOW. P. R. Survival of *Macrophomina phaseolina* in soil and residue of soybean. **Phytopathology**, v. 70, n. 1, p. 13-17, 1980.

TORRES, J. P.; BUENO, J. T.; AFONSO, M. C.; EUGÊNIO, E. F. T.; SAUER, A. V.; JESUS, F. T. Danos provocados *Macrophomina phaseolina* na cultura da soja. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 231, 2007.

Viana, F. M. P. **Influência de fatores físicos e de material orgânico na germinação de microescleródios de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goindanich**. Botucatu. Universidade Estadual Paulista, 1996. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) Faculdade de Ciências Agrônomicas.

WHEELER, T.; RUSH, C. M.; MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. (Eds.), Soilborne diseases **Encyclopedia of Plant Pathology**, vol. 2Wiley, New York (2001), p. 935–947

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; GAI, J.; PLOPER, D. L.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease**, v. 81, n.1, p. 107-110, 1997.

WRATHER. J. A.; KENDIG. S. R.; TYLER. D. D. Tillage effects on *Macrophomina phaseolina* population density and soybean yield. **Plant Disease**, v. 82, n. 2, p. 247-250, 1998.

WRATHER, J. A.; KOENNING, S. R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003-2005. **Journal of Nematology**, v. 38, n. 1, p.173-180, 2006.

WYLLIE, T.D. Worst soybean disease. **Crop and Soils Magazine** ,v.27, p.10-11. 1974

WYLLIE, T. D. Charcoal rot of soybean current status. *In*: WYLLIE, T.D.; SCOTT, D. H., (Ed.). Soybean diseases of the North Central Region. St. Paul: **American Phytopathological Society**, p.106- 103.1988.

YANG, X. B.; NAVI, S. S. First report of charcoal rot epidemics caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean in Iowa. **Plant Disease**. v. 89, p. 526, 2005.

ZAMBOLIM, L.; SCHENCK, N. C.; MITCHEL, D. J. Inoculum density, pathogenicity, and interactions of soybean root-infecting fungi. **Phytopathology**, v. 73, n. 10, p. 1398-1402, 1983.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. Nutrição mineral e patógenos radiculares in: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária da UFRPE, 2005. p. 367-388.