

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**NÍQUEL E SELÊNIO NO CONTROLE DA FERRUGEM
ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) E SEUS
EFEITOS BIOQUÍMICOS NA CULTURA DA SOJA**

WAGNER DA PAZ ANDRADE

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL**

2023

**NÍQUEL E SELÊNIO NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA
(*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA
CULTURA DA SOJA**

WAGNER DA PAZ ANDRADE

Engenheiro Agrônomo Me.

Orientadora: PROF^a DR^a LILIAN MARIA ARRUDA BACCHI

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A554n Andrade, Wagner Da Paz
NÍQUEL E SELÊNIO NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*
Syd. & P. Syd.) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA CULTURA DA SOJA [recurso eletrônico]
/ Wagner Da Paz Andrade. -- 2023.
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Lilian Maria Arruda Bacchi.
Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Glycine max. 2. Indução de Resistência. 3. Lignina. 4. Sulfato de níquel. I. Bacchi, Lilian
Maria Arruda. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**NÍQUEL E SELÊNIO NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA
(*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA
CULTURA DA SOJA**

Wagner da Paz Andrade

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 04/04/2023

Documento assinado digitalmente
 LILIAN MARIA ARRUDA BACCHI
Data: 16/06/2023 09:58:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Lilian Maria Arruda Bacchi
UFGD

Documento assinado digitalmente
 MARIA DO CARMO VIEIRA
Data: 02/06/2023 18:00:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Maria do Carmo Vieira
UFGD

Documento assinado digitalmente
 WALBER LUIZ GAVASSONI
Data: 02/06/2023 11:19:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Walber Luiz Gavassoni
UFGD

Documento assinado digitalmente
 LUCAS COUTINHO REIS
Data: 31/05/2023 09:59:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof Dr. Lucas Coutinho Reis
UFGD

Documento assinado digitalmente
 PAULO HENRIQUE NASCIMENTO DE SOUZA
Data: 31/05/2023 09:48:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Paulo Henrique Nascimento de Souza
Fundação - MT

AGRADECIMENTOS

Ao programa de pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD por toda infraestrutura e apoio para realização desta pesquisa. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

À UFGD e à equipe do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da instituição, pela oportunidade de desenvolver este estudo e pelo apoio fornecido.

À professora Lilian Maria Arruda Bacchi, pela orientação, amizade, dedicação, companheirismo e compreensão nos momentos de adversidades.

Ao professor Walber Luiz Gavassoni, professora Andréa Maria de Araújo Gabriel, a professora Maria do Carmo Vieira e a todos os professores da UFGD que contribuíram, diretamente ou indiretamente com meu trabalho.

Aos amigos que contribuíram na implantação e condução dos ensaios: Paulo Henrique Nascimento de Souza e Marcio Santos da Silva.

A todos os amigos que fiz durante o curso do doutorado, principalmente os que tiveram uma maior convivência comigo, Denise Prevedel, Felipe Cardoso e Valéria Surubi.

A minha família, meu pai Cicero Ramão de Andrade e a minha tia Maria Gonçalves de Andrade, por tudo.

A minha amada esposa Janaina Tayna Silva, por tudo!

Aos amigos que me apoiaram e incentivaram a fazer pós-graduação.

Agradeço.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	XII
ABSTRACT	IX
INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERENCIAS	16
CAPÍTULO 1	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4. CONCLUSÃO	51
5. REFERÊNCIAS	52
CAPÍTULO II	60
RESUMO	60
ABSTRACT	61
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4. CONCLUSÃO	91
5. REFERÊNCIAS	92

**NÍQUEL E SELÊNIO NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA
(*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA
CULTURA DA SOJA**

RESUMO GERAL: Os micronutrientes podem ser usados como uma nova tecnologia no manejo contra a ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) na soja, uma vez que os nutrientes minerais estão diretamente envolvidos na ativação dos mecanismos de defesa, como ativadores enzimáticos, inibidores e reguladores do metabolismo. Neste contexto o objetivo, com esse trabalho, foi avaliar o efeito do níquel e do selênio sem e com associação com fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir), no controle do fungo *P. pachyrhizi* e seus efeitos nos componentes agrônômicos, bioquímicos e produtividade na cultura da soja. Foram realizados dois ensaios, conduzidos simultaneamente de 14 de outubro de 2020 a 28 de fevereiro de 2021, na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)-Dourados-MS. No ensaio um, utilizou-se a cultivar sw Briza RR e as unidades experimentais foram compostas por seis linhas de semeadura de soja (nos dois ensaios). Para as avaliações, foram consideradas as duas linhas centrais. Os ensaios foram conduzidos em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2 totalizando 12 tratamentos. No primeiro ensaio, os tratamentos foram: com níquel (Ni) e o Ni associado ao fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir), sendo as concentrações de Ni (0; 20; 40; 60; 80 e 100 g ha⁻¹) utilizando sulfato de níquel (NiSO₄(H₂O)₆), e com a concentração de 200 g ha⁻¹ de fungicida comercial, aplicados durante estágio fenológico R1 da soja. No segundo ensaio, a cultivar utilizada foi a Monsoy 6410 IPRO, e os tratamentos foram: selênio (Se), e o Se associado ao fungicida, nas concentrações (0; 10; 20; 30; 40 e 50 g ha⁻¹) utilizando selenito de sódio (Na₂SeO₃) e associado ou não ao fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir), em dose e época especificados no experimento com Ni. Foram avaliados em ambos experimentos: índice de clorofila (SPAD), severidade (SEV), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), componentes agrônômicos e produtividade da soja, catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), lignina (LIG), celulose (CEL) e hemicelulose (HEM) e nitrogênio foliar (N). A aplicação do Ni, reduziu a SEV e a AACPD. A 1000G, PROD, GL, AP e Índice SPAD - 1 e 2, não apresentaram diferenças entre os tratamentos Ni, e o Ni associado com o fungicida, não houve efeito significativo nos fatores, dose, interação entre dose e tratamento e bloco. O Ni associado com o fungicida reduziu a severidade em 43,39% em comparação ao Ni, e apresentaram índices menores da AACPD e menor severidade comparados com o Ni. O Ni e Ni associado ao fungicida, estimularam a produção de componentes estruturais na parede celular, como celulose, hemicelulose e lignina. Houve interação significativa entre os fatores, dose e tratamento, tanto para Ni quanto para Ni associado ao fungicida para o teor de nitrogênio nos trifólios de soja. As enzimas CAT, POD, SOD, PROT, apresentaram um ajuste quadrático no tratamento Ni e Ni combinado com o fungicida, indicando um aumento na atividade até a concentração próxima a 40 g de Ni ha⁻¹, com aumento das concentrações maiores houve uma diminuição subsequente da enzima e da PROT, nos tratamentos testados. Para a massa de 1000G, não apresentou diferenças significativas do Se, e do Se associado com fungicida. Para a variável AP, com o aumento da dose de Se e do Se associado com o fungicida, houve um efeito linear negativo, apresentando menor altura de planta na dose de 50 g ha⁻¹. O mesmo foi observado no SPAD-1. Os tratamentos de Se, e Se associado ao fungicida levaram a um aumento nos teores de CEL e HEM, respondendo com ajuste linear aos tratamentos. As enzimas CAT, POD, SOD e a PROT, apresentaram ajuste

quadráticos para o tratamento de se e o selênio combinado com o fungicida, indicando um aumento até o ponto máximo, seguido de uma queda nas atividades enzimáticas e na proteína total nos trifólios de soja, podendo ser causada pelo efeito de toxidez do Se.

Palavras-chave: *Glycine max*, indução de resistência, lignina, sulfato de níquel.

NICKEL AND SELENIUM IN THE CONTROL OF ASIAN RUST (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) AND ITS BIOCHEMICAL EFFECTS ON SOYBEAN CULTURE

ABSTRACT: Micronutrients can be used as a new technology in the management of Asian rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans, since mineral nutrients are directly involved in the activation of defense mechanisms, such as enzymatic activators, inhibitors and metabolism regulators. In this context, the objective of this work was to evaluate the effect of nickel and selenium with and without association with a fungicide (azoxystrobin + benzovindiflupir) in the control of the fungus *P. pachyrhizi* and its effects on the agronomic and biochemical components and productivity in the culture of soy. Two tests were carried out, conducted simultaneously from October 14, 2020 to February 28, 2021, at the Experimental Farm of the Faculty of Agricultural Sciences (FAECA) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD) - Dourados-MS. In trial one, the cultivar sw Briza RR was used and the experimental units were composed of six soybean sowing lines (in both trials). For the evaluations, the two central lines were considered. The tests were conducted in a randomized block design, in a 6x2 factorial scheme, totaling 12 treatments. In the first trial, the treatments were: with nickel (Ni) and Ni associated with the fungicide (azoxystrobin + benzovindiflupir), with Ni concentrations (0; 20; 40; 60; 80 and 100 g ha⁻¹) using nickel (NiSO₄(H₂O)₆), and with a concentration of 200 g ha⁻¹ of commercial fungicide, applied during the soybean phenological stage R1. In the second trial, the cultivar used was Monsoy 6410 IPRO, and the treatments were: selenium (Se), and Se associated with the fungicide, at concentrations (0; 10; 20; 30; 40 and 50 g ha⁻¹) using sodium selenite (Na₂SeO₃) and associated or not with the fungicide (azoxystrobin + benzovindiflupir), in dose and time specified in the experiment with Ni. The following were evaluated in both experiments: chlorophyll index (SPAD), severity (SEV), area under the disease progress curve (AUDPC), agronomic components and soybean yield, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), lignin (LIG), cellulose (CEL) and hemicellulose (HEM) and leaf nitrogen (N). Ni application reduced SEV and AUDPC. At 1000G, PROD, GL, AP and SPAD Index - 1 and 2, there were no differences between Ni treatments, and Ni associated with the fungicide, there was no significant effect on the factors, dose, interaction between dose and treatment and block. Ni associated with the fungicide reduced severity by 43.39% compared to Ni, and showed lower AUDPC indices and lower severity compared to Ni. Ni and Ni associated with the fungicide stimulated the production of structural components in the cell wall, such as cellulose, hemicellulose and lignin. There was a significant interaction between the factors, dose and treatment, both for Ni and for Ni associated with the fungicide for the nitrogen content in soybean trefoils. The CAT, POD, SOD, PROT enzymes showed a quadratic fit in the Ni and Ni treatment combined with the fungicide, indicating an increase in activity up to a concentration close to 40 g of Ni ha⁻¹, with an increase in higher concentrations there was a decrease subsequent enzyme and PROT in the tested treatments. For the mass of 1000G, there were no significant differences in Se, and in Se associated with fungicide. For the variable AP, with the increase in the dose of Se and Se associated with the fungicide, there was a negative linear effect, with lower plant height at the dose of 50 g ha⁻¹. The same was observed in SPAD-1. The treatments of Se, and Se associated with the fungicide led to an increase in the CEL and HEM contents, responding with a linear adjustment to the treatments. The CAT, POD, SOD and PROT

enzymes showed quadratic adjustment for the treatment of se and selenium combined with the fungicide, indicating an increase to the maximum point, followed by a decrease in enzymatic activities and total protein in soybean trefoils, which may be caused by the toxic effect of Se.

Keywords: *Glycine max*, resistance inducer, lignin, nickel sulfate.

INTRODUÇÃO GERAL

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é considerada uma das principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo (RIBEIRO et al., 2019; PEREIRA et al., 2021). O Brasil possui a maior área plantada de soja no mundo. Na safra 2021/2022 a área cultivada no país correspondeu a 41, 4 milhões de hectares, com uma produção total de 125.549,8 milhões de toneladas, sendo destinada ao consumo externo e ao consumo interno (CONAB, 2022).

Devido a expansão do cultivo em monocultura, a soja ficou sujeita a maior desenvolvimento de doenças, podendo limitar a obtenção de alta produção. Entretanto o desenvolvimento dessas doenças depende de fatores climáticos, genéticos e do patógeno (RIBEIRO et al., 2019).

Dentre as doenças que atacam a soja, a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) é vista como a principal doença que acomete a cultura. Considerada uma doença com rápida disseminação e expansão, causando a desfolha das plantas em poucos dias, quando as condições são favoráveis ao desenvolvimento do fungo (RIBEIRO et al., 2019; MEIRA et al., 2020). É uma doença considerada agressiva, podendo levar a perda de rendimentos de até 90% das lavouras (MEIRA et al., 2020).

Phakopsora pachyrhizi se dissemina pelo vento, podendo percorrer longas distâncias, o que aumenta seu potencial de infestação, causando danos a soja, podendo ocorrer em praticamente todas as regiões produtoras de soja do país (SILVA et al., 2020). O fungo, ao encontrar condições satisfatórias, penetra os estômatos das folhas encontrados em maior quantidade na superfície abaxial, produzindo urédias, que são compostas por um aglomerado de hifas fúngicas, formando pequenas protuberâncias de cor amarelo-laranja, nas folhas infectadas, que podem ser vistas ao alho nu. As hifas do fungo, se ramificam pela folha, formando um complexo sistema que suporta a produção e liberação dos esporos. Quando ocorre o rompimento das urédia, os uredósporos são liberados no ambiente, prontos para iniciar novas infecções em plantas saudáveis (SINCLAIR, 1989).

A ferrugem asiática (FAS) pode ocorrer em qualquer estágio de crescimento fisiológico da soja, mas ocorre preferencialmente depois do fechamento do dossel da planta, isso porque proporciona condições adequadas para o desenvolvimento do fungo, como alta umidade, de 75 a 85%, e temperatura adequada na faixa de 18 a 26° C (SIKORA

et al., 2014). Sob condições favoráveis, o fungo completa seu ciclo biológico em 28 dias, produzindo urédias (estruturas de reprodução) (ALVES e JULIATTI, 2018).

O controle da ferrugem asiática no Brasil é realizado por meio de abordagens que integram técnicas estratégicas e práticas, conhecidas como o Manejo Integrado de Doenças -MID. O MID, combina métodos de boas práticas agrícolas, utilização de variedades resistentes, rotação de culturas, eliminação de plantas voluntárias na entre-safra, e controle de agentes fitopatológicos, insetos, que podem afetar a disseminação da doença (VENTURA, 2016). O MID é eficaz quando a doença ainda não se instalou na lavoura, evitando a entrada do fungo, entretanto, quando o fungo já está instalado, o principal método é o uso de fungicida (SILVA et al., 2020).

A capacidade do fungo de se adaptar aos fungicidas utilizados está aumentando o que dificulta o controle da FAS, sendo necessário, a combinação de duas formulações ou aumento no número de aplicações (SILVA et al., 2020). Portanto, estudos recentes têm investigado a eficácia de misturas de triazóis, estrobilurinas e fungicidas multissítios, como o mancozebe, no controle da FAS e na melhoria da produtividade da cultura. Essa abordagem pode ser uma estratégia eficaz para evitar a resistência dos fungos ou a perda de sensibilidade dos fungicidas (HORTA e ALBUQUERQUE, 2015; JULIATTI et al., 2014).

A crescente preocupação com o meio ambiente, favorece o desenvolvimento e pesquisas por um sistema de produção sustentável, com redução do emprego de produtos químicos, seja de forma integrada com outras medidas de controle ou melhoramento genético, voltado a resistência ao patógeno. Nesse cenário, pesquisas voltadas a indução de resistência foram e vem sendo desenvolvidas nas últimas décadas (MEENA et al., 2020).

A indução de resistência ativa os mecanismos latentes das plantas, através de elicitores, compostos químicos produzidos pela planta ou pelo patógeno, que induzem uma resposta de defesa, de modo que a planta tenha a capacidade de defesa contra o patógeno. A resistência das plantas contra patógenos ocorre de forma natural, sendo uma característica intrínseca de algumas variedades de plantas (MEIRA et al., 2020).

A resposta e ativação dos mecanismos de defesa das plantas se inicia pelo reconhecimento do patógeno. Dentre os diversos mecanismos, destacam se as barreiras físicas e químicas no tecido foliar, também chamadas de pré-infeccionais, sendo ativadas por diversos mecanismos como por reconhecimento de padrões moleculares, produção de fitoalexinas, enquanto outros (enzimas antioxidantes: peroxidase, catalase e superóxido

dismutase) são ativados após o ataque do patógeno (DALLAGNOL e ARAÚJO FILHO, 2018). Nesse caso o elicitor não atuara diretamente sobre o patógeno, mas induzirá a produção de compostos antimicrobianos, que atuam em resposta no processo infeccioso dos patógenos (NAZIYA et al., 2019).

O uso de micronutrientes, na indução de resistência das plantas, tem entre outros objetivos, atrasar ou evitar a entrada de patógenos nas plantas e uma possível atividade infecciosa em seus tecidos (BEM et al., 2019). Alguns micronutrientes vêm se destacando, entre os principais podemos destacar o níquel e o selênio, devido seus efeitos sobre as enzimas oxidativas e sobre a imunidade das plantas (EINHARDT et al., 2022; DJANAGUIRAMAN et al., 2005).

O níquel (Ni) e o selênio (Se) são micronutrientes importantes para o crescimento, desenvolvimento e sanidade da soja, sendo necessários para a produção de proteínas, enzimas e outras moléculas envolvidas em processos biológicos importantes de desenvolvimento das plantas (EINHARDT et al., 2022; DJANAGUIRAMAN et al., 2005).

A suplementação de Ni em plantas de soja pode ter vários efeitos positivos, incluindo a melhoria da absorção de nutrientes. O Ni é necessário para a atividade de enzimas, como a urease e fosfatase, importante no ciclo do nitrogênio e do fósforo; crescimento adequado, sendo necessário para a síntese de proteínas e enzimas, importantes para o desenvolvimento da planta, atuando diretamente na produção de clorofila e na fotossíntese (LEVY et al., 2019).

Além disso, o Ni pode desempenhar um papel de elicitor na indução da resistência da planta ao ataque de patógenos, fazendo com que ocorram alterações bioquímicas, reduzindo a severidade da doença (SOBRAL e SILVA, 2021). O Ni pode atuar como um agente indutor de resistência, ajudando a proteger a planta de soja contra patógenos, induzindo a síntese de compostos de defesa e ativação de resistência da planta (FERREIRA et al., 2022).

A presença de Ni na planta pode aumentar a expressão de genes relacionados à defesa e estimular a produção de compostos antimicrobianos, como os fenólicos. Além disso, o níquel pode atuar como um regulador positivo da resposta de resistência da planta, aumentando a capacidade da planta de detectar e responder a ameaças patogênicas (DOUSSEAU et al., 2016).

A forma mais eficiente de aplicação do níquel, na indução de resistência a patógenos, é por meio da foliar, causando resposta rápida contra os patógenos e atuando de

forma mais rápida nas mudanças bioquímicas, que gera maior resistência contra ataques de patógenos (MISHRA e KAR, 1974; GERENDAS et al., 1999).

A pulverização foliar do Ni e Se torna esses micronutrientes mais prontamente disponível para a planta. O níquel e o selênio aplicados diretamente sobre a superfície foliar são rapidamente incorporados pelas células da planta, aumentando a disponibilidade do nutriente e promovendo um maior potencial de defesa contra patógenos. Além disso, a pulverização foliar quando feita de forma adequada tem-se um controle da concentração de níquel aplicada, o que é importante para evitar o excesso de nutriente e suas possíveis consequências negativas na planta (MISHRA e KAR, 1974; GERENDAS et al., 1999).

Einhardt et al. (2020), avaliando o efeito da aplicação foliar do Ni, sobre a ferrugem asiática, encontraram um aumento no teor de níquel nas folhas, afetando negativamente a colonização das hifas fúngicas, reduzindo em 35% na severidade da doença, em comparação as plantas que não receberam aplicação foliar de níquel, além de aumentar o teor de lignina nas folhas, sendo essa variável importante na defesa das folhas.

O Se atua diretamente na sanidade e no crescimento da soja, atuando em diferentes funções como, emento químico essencial, co-fator de enzimas importantes, como a glutationala peroxidase, que ajudam a proteger as plantas contra o estresse oxidativo, melhorando a imunidade das plantas contra patógenos e aumentando a resistência às doenças (CHAUHAN et al., 2017; GOLOB et al., 2017).

O Se atua na soja de forma semelhante ao enxofre, compartilhando vias metabólicas comuns, e fazendo parte de aminoácidos sulfurados como selenometionina e selenocisteína. e atuando como antioxidante natural nas plantas, reduzindo os radicais livres do oxigênio (MARTINEZ et al., 2009).

Estudos mostram que, como o Ni, a melhor forma de aplicação do Se é por pulverização foliar, pois quando aplicado no solo os microrganismos o reduzem em formas menos disponíveis para as plantas, podendo levar a contaminação de água ou do próprio solo, além desse elemento possuir uma taxa de recuperação baixa (apenas 14%) (HAUG et al., 2007; LYONS, 2010).

Yang et al. (2003), avaliando o efeito do selênio na forma de selenito de sódio, com duas formas de aplicação (solo e foliar), na cultura da soja em regiões diferentes da China, verificaram que a aplicação foliar foi mais eficiente, com incremento de Se nos grãos de 1,211 $\mu\text{g. g}^{-1}$ até 1,126, enquanto por aplicação via solo foi de 0,191 para 0,028 $\mu\text{g. g}^{-1}$.

As plantas podem ser classificadas como acumuladoras e não acumuladoras de Se. Plantas acumuladoras, quando jovens, durante a fase vegetativa, acumulam nas folhas, enquanto na fase reprodutiva são encontradas grandes quantidades de Se nas sementes. Nas plantas não acumuladoras, como a soja, mesmo nas fases reprodutivas (produção de legumes), grandes quantidades de selênio são encontradas nas raízes e nos grãos enquanto no caule e nas folhas são encontrados menores teores (MARTINEZ et al., 2009).

O Ni é um elemento químico, encontrado em grande quantidade em rochas ígneas como um metal livre ou como complexo com o ferro (FORSAN et al., 2021). O solo é a maior fonte de Ni para as plantas, e como nos outros metais pesados. O Ni é absorvido pelas plantas na forma de Ni^{2+} e em grandes quantidades pode ser considerado tóxicos para as plantas (CAMPANHARO et al., 2013), e organismos do solo, causando também acidificação, devido a liberação de íons H^+ provenientes de sua com a água (SOBRAL e SILVA, 2021).

O Se é um elemento químico encontrado nos solos na forma de selenito (SeO_3^{-2}), seleneto (Se^{-2}), selenato (SeO_4^{-2}), sendo o último a forma mais solúvel e disponível. Em altas concentrações pode ser tóxico para as plantas e para a microbiota do solo, levando a alterações inadequadas a ciclagem de nutrientes, além de contaminar lenções freáticos, causando danos ao meio ambiente (SEIXAS e KEHRIG, 2007).

Com o aumento da preocupação com a preservação do meio ambiente e com o aumento da produção de soja nacional e internacional, há uma busca por alternativas que reduzam o efeito de doenças sobre o seu rendimento, sem prejudicar o meio ambiente, e reduzindo o risco de contaminação por produtos químicos do solo e dos leitos de água (CHAUHAN et al., 2017).

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do níquel e do selênio, sem e com associação com fungicida, azoxistrobina + benzovindiflupir, no controle do fungo *P. pachyrhizi* e seus efeitos nos componentes agronômicos, bioquímicos e produtividade na cultura da soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, V. M.; JULIATTI, F. C. Fungicidas no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 245-25, 2018.
- BEM, L. D.; FERRARI, J. L.; DARIO, G.; TRIBONI, Y. D. B.; RAETANO, C. G. Physiological potential and initial development of soybean plants as a function of seed treatment. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, n. 1, p. 1-6, 2019.
- CAMPANHARO, M., MONNERAT, P. H., ESPINDULA, M. C., RABELLO, W. D. S. Doses de níquel em feijão caupi cultivado em dois solos. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, p. 10-18. 2013.
- CHAUHAN, R.; AWASTHI, S.; TRIPATHI, P.; MISHRA, S.; DWIVEDI, S.; NIRANJAN, A.; MALLICK, S.; TRIPATHI, P.; PANDE, V.; TRIPATHI, R. D. Selenite modulates the level of phenolics and nutrient element to alleviate the toxicity of arsenite in rice (*Oryza sativa* L.) **Ecotoxicology and environmental safety** v.138, n.1 p. 47-55, 2017.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento safra de grãos, safra 2021/2022**. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras> >. Acesso em: 16 de dezembro, de 2022.
- DALLAGNOL, L. J.; ARAUJO FILHO, J. V. Uma visão geral da resistência de plantas a microrganismos. **In:** Leandro José Dallagnol. (org.). Resistência genética de plantas a patógenos. Pelotas, RS: Editora UFPel, 2018, p. 13-64
- DJANAGUIRAMAN, M.; DEVI, D. D.; SHANKER, A. K.; SHEEBA, J. A.; BANGARUSAMY, U. Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, v. 272, p. 77-86, 2005.
- DOUSSEAU, G.; BLIGNY, R.; SANCHEZ-MORENO, S. Nickel and other metal ions as elicitors of plant metabolic responses. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.1, p. 174-195, 2016.
- EINHARDT, A. M.; FERREIRA, S.; HAWERROTH, C.; VALADARES, S. V.; RODRIGUES, F. Á. Nickel potentiates soybean resistance against infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 849-859, 2020.
- EINHARDT, A. M.; OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, S.; ARAÚJO, W. L.; MEDEIROS, D. B.; FERNIE, A. R.; RODRIGUES, F. Á. Defense responses and oxidative metabolism of glyphosate-resistant soybean plants infected by *Phakopsora pachyrhizi* modulated by glyphosate and nickel. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 118, p. 101817, 2022.
- FERREIRA, L. L.; CARVALHO, I. R.; AMARAL, D. T. T.; FERNANDES, M. S.; PRADO, R. L. F.; CARRIJO, N. S.; LORO, M. V. Nutritional management in soybean crop

for high yields using organomineral fertilizers. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.8, n. 1, p. 1-15, 2022.

FORSAN, B. N.; MAZZEU, L. D.; NOGUEIRA, J. P.; HENRIQUE, J. P. Germinação e desempenho de plântulas de soja tratadas com cobalto, molibdênio, níquel e bioestimulante. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 37, n. 72, p. 41-50, 2021.

GERENDAS, J.; POLACCO, J. C.; FREYERMUTH, S. K.; SATTELMACHER, B. Significance of nickel for plant growth and metabolism. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 162, n. 3, p. 241 - 256, 1999.

GOLOB, A.; KAVCIC, J.; STIBILJ, V.; GABERSCIK, A.; VOGEL-MIKUS, K.; GERM, M. The effect of selenium and UV radiation on leaf traits and biomass production in *Triticum aestivum* L. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 136, n. 1, p. 142-149. 2017.

HAUG, A.; GRAHAM, R. D.; CHRISTOPHERSEN, O. A.; LYONS, G. H. How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 19, n. 4, p. 209-228, 2007.

HORTA, A.; ALBUQUERQUE, L. Um novo fungicida protetor, com ação multissítio, é apontado por pesquisadores como alternativa para reduzir o problema de resistência de fungos. **Notícias agrícolas**, março de 2015. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/videos/soja/153443-o-problema-da-resistencia-dos-produtos-no-controle-de-doencas-em-culturas-como-soja-milho-e-algodao.html>. Acesso em: 15 mar. 2023.

JULIATTI, F.C.; BELOTTI, I.F.; JULIATTI, B.C.M. **Mancozeb associado a triazóis e estrobilurinas no manejo da ferrugem da soja**. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 34, Resumos. Londrina: Embrapa, 2014. 292p.

LEVY, C. D.C. B.; MELLIS, E.V.; MURRER, M. K.; INGLÉS, C. R.; DAYNES, C. N.; CAVALLI, E.; CHIBA, M. K. Effects of nickel fertilization on soybean growth in tropical soils. **Bragantia**, v.78, n. 3, p. 432-443, 2019.

LYONS, G. Selenium in cereals: improving the efficiency of agronomic biofortification in the UK. **Plant and Soil**, v. 332, p. 1-4, 2010.

MARTINEZ, R. A. S.; REZENDE, P. M. D.; ALVARENGA, A. A. D.; ANDRADE, M. J. B. D.; PASSOS, A. M. A. D. Doses and forms of selenium application on the culture of soybean. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 698-704, 2009.

MEENA, M.; SWAPNIL, P.; DIVYANSHU, K.; KUMAR, S.; TRIPATHI, Y. N.; ZEHRA, A.; UPADHYAY, R. S. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: current perspectives. **Journal of Basic Microbiology**, v. 60, n.10, p.828-861, 2020.

MEIRA, D.; WOYANN, L. G.; BOZI, A. H.; MILIOLI, A. S.; BECHE, E.; PANHO, M. C.; BENIN, G. Asian soybean rust: a scientometric approach of *Phakopsora pachyrhizi* studies. **Euphytica**, v. 216, n.1, p. 1-12, 2020.

MISHRA, D.; KAR, M. Nickel in plant growth and metabolism. **Botanical Review**. v. 40, n. 4, p. 395 - 452, 1974.

NAZIYA, B.; MURALI, M.; AMRUTHESH, K. N. Plant growth-promoting fungi (PGPF) instigate plant growth and induce disease resistance in *Capsicum annuum* L. upon infection with *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler & Bisby. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 41, 2019.

PEREIRA, R. M.; DA SILVA, H. B. R.; DE OLIVEIRA, H. M. S.; RIBEIRO, D. O.; TOMÁZ, R. G.; SILVA, G. P.; DA SILVA, A. J. Comparação de cultivares de soja no Sudoeste Goiano em resposta à aplicação de diferentes doses de cloreto de potássio. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4132-4144, 2021.

RIBEIRO, L. A. E.; JÚNIOR, D. P. M.; DE SÁ, D. D. D.; DE ARAÚJO, F. P.; DE SOUZA, J. E. B. Viabilidade econômica do uso de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Ipê Agronomic Journal**, v. 3, n. 2, p. 35-43, 2019.

SEIXAS, T. G.; DO A KEHRIG, H. O selênio no meio ambiente. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 264-276, 2007.

SIKORA, E. J.; ALLEN, T. W.; WISE, K. A.; BERGSTROM, G.; BRADLEY, C. A.; BOND, J.; ZIDEK, J. A coordinated effort to manage soybean rust in North America: A success story in soybean disease monitoring. **Plant Disease**, v. 98, n. 7, p. 864-875, 2014.

SILVA, C.; SILVA, C.; MARQUES, F.; FINOTT, C. Controle químico da ferrugem asiática da soja em diferentes sistemas de aplicações. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 32, 2020.

SINCLAIR, J. B. Threats to soybean production in the tropics: red leaf blotch and leaf rust. **Plant disease**, v. 73, n. 7, p. 604 - 606, 1989.

SOBRAL, M. C.; de A.; SILVA, W. F. Níquel na Agricultura: uma revisão de literatura. **Revista Agroveterinária, Negócios e Tecnologias**, v. 6, n.2, p. 50-59, 2021.

VENTURA, J. A. **Táticas de controle no manejo integrado de doenças**. 2016. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/2318/1/BRTtaticasdecontroleno manejointegradodedoenças.pdf>. Acesso em: Acesso em 31 mar. 2023.

YANG, F.; CHEN, L.; HU, Q.; PAN, G. Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. **Biological Trace Element Research**, v. 93, p. 249-256, 2003.

CAPÍTULO I

NÍQUEL E SUA ASSOCIAÇÃO AO FUNGICIDA (AZOXISTROBINA + BENZOVINDIFLUPIR) NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA CULTURA DA SOJA

RESUMO: O efeito do níquel (Ni) na cultura da soja, como indutor de resistência à *Phakopsora pachyrhizi*, em condições de campo, necessita ser investigado. O objetivo desse estudo foi verificar o efeito do Ni, e do Ni com associação com fungicida azoxistrobina + benzovindiflupir no controle do fungo *P. pachyrhizi* e seus efeitos bioquímicos, em componentes agronômicos e produtividade na cultura da soja. O ensaio foi conduzido na safra 2020/21, na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, no município de Dourados-MS. O ensaio foi conduzido em DBC- delineamento de blocos ao acaso, em arranjo fatorial 6x2, sem e com associação com fungicida e seis concentrações de Ni (0; 20; 40; 60; 80 e 100 g ha⁻¹) utilizando sulfato de níquel (NiSO₄(H₂O)₆), com quatro repetições. As aplicações ocorreram no estágio fenológico R1. A área foliar lesionada (SEV) foi avaliada semanalmente e posteriormente calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Em adição avaliou-se: Massa de mil grãos (1000G), produtividade (PROD), nitrogênio de trifólios de soja (N), altura de plantas (AP), grãos por legumes (GL), índice SPAD - 1 e 2, celulose de trifólios de soja (CEL), hemicelulose de trifólios de soja (HEM), Lignina de trifólios de soja (LIG), catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido Dismutase (SOD) e proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). A aplicação foliar de Ni com fungicida resultou em uma redução de 43, 39% na severidade da doença e reduziu a AACPD nas plantas de soja. A 1000G, PROD, GL, AP e índice SPAD - 1 e 2, não apresentaram diferenças entre os tratamentos Ni, e o Ni associado com o fungicida, não houve efeito significativo nos fatores, dose, interação entre dose e tratamento e bloco. O Ni associado com o fungicida controlou a severidade e as plantas apresentaram índices menores da AACPD e severidade comparados com aqueles que não receberam Ni. O Ni e Ni associado ao fungicida, estimularam a produção de componentes estruturais na parede celular, como celulose, hemicelulose e lignina. Houve interação significativa entre os fatores, dose e tratamento, tanto para Ni quanto para Ni associado ao fungicida para o teor de nitrogênio nos trifólios de soja. As enzimas CAT, POD, SOD, PROT, apresentaram um ajuste quadrático no tratamento Ni e Ni combinado com o fungicida, indicando um aumento na atividade até a concentração próxima a 40 g de Ni ha⁻¹. Com aumento das concentrações houve uma diminuição subsequente da enzima e da PROT, nos tratamentos testados. A aplicação de Ni foliar na concentração de 60 g ha⁻¹ resultou em menor área foliar lesionada pela ferrugem asiática da soja e menor AACPD em soja. A concentração de 60 g ha⁻¹ proporcionou ainda as atividades máximas das enzimas CAT, SOD, POD e da PROT. Essas enzimas são reguladas pelo Ni e tem um importante papel fisiológico na redução da severidade da ferrugem na soja.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças da soja, lignina, sulfato de níquel, indução de resistência.

NICKEL AND ITS ASSOCIATION WITH FUNGICIDE (AZOXYSTROBIN + BENZOVINDIFLUPYR) IN THE CONTROL OF ASIAN RUST (*Phakopsora pachyrhizi*) AND ITS BIOCHEMICAL EFFECTS ON SOYBEAN CULTIVATION

ABSTRACT: The effect of nickel (Ni) in the soybean crop, as an inducer of resistance to *Phakopsora pachyrhizi*, under field conditions, needs to be investigated. The objective of this study was to verify the effect of Ni, and of Ni associated with the fungicide azoxystrobin + benzovindiflupir in the control of the fungus *P. pachyrhizi* and its biochemical effects, in agronomic components and productivity in the soybean crop. The trial was carried out in the 2020/21 harvest, at the Experimental Farm of the Faculty of Agricultural Sciences of the Federal University of Grande Dourados, in the municipality of Dourados-MS. The test was conducted in DBC-randomized block design, in a 6x2 factorial arrangement, 12 treatments with and without fungicide association and six concentrations of Ni (0; 20; 40; 60; 80 and 100 g ha⁻¹) using sulfate of nickel (NiSO₄(H₂O)₆), with four replications. Applications occurred at the R1 phenological stage. The injured leaf area (SEV) was evaluated weekly and then the area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated. In addition, it was evaluated: mass of a thousand grains (1000G), productivity (PROD), soybean trefoil nitrogen (N), plant height (AP), grains per leg (GL), SPAD index - 1 and 2, Cellulose Soybean Trefoil Protein (CEL), Soybean Trefoil Hemicellulose (HEM), Soybean Trefoil Lignin (LIG), Catalase (CAT), Peroxidase (POD), Superoxide Dismutase (SOD) and Total Soybean Trefoil Protein (PROT). Foliar application of Ni with fungicide resulted in a 43.39% reduction in disease severity and reduced AUDPC in soybean plants. At 1000G, PROD, GL, AP and SPAD Index - 1 and 2, there were no differences between Ni treatments, and Ni associated with the fungicide, there was no significant effect on the factors, dose, interaction between dose and treatment and block. Ni associated with the fungicide controlled the severity and the plants showed lower AUDPC and severity indices compared to those that did not receive Ni. Ni and Ni associated with the fungicide stimulated the production of structural components in the cell wall, such as cellulose, hemicellulose and lignin. There was a significant interaction between the factors, dose and treatment, both for Ni and for Ni associated with the fungicide for the nitrogen content in soybean trefoils. The CAT, POD, SOD, PROT enzymes showed a quadratic fit in the Ni and Ni treatment combined with the fungicide, indicating an increase in activity up to a concentration close to 40 g of Ni ha⁻¹. With increasing concentrations there was a subsequent decrease in the enzyme and PROT in the tested treatments. Application of foliar Ni at a concentration of 60 g ha⁻¹ resulted in less leaf area damaged by Asian soybean rust and lower AUDPC in soybean. The concentration of 60 g ha⁻¹ also provided the maximum activities of CAT, SOD, POD and PROT enzymes. These enzymes are regulated by Ni and play an important physiological role in reducing the severity of soybean rust.

KEYWORDS: Soybean diseases, resistance induction, lignin, nickel sulfate.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* [L.] Merrill) é a cultura agrícola de maior expressão no país. O Brasil é o segundo maior exportador de grãos de soja do mundo. Na safra 2021/2022 a cultura foi cultivada em 41,4 milhões de hectares, tendo uma produção de 125,5 milhões de toneladas, e produtividade média de 3.026 kg ha¹ (CONAB, 2022).

A grande maioria dos fungicidas registrados para o controle da *Phakopsora pachyrhizi* são de sítio-específicos e com sucessivas aplicações podem causar resistência do fungo as bases usadas, devido à alta adaptabilidade deste patógeno, criando populações resistentes a esses fungicidas, dificultando o manejo da doença (MACHADO et al., 2021).

Uma nova tecnologia para ser utilizada no controle da ferrugem asiática da soja, que necessita ser explorada, é o uso do níquel (Ni) como indutor de resistência na ativação de mecanismos de defesa contra o fungo *P. pachyrhizi*, associado ou não com fungicidas no controle da ferrugem asiática (SOBRAL e SILVA, 2021).

O Ni é um elemento que é componente estrutural da metaloenzima (urease, ureia amidohidrolase), que possui dois íons de Ni no centro ativo (DIXON et al., 1975). Essa enzima catalisa a hidrólise da ureia em amônia (NH³) e dióxido de carbono (CO²) (SIEGBAHN et al., 2019). Em plantas de soja, uma baixa atividade da urease ocorreu em decorrência de deficiência de Ni, resultando em acúmulo de ureia no tecido foliar. A urease ocorre em duas formas isoenzimáticas nas plantas de soja, uma de alta expressão denominada "urease embrião-específica", sintetizada na semente, e a outra, a "urease ubíqua", sintetizada nos demais tecidos da planta, desempenhando importante papel no metabolismo do nitrogênio (FABIANO et al., 2015).

A fitotoxicidade do Ni em concentrações elevadas é atribuída à sua interferência no fotossistema, afetando o ciclo de Calvin e inibindo o transporte elétrico devido ao acúmulo excessivo de ATP e NADPH decorrente da ineficiência das reações do escuro (KRUPA et al., 1993). Embora os sintomas de toxicidade de Ni nos estágios iniciais não estejam bem definidos, em estágios moderados e agudos, a planta pode apresentar clorose semelhante aos sintomas de deficiência de Fe. Nos cereais, as cloroses podem ser brancas ou amarelo-

claras, e nas dicotiledôneas, manchas cloróticas podem aparecer entre as nervuras das folhas (BERTON et al., 2006).

O Ni é micronutriente que pode afetar diretamente vários microrganismos patogênicos nas plantas. Aplicações foliares de Ni em baixas concentrações, induzem uma resposta ao ataque de patógenos, visto que esse micronutriente é um ativador do metabolismo antioxidante ativando enzimas como a catalase (CAT), peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD), que protegem as células das plantas contra radicais livres e ativam uma resposta bioquímica contra patógenos (DOUSSEAU et al., 2016).

O uso do Ni no controle do vírus do mosaico do pepino (CMV), em plantas de pepino, reduziu a severidade da doença, diminuindo o acúmulo de partículas de CMV e ativou expressão de genes reguladores e relacionados à defesa da planta (DERBALAH e ELSHARKAWY, 2019).

A aplicação de Ni foliar reduziu 99% severidade do oídio *Microsphaera diffusa* (patógeno biotrófico) em plantas de soja, associado ou não ao fungicida fluxapiraxade + piraclostrobina, na aplicação de 40 g ha⁻¹ de Ni e 300 mL ha⁻¹ de fungicida (BARCELOS et al., 2018).

Einhardt et al. (2020), estudando o efeito do Ni via aplicação foliar, em casa de vegetação, com condições controladas, observaram redução de 35% na severidade da FAS em plantas tratadas com Ni, em comparação as que não receberam aplicação Ni. Os autores observaram ainda aumentos na concentração de lignina, atividade de β -1,3-glucanase e expressão dos genes URE, PAL1.1, PAL2.1, CHI1B1 e PR-1A, relacionados à defesa, em plantas tratadas com Ni infectadas com o fungo *P. pachyrhizi*.

O controle da ferrugem asiática da soja por aplicações foliares de Ni de forma isolada ou associada com fungicidas precisa ser estudada. O objetivo desse estudo foi verificar o efeito do Ni, e Ni em associação à fungicidas no controle de *P. pachyrhizi* bem como sobre componentes agronômicos, bioquímicos e produtividade na cultura da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área experimental

O ensaio foi conduzido de 14 de outubro de 2020 a 28 de fevereiro de 2021, na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados-MS. O local situa-se sobre a latitude 22° 14' S e longitude 54° 49' W e 452 m de altitude. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (EMBRAPA, 2013). Conforme a classificação de Köppen, o clima da região é classificado como temperado úmido com inverno seco e verão quente (Cwa).

O ensaio foi conduzido em sistema de plantio direto, sobre os restos culturais do milho, utilizando 300 kg de 0-20-20 (N-P-K) de adubo. As sementes foram tratadas previamente com piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil, sendo efetuada inoculação a base de turfa com bactérias *Bradyrhizobium japonicum*.

A semeadura foi realizada utilizando uma semeadora-adubadora da marca Jumil, adequada para plantio direto, visando um stand de plantas de 340.000 ha⁻¹. Foi utilizada a cultivar SW Briza RR e as unidades experimentais foram compostas por seis linhas de semeadura de soja, com espaçamento de 0,45 m e 6 metros de comprimento (16,2 m²). Para as avaliações, foram consideradas as duas linhas centrais, descartando-se 0,5 metro de cada extremidade da unidade experimental.

O Ni sem e com associação ao fungicida, foram diluídos em água limpa e aplicados com auxílio de um pulverizador costal pressurizado por CO₂, acoplado a uma barra de pulverização com 2 m de largura útil e quatro pontas do tipo jato plano (XR 110.02). As características climáticas da área utilizada, durante o período do ensaio podem ser observadas na Figura 1.

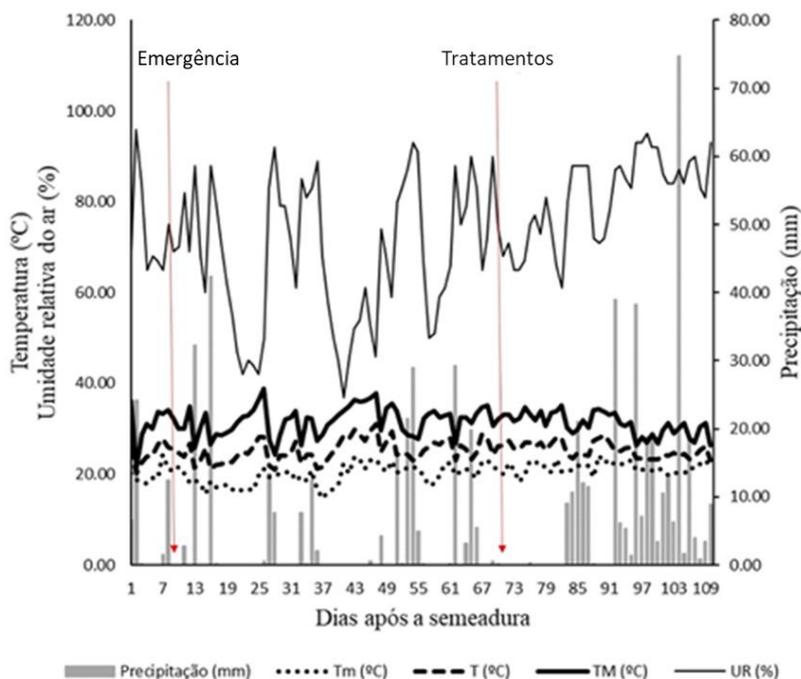


Figura 1. Precipitação pluviométrica acumulada (mm) e temperaturas máxima (TM), média (T) e mínima (Tm), em °C, registradas durante o cultivo da soja 2020/2021, em Dourados, MS. Fonte: EMBRAPA (2021).

2.2. Delineamento experimental e tratamentos

O ensaio foi conduzido em DBC - delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2 totalizando 12 tratamentos, com seis doses de níquel (0; 20; 40; 60; 80 e 100 g ha⁻¹), associadas ou não ao fungicida ELATUS® (azoxistrobina + benzovindiflupir) e quatro repetições. O níquel foi utilizado na forma de sulfato de níquel (NiSO₄(H₂O)₆). A dose do fungicida foi de 200 g ha⁻¹. Os tratamentos foram implementados no estágio fenológico R1. Após a implementação dos tratamentos não houve necessidade de novas aplicações do fungicida.

2.3. Variáveis Analisadas

O índice de clorofila

O índice foi quantificado por meio do SPAD (Soil Plant Analysis Development) no folíolo central do terceiro trifólio totalmente aberto do ápice para a base da planta (YOKOYAMA et al., 2018) em avaliações realizadas aos 21 (SPAD1) e 35 (SPAD2) dias

após os tratamentos. Utilizou-se três folhas do ápice para a base de 10 plantas por tratamento, evitando as nervuras.

A avaliação de severidade

Para avaliação de severidade (SEV) da ferrugem asiática, foram realizadas seis coletas semanais de 20 folíolos de cada parcela do terço médio e inferior. As amostragens iniciaram-se aos 14 dias após a aplicação. Posteriormente, determinou-se a área foliar lesionada pelo patógeno. A severidade de ferrugem asiática, expressa pela área foliar lesionada, foi estimada utilizando-se escala diagramática de Godoy et al. (2006), mostrada na Figura 2.

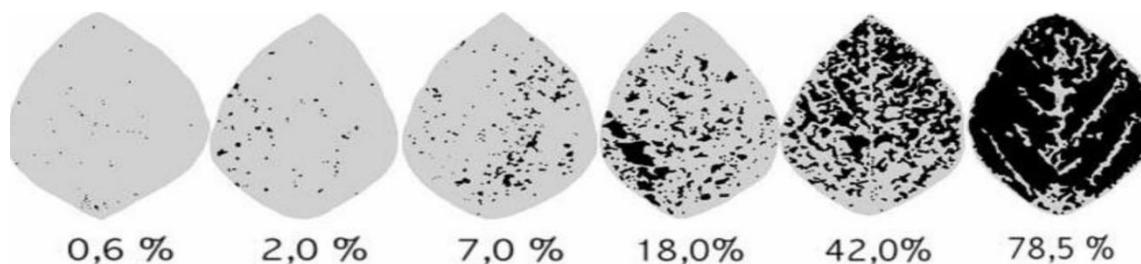


Figura 2. Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem asiática da soja (GODOY et al., 2006).

Area da curva de progresso de doença

Os valores de severidade média de cada parcela foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL e MADDEN, 1990). A AACPD foi calculada pela fórmula: $AACPD = i \sum_{n-1} [(x_i + x_{i+1})] / 2 (t_{i+1} - t_i)$, onde n é o número de avaliações, x é a severidade da doença e $(t_{i+1} - t_i)$ é o intervalo de tempo entre duas avaliações consecutivas (CAMPBELL e MADDEN, 1990). A AACPD sintetiza todas avaliações de severidade da doença em um único valor.

Componentes agronômicos e produtividade da soja

Foram avaliados o número de grão por legumes (GL) e a altura das plantas (AP), dada pela distância do colo da planta até a extremidade da haste principal em cm. Os dados foram coletados de dez plantas selecionadas aleatoriamente da área útil das parcelas no estágio fenológico R8 (PADILHA et al., 2021).

Após a colheita manual das plantas localizadas, no estágio fenológico R8, as plantas foram trilhadas e os grãos peneirados para a retirada de impurezas. Posteriormente, os grãos foram pesados em balança digital. Foi estimado a massa de mil grãos (1000G) pela pesagem de oito amostras contendo 100 sementes de cada unidade experimental e fazendo a média das amostras e realizando a correção da umidade para 13% RAS (BRASIL, 2009). Após a aferição da massa e determinação de umidade foi obtida a produtividade e convertida em toneladas por hectare (PROD) (MATTEI et al., 2020).

Análises Laboratoriais

As análises foram processadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia e as análises bioquímicas foram realizadas no laboratório de Zootecnia Geral e para as análises de determinação de lignina, celulose e hemicelulose utilizou-se o Laboratório de Forragicultura Geral na Unidade II da FCA/UFGD.

Coleta do material

Uma coleta de trifólios de soja foi realizada aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos, no estágio R2, sendo coletado o primeiro trifólio totalmente expandido de 15 plantas de cada unidade experimental, que foram condicionados em nitrogênio líquido, e utilizados para quantificação do conteúdo de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). Esses materiais foram macerados em N líquido e armazenados em freezer até serem processadas as análises.

Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase (CAT) foi avaliada por meio da análise da degradação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), utilizando o método descrito por Azevedo et al. (1998). Para realizar a análise, adicionou-se 1 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,5) e 2 μ L de H_2O_2 (30%) em cada tubo de ensaio. Em seguida, adicionou-se 150 μ L de extrato de proteína e os tubos foram imediatamente misturados por vórtex. A atividade enzimática foi medida pela quantificação da decomposição de H_2O_2 em um intervalo de tempo de 2 minutos, utilizando um espectrofotômetro com o comprimento de onda de 240 nm, a 25 °C. Os resultados foram expressos em μ M $min^{-1} mg^{-1}$ de proteína.

Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi avaliada conforme o método descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Para realizar o teste, 50 μL da amostra foram adicionados a uma mistura contendo 5 mL de tampão fosfato de sódio (50 mmol/L, pH 7,8), metionina (13 mmol/L), NBT (75 mmol/L), EDTA (0,1 mmol/L) e riboflavina (2 $\mu\text{mol/L}$). Os tubos de ensaio foram colocados dentro de uma câmara de reação (caixa) e submetidos à iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W a 25 °C, por um período de 15 minutos. Durante esse tempo, ocorreu a formação do composto formazano azul produzido pela fotorreação do NBT. Para cada amostra, também foram preparados tubos de ensaio contendo a mesma mistura, porém cobertos com papel alumínio para evitar a exposição à luz, e esses tubos foram utilizados como controles. Após os 15 minutos, as amostras foram homogeneizadas por vórtex e as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram expressos como proteína U SOD mg^{-1} .

Peroxidase (POD)

O método utilizado para determinar a atividade da enzima peroxidase (POD) nos tecidos foliares da soja foi o descrito por Reis et al. (2014). Após o processo de extração enzimática dos tecidos foliares, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL dos extratos teciduais e adicionadas a 0,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 6,7), 0,5 mL de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) e 0,5 mL de aminoantipirina. Os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria a 30 °C por 5 minutos e, após a incubação, 2 mL de etanol foram adicionados para interromper a reação. As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, agitadas em vórtex e lidas em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 505 nm. Como controle, o extrato enzimático foi substituído por tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 6,7). A atividade enzimática total foi expressa em μmol de H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} de proteína.

Proteínas totais dos trifolios de soja

A concentração de proteínas solúveis totais foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA (albumina de soro bovino) como padrão. 100 μL da alíquota da amostra e 5 mL do reagente de Bradford pré-preparado foram pipetados em tubos de ensaio. A absorbância foi medida a 595 nm usando um espectrofotômetro, e os

resultados foram expressos em mg g^{-1} proteína por MF. Os valores de proteína foram utilizados para calcular as concentrações de enzimas antioxidantes.

Determinação de Lignina, Celulose e Hemicelulose

Após a colheita dos trifólios de soja no estádio R2, doze dias após a aplicação dos tratamentos, foram coletadas o primeiro trifólio recém expandido de 15 plantas em cada unidade experimental. As amostras foram homogeneizadas e levadas para pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h e após este período foram moídas em moinho do tipo Willey a 1 mm, em triplicada, para determinação dos teores de nitrogênio, lignina, hemicelulose e celulose.

Foi empregado o método de autoclavagem descrito por Detmann et al. (2012) para análise dos resíduos de Fibra em Detergente Neutro (FDN) ou Fibra em Detergente Ácido (FDA). Os sacos de amostra foram confeccionados com TNT (tecido não tecido), medindo 5×4 cm, secos em estufa a 105°C por 3 horas, e identificados com lápis. Cada saco foi preenchido com 0,5 g de amostra e selado. Em seguida, os sacos foram colocados em potes de plástico com capacidade de 80 mL, contendo 50 mL de solução, e submetidos à autoclavagem a 105°C e 0,5 ATM por 1 hora. Após o processo de autoclavagem, os sacos contendo os resíduos foram lavados três vezes com água destilada aquecida e, posteriormente, lavados com acetona em béquer por duas vezes. Os sacos foram secos em estufa a 105°C por 3 horas, colocados em dessecador até esfriar e, em seguida, pesados para obtenção dos respectivos pesos dos resíduos de FDN ou FDA.

Considerou-se a relação entre a amostra e a solução recomendada pelo método original de Van Soest (1963) e Van Soest e Wine (1967) para a obtenção da FDN ou FDA em cada 1,0g de amostra, utilizando 100mL de solução. Os cálculos para determinar a quantidade de fibra, FDN ou FDA, presente na amostra seca ao ar (ASA) foram realizados utilizando a fórmula adequada.

$$\text{FDN ou FDA (\% na ASA)} = (P2 - P3) \times 100 / P1$$

Onde:

P1 = peso da amostra, em g;

P2 = peso da tara + resíduo, em g;

P3 = peso da tara, em g.

OBS: tara = cadinho filtrante ou saco de TNT.

Em seguida, a % de FDN ou FDA na ASA foram corrigida para matéria seca (MS), segundo a fórmula:

$$\text{FDN ou FDA (\% na MS)} = (\%F \div \%ASE) \times 100$$

Onde:

% F = percentual de fibra, FDN ou FDA, na ASA;

%ASE = percentual de amostra seca em estufa.

Onde:

% F = percentual de fibra, FDN ou FDA, na ASA;

% ASE = percentual de amostra seca em estufa.

Os teores de hemicelulose, foram calculados pela diferença entre o FDN e FDA (Hemicelulose = FDN – FDA) e a celulose foram determinados pela diferença entre a fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (Celulose = FDA – Lignina) (VAN SOEST, 1963).

O teor de lignina foi determinado pelo método sequencial, onde as amostras foram previamente tratadas com solução de detergente neutro (FDN) e posteriormente em fibra em detergente ácido (FDA), que após foi submetida à digestão com solução concentrada de ácido sulfúrico a 72%, por três horas, posteriormente foram lavados e secos em estufa e por diferença de peso obteve-se o teor final de lignina (VAN SOEST, 1963).

Determinação de Nitrogênio

Os teores de nitrogênio foram determinados pelo método de Kjeldahl. As amostras foram pesadas e colocadas em tudo de digestão, contendo 5 ml de ácido sulfúrico e mistura catalizadora (sulfato de potássio e sulfato de cobre). As amostras foram digeridas por digestão sulfúrica e posteriormente o material foi destilado pelo método de arraste e titulado com solução de ácido clorídrico (AOAC, 2016).

2.4. Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos aos testes de normalidade e homoscedasticidade e análise de variância pelo teste F, com nível de significância de 5% de probabilidade. Quando significativas, foi realizada análise de regressão e probabilidade

do Ni sem e com associação com o fungicida. Foi realizada a análise de correlação de Pearson entre as variáveis a 5% de probabilidade. Utilizando os softwares R (R CORE TEAM, 2020), Rbio (BHERING, 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura da soja foi semeada no mês de outubro de 2020, dentro do período recomendado para a cultivar. No entanto, no período da safra de soja do ano 2020/2021 houve uma baixa precipitação pluvial, não apresentado ambiente adequado para o desenvolvimento da ferrugem asiática na região, durante o período experimental. O primeiro foco da doença no estado ocorreu somente em 26/01/2021 (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2023). Isso sugere uma baixa quantidade inicial de inóculo no campo. Observando o ano da safra anterior (2019/2020), o primeiro foco de doença encontrado no município de Dourados - MS foi no dia 09/01/2020, com uma diferença de dezessete dias em relação ao período 26/01/2021 (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2023).

A FAS pode infectar a cultura a partir dos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, desde que encontre condições ambientais favoráveis (ALVES, 2016). As temperaturas durante a condução do experimento ficaram dentro das médias normais para esse período do ano, oscilando entre 25,7 e 26,8 °C (Figura 1), mantendo-se também dentro do intervalo favorável ao desenvolvimento do patógeno, que é de 15 a 28 °C. Já a precipitação pluvial acumulada foi de 647 mm durante a condução do ensaio, que iniciou no dia 14 de outubro de 2020 e terminou no dia 28 de fevereiro de 2021. O baixo índice pluviométrico durante o experimento, influenciou em um tempo inferior a seis horas de molhamento foliar, conseqüentemente dificultou a infecção e posteriormente o desenvolvimento e expansão do inóculo do patógeno (*Phakopsora pachyrhizi*), o que pode ter exercido um efeito negativo na dispersão do patógeno dentro do dossel das plantas na área experimental do ensaio (TSUKAHARA et al., 2008).

A Figura 3 (A) ilustra que a aplicação foliar de Ni resultou em uma menor severidade da doença, comprometendo o desenvolvimento do patógeno nas plantas. A dose de 65,4g ha⁻¹ de Ni, reduziu a severidade em 43,39% em comparação à dose 0. A resposta da severidade da doença à aplicação de Ni foi descrita como uma função quadrática negativa, com um ponto mínimo estimado de 3,71%, que foi alcançado com a concentração de Ni de 65,4g ha⁻¹. Na análise estatística em arranjo fatorial da variável severidade, os

fatores, dose, tratamento, interação dose e tratamento com Ni, demonstraram diferenças significativas. Esses resultados sugerem que o Ni pode ser benéfico na redução da severidade da doença.

Na Figura 3 (B), foi observado que a aplicação de Ni reduziu a AACPD nas plantas de soja. A AACPD foi descrita como uma função quadrática negativa às diferentes concentrações de Ni, com um ponto mínimo estimado de 66,6 alcançado com a concentração de Ni de 50,1g ha⁻¹. Esses resultados sugerem que a aplicação de Ni pode acionar mecanismos de defesa latentes nas plantas de soja, aumentando a resposta da planta ao ataque da FAS. Na análise estatística em arranjo fatorial da variável AACPD, os fatores, dose, tratamento, bem como a interação entre dose e tratamento do Ni, foram significativos. Esses resultados sugerem que o uso do Ni pode ser benéfico na redução da AACPD, entretanto em relação ao Ni associado ao fungicida, a baixa pressão do inoculo nas plantas, associado ao ambiente desfavorável, pode ter resultado em um efeito mascarado, da interação do Ni com o fungicida.

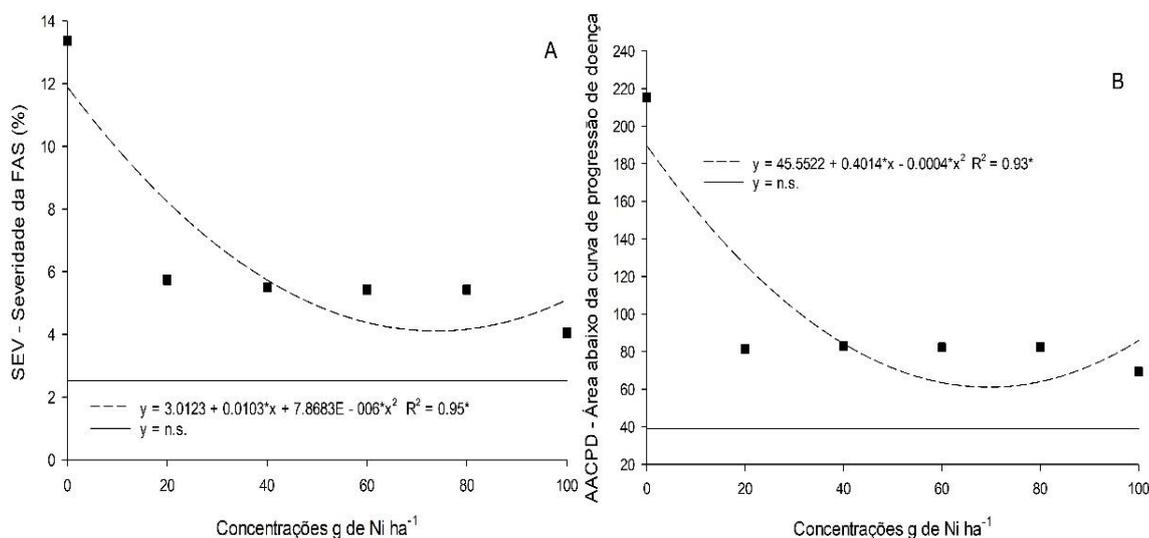


Figura 3 (A). SEV - severidade (%) da FAS. Figura 3 (B) AACPD - Área abaixo da curva de progresso de doença de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua n.s. -não significativa (Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Neste estudo, o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) associado com o Ni controlou a severidade e apresentou índices menores da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) e menor severidade comparados com o Ni. Os resultados indicaram

que a adição do Ni ao fungicida não teve um efeito adicional significativo no controle da ferrugem asiática.

A associação do Ni com fungicidas também foi estudada por autores como Yu et al. (2008), que verificaram que a adição de Ni ao fungicida Azoxistrobina aumentou a eficiência do controle de doenças fúngicas e promoveu um melhor crescimento da soja.

De acordo com a pesquisa realizada por Chechi et al. (2019), em campo, durante os anos de 2014 e 2016, foi verificado que a aplicação da dose do fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) em conjunto com o volume de calda de 200 L ha⁻¹ em plantas de soja foi capaz de controlar a FAS de forma eficaz. Os resultados obtidos apontaram que o controle da ferrugem asiática da soja alcançou percentuais entre 68,4% e 70,1%. Esses achados sugerem que a aplicação do fungicida é uma medida adequada e eficaz para o controle da ferrugem asiática da soja.

O Ni pode ter estimulado a produção de componentes estruturais na parede celular, aumentando em 33% a produção de celulose, 11% hemicelulose e 10% lignina, entre as doses, aumentando a barreira física e química natural da soja contra a penetração fúngica. Segundo Cantu et al. (2008), a parede celular representa, uma fonte de nutrientes, ao mesmo tempo uma barreira de acesso físico contra a infecção do patógeno, levando o fungo a utilizar estratégias para contornar esta defesa.

Além disso, a aplicação de Ni permitiu controlar o acesso do fungo a esses nutrientes importantes como nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio, cálcio, entre outros, através da indução de resistência ou de ativação do sistema antioxidante do hospedeiro resultando no aumento da produção de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, peroxidase e catalase, o que contribuiu para a redução da severidade da doença e da AACPD nas plantas de soja (SAKAMOTO e BRYANT 2001).

Gajewska et al. (2006), detectaram que o Ni é capaz de aumentar a produção de enzimas antioxidantes em plantas de trigo. O Ni pode estimular a produção de compostos de defesa, como ácido salicílico, enzimas antioxidantes, ácido jasmônico e compostos fenólicos, que são importantes na resposta de defesa da planta contra ataques de fitopatógenos (SIRHINDI et al., 2016).

De acordo com a Figura 4 (A) do estudo, a variável da massa de mil grãos (1000G) não apresentou efeito de Ni, e Ni associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), não houve efeito significativo nos fatores, dose, interação entre dose e fungicida e bloco. A Figura 4 (B) demonstrou que a produtividade por hectare (PROD) não apresentou diferenças significativas entre Ni, e Ni com associação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir). A análise estatística em arranjo fatorial da variável produtividade, indicou que não houve efeito significativo nos fatores, dose, interação entre dose e fungicida e bloco.

A Figura 4 (C) apresenta o teor de nitrogênio nos trifólios de soja com a aplicação de Ni, e Ni associado com fungicida. Houve uma interação significativa entre os fatores, dose e fungicida, para Ni, e Ni associado ao fungicida. Neste estudo, foi constatado que a combinação aditiva do fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) com Ni resultou em um incremento significativo em relação à aplicação exclusiva de Ni, exercendo um efeito benéfico na no teor de nitrogênio nos folíolos de soja.

Este estudo destacou que a aplicação foliar de Ni, e Ni combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), resultou em aumento linear, na quantidade de nitrogênio nos trifólios de soja, conforme observado na Figura 4 (C). O uso combinado do Ni com o fungicida teve um impacto positivo aumentando a disponibilidade de nitrogênio nos trifólios de soja, o que pode ser explicado pelo aumento da atividade microbiana no solo e da fixação biológica de nitrogênio (MITTLER, 2002; LAVRES et al., 2016).

A aplicação foliar de Ni pode ser eficaz na correção de carências de nitrogênio e na melhoria da nutrição da soja, já que melhora significativamente a FBN, aumentando o crescimento da planta e a produção de grãos (SIQUEIRA et al., 2018). Quando há disponibilidade de Ni, a capacidade da planta de fixar nitrogênio é favorecida, resultando em maior disponibilidade de nitrogênio nas folhas de soja (SIQUEIRA et al., 2018). Isso pode evitar sinais de estresse nutricional, como amarelecimento foliar, atraso no crescimento e redução na produção de grãos (FERREIRA et al., 2022).

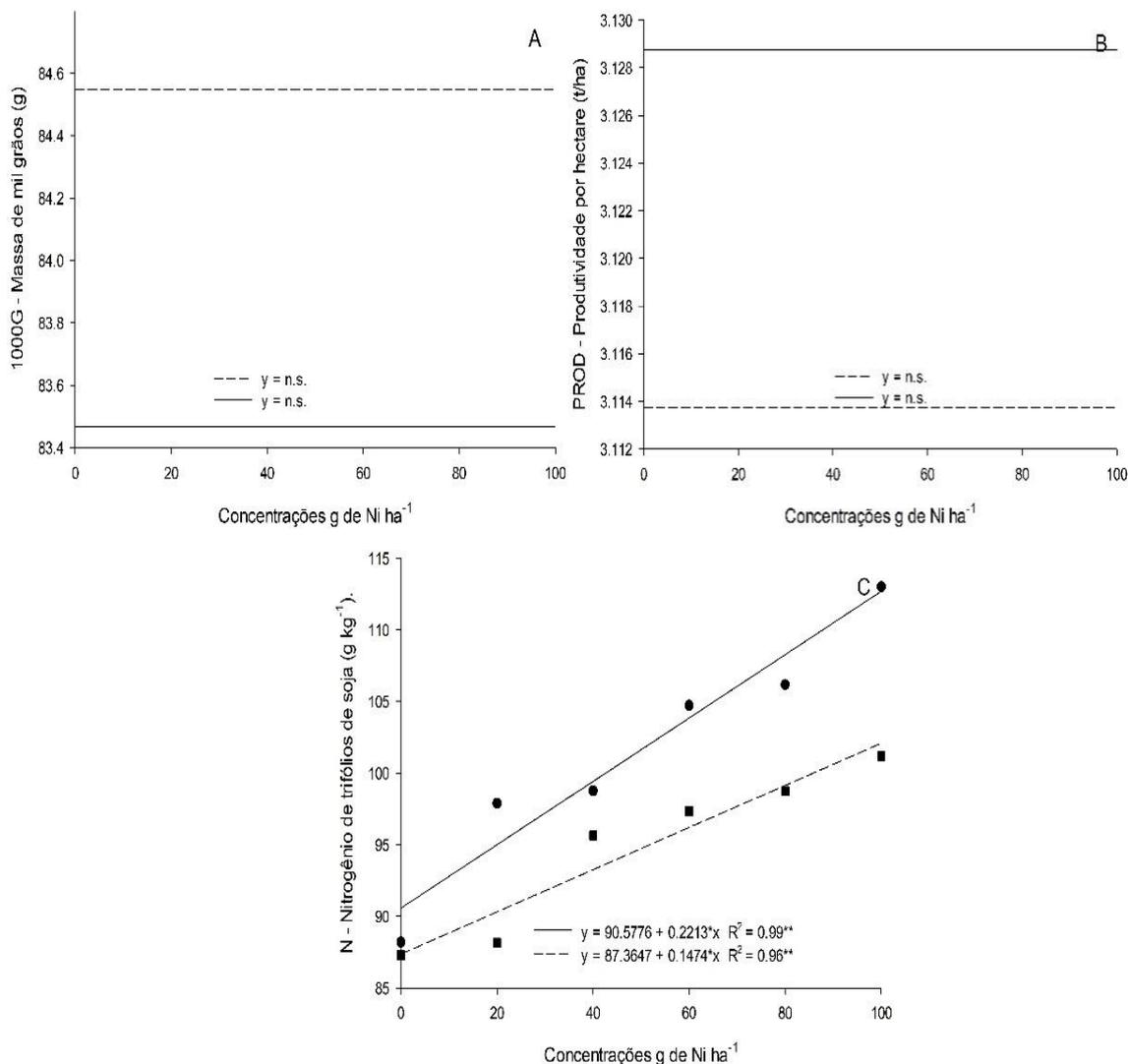


Figura 4 (A). 1000G - massa de mil grãos (g). **Figura 4 (B).** PROD - produtividade por hectare (t/ha). **Figura 4 (C).** N – Nitrogênio de trifólios de soja (g kg⁻¹) de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua n.s. -não significativa (Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Conforme a Figura 5 (A) e 5 (B), grãos por legumes (GL) e altura de plantas (AP) não apresentaram diferenças entre Ni e Ni com fungicida, não demonstrando efeito significativo nos fatores dose, interação entre dose e fungicida e bloco.

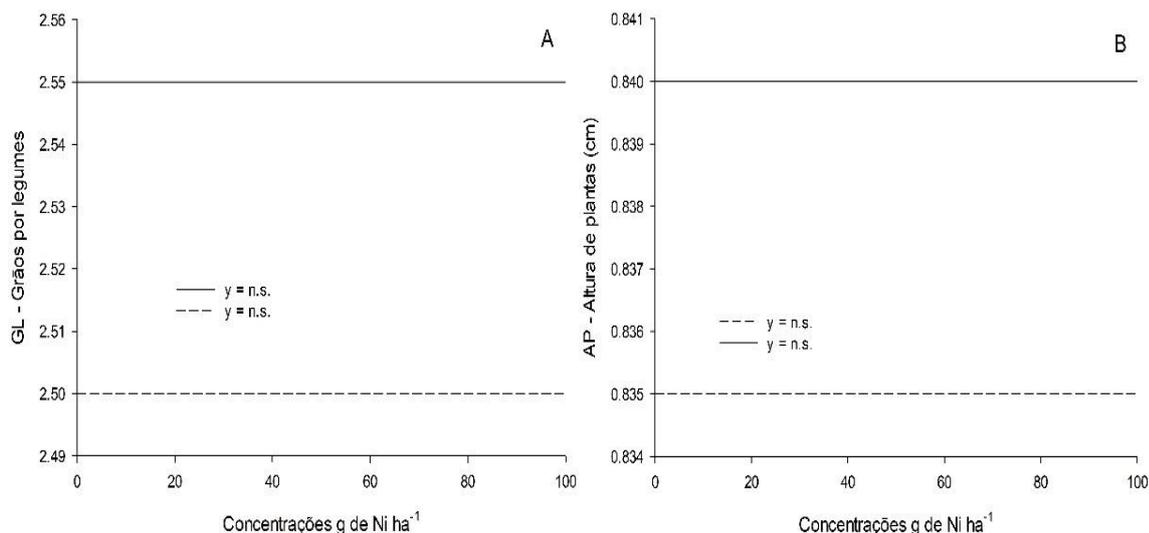


Figura 5 (A). GL - Grãos por legumes. **Figura 5 (B).** AP - Altura de plantas (cm) de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha pontilhada indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua indica a aplicação foliar de Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

De acordo com a Figura 6 (A) e 6 (B), o Índice SPAD (Soil Plant Analysis Development) – 1 e 2 não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos Ni e Ni associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), e não demonstrou efeito significativo no fator dose, interação dose com fungicida e bloco. Sugerindo que o uso de Ni e do Ni associado com o fungicida não teve impacto significativo no teor de clorofila nas plantas.

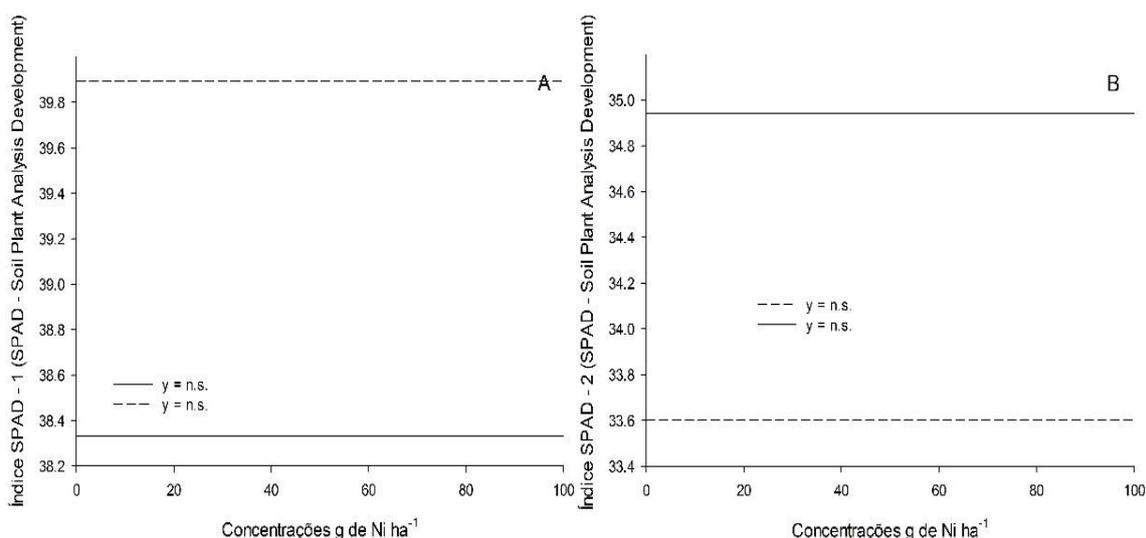


Figura 6(A). Índice SPAD - 1 (SPAD - Soil Plant Analysis Development). **Figura 6 (B)** Índice SPAD - 2 (SPAD - Soil Plant Analysis Development) de trifólios de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha

pontilhada indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua indica a aplicação foliar de Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Como demonstrado as Figuras 7 (A, B, C) o Ni, e Ni associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), levou a um aumento nos teores de celulose (CEL), hemicelulose (HEM) e lignina (LIG) nos trifólios de soja, respondendo com ajuste linear aos tratamentos. Verificou-se que a associação aditiva do fungicida resultou em um aumento significativo dos teores de CEL, HEM e LIG em comparação à aplicação de Ni isolado exercendo um efeito positivo sobre a CEL, HEM e LIG dos folíolos de soja. A análise estatística em arranjo fatorial, indicou que as variáveis CEL, HEM e LIG apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos o Ni e Ni com associação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) demonstrando efeitos significativos nos fatores dose, fungicida e na interação dose com fungicida.

As quantidades de celulose, hemicelulose e lignina presentes na parede celular têm um impacto importante na resistência das plantas a patógenos e na resposta de defesa contra os mesmos. De acordo com o estudo realizado por Li et al. (2019), a alteração na composição da parede celular pode ser uma resposta imune da planta contra o stress biótico, aumentando a robustez e a flexibilidade do tecido vegetal para oferecer proteção contra invasores patogênicos. O aumento da robustez aliado com a baixa quantidade de inoculo presente no estudo e a baixa umidade, possivelmente reduziram a infecção e desenvolvimento do fungo.

A parede celular da planta desempenha um papel fundamental na defesa contra patógenos e no reconhecimento de estresses ambientais, transmitindo sinais que ativam respostas de defesa (COS-GROVE, 2005). Embora tradicionalmente vista como uma barreira passiva contra patógenos, estudos recentes indicam que a parede celular age de forma ativa na proteção da planta.

Na figura 7 (A), foi observado que o Ni, e Ni com associação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), promoveu um aumento significativo no teor de CEL nos trifólios de soja. A celulose é um componente chave da parede celular que influencia tanto o crescimento quanto a resposta de defesa das plantas. Estudos em plantas mutantes que apresentam deficiência na síntese de celulose têm revelado graves alterações no desenvolvimento, como nanismo e menor rendimento nas plantas (SCHULZE et al. 2010; RAMÍREZ et al. 2011).

O bloqueio da síntese de CEL pode levar à diminuição da resistência da planta a doenças (HAMANN et al. 2009). Por exemplo, quando em plantas de cevada, o gene HvCSLD2 é silenciado, impedindo a produção de sintase celulose, a parede celular epidérmica da planta exibe uma redução no conteúdo de celulose, o que torna as papilas da planta mais facilmente penetradas pelo fungo *Blumeria graminis*. Como resultado, a planta apresenta uma resistência comprometida ao oídio. (DOUCHKOV et al., 2016).

A inibição química da síntese de celulose também pode inibir a ativação da imunidade da planta. A inibição da síntese de celulose tem sido associada à produção do ácido jasmônico (JA) e espécies reativas de oxigênio (ROS) e a deposição da lignina na parede celular. Esses processos afetam a imunidade da planta, tornando-a menos resistente a patógenos e estresses abióticos (WAN et al., 2021).

Na figura 7 (B), foi observado que o Ni, e Ni associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), promoveram um aumento significativo no teor de hemicelulose (HEM) nos trifólios de soja. As hemiceluloses são um conjunto heterogêneo de polissacarídeos que apresentam um esqueleto β -(1 β 4)-glicosídico, composto por manose, glicose ou xilose (SCHELLER e ULVSKOV, 2010; ENDLER e PERSSON, 2011).

Tanto a xilana quanto a xiloglucana pertencem ao grupo das hemiceluloses e são consideradas os principais componentes da parede celular vegetal. Cada vez mais, evidências têm mostrado que alterações nesses componentes podem afetar a resistência de *Arabidopsis* a patógenos (DELGADO-CEREZO et al. 2012; SAMPEDRO et al., 2010; CHOWDHURY et al., 2017).

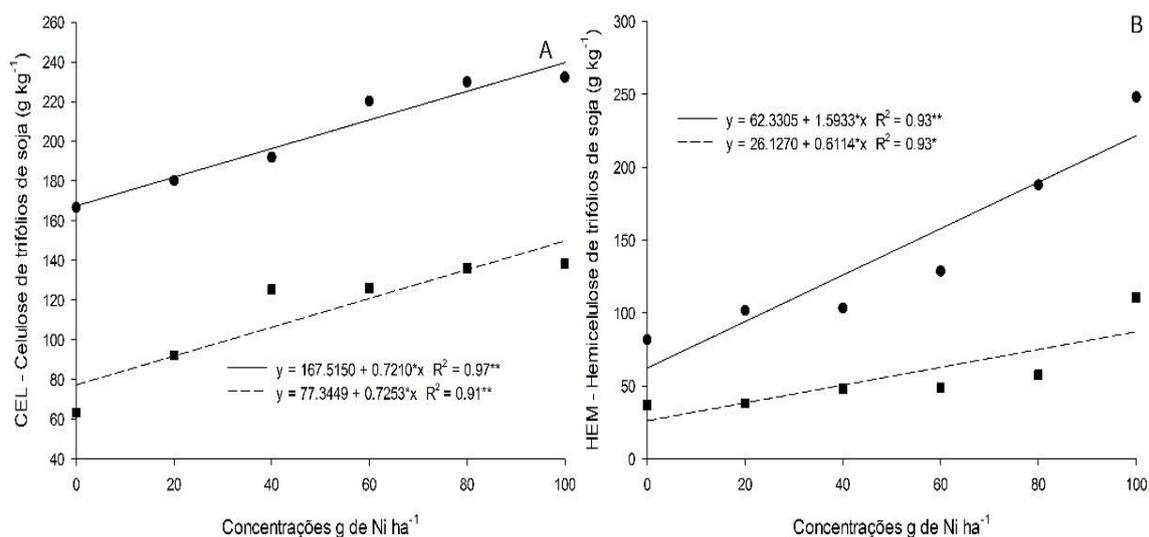
Os mutantes *Arabidopsis* det3 (de-estiolado3) e irx6-1 (xilema irregular 6-1) apresentam níveis elevados de xilose em sua parede celular, quando comparados ao tipo selvagem. De maneira interessante, esses mutantes demonstram maior resistência ao fungo *Alternaria cucumerina* (DELGADO-CEREZO et al., 2012).

A função das HEM na indução de resistência em plantas está relacionada à sua capacidade de reforçar a parede celular e interagir com outros componentes, como a CEL e a lignina. Alterações na composição podem desencadear respostas de defesa em plantas, levando a uma maior resistência a patógenos (LI et al., 2019).

Além de proporcionar estrutura e resistência à parede celular, a celulose e hemicelulose também são cruciais na resposta de defesa das plantas contra patógenos (GILLSON et al., 2003). Por exemplo, a presença de celulose e hemicelulose pode ajudar a controlar a invasão de patógenos pela formação de barreiras físicas (FARROKHI et al., 2006). Além disso, a degradação da celulose e hemicelulose pode ser um sinal de ativação da resposta de defesa das plantas contra patógenos (FOURIE et al., 2020).

Outro aspecto importante é que a quantidade e distribuição de celulose e hemicelulose na parede celular também pode afetar a resposta de defesa das plantas contra patógenos. Por exemplo, uma quantidade insuficiente de celulose pode levar a uma parede celular fraca e vulnerável a invasões patogênicas (FARROKHI, et al., 2006).

Na Figura 7 (C), foi observado que o Ni, e Ni com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), promoveram um aumento significativo no teor da lignina nos trifólios de soja. A lignina é um importante componente na resistência das plantas aos patógenos, formando uma barreira física dificultando a penetração das hifas (LI et al., 2019). O Ni ativou mecanismos de defesa das plantas, aumentando a síntese de lignina, indicando uma lignificação nas áreas atacadas diminuindo o ataque do patógeno nas plantas *Fusarium asiaticum* em plantas de soja (RANADE et al., 2022; XU et al., 2020).



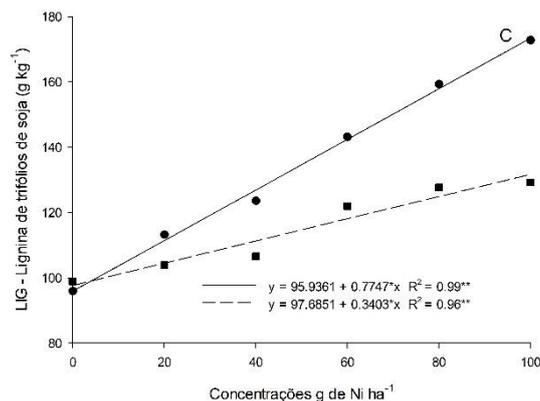


Figura 7 (A). CEL - Celulose de trifólios de soja (g Kg^{-1}), Figura 7 (B). HEM – Hemicelulose de trifólios de soja (g kg^{-1}) e Figura 7 (C). LIG - Lignina de trifólios de soja (g Kg^{-1}) de trifólios de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

A presença de lignina na parede celular das plantas tem sido associada à resistência contra doenças, uma vez que plantas com maior quantidade de lignina apresentam maior tolerância às enzimas degradadoras da parede celular secretadas pelos patógenos, seja em resposta à infecção ou em casos de deficiência na biossíntese de celulose (WAN et al., 2021).

Segundo Li et al. (2019), a ativação dos genes Os4CL3 e Os4CL5 relacionados à biossíntese de lignina é estimulada pelo fator de transcrição do arroz OsMYB30, o que resulta no fortalecimento da célula do esclerênquima por meio do acúmulo de subunidades G e S de lignina, conferindo resistência à penetração de *Magnaporthe oryzae*.

De acordo com estudos recentes, o uso de Ni pode ter um efeito positivo na lignificação das plantas, aumentando a robustez e a integridade da parede celular (LEŠKOVÁ et al., 2020). Além disso, o Ni, tanto de forma isolada quanto associado ao fungicida tem sido usado para potencializar ainda mais esse efeito, uma vez que os fungicidas atuam no controle de patógenos que podem afetar a integridade da parede celular das plantas (LI et al., 2018).

O Ni também foi relacionado à ativação de genes relacionados à síntese de lignina e aumento da expressão desses genes, o que indica que o Ni pode estar envolvido na regulação da lignificação em plantas (KUMAR et al., 2020). Além disso, o Ni tem sido associado a um aumento na concentração de compostos fenólicos, como a cumarina, que é um importante precursor da lignina (LEŠKOVÁ et al., 2020).

Nas Figuras 7 (A, B, C) deste estudo, foi observado que o uso do Ni, e Ni associado com um fungicida resultou em aumentos lineares nos teores de celulose, hemicelulose e lignina nos trifólios de soja. Isso sugere que a aplicação de Ni pode aumentar a síntese de celulose, hemicelulose e lignina, possivelmente fortalecendo a parede celular, tornando as plantas mais resistentes ao ataque de patógenos, como o FAS.

No entanto, é importante notar que este estudo avaliou a severidade e AACPD da FAS e os efeitos da aplicação do Ni, e Ni em combinação com o fungicida, no controle da doença apresentando resultados promissores, e mais pesquisas são necessárias para confirmar esta hipótese.

É importante destacar que este estudo não avaliou diretamente os efeitos da inibição química da síntese de CEL, HEM e LIG na imunidade da planta. Em vez disso, o estudo se concentrou em examinar os efeitos da aplicação de Ni, e Ni associado com fungicida, nos teores desses compostos nos trifólios de soja.

Embora os resultados sugiram uma relação entre a aplicação do Ni, e Ni associado ao fungicida no aumento nos teores de CEL, HEM e LIG, ainda não está claro se essas alterações na síntese desses compostos estão diretamente envolvidas na ativação de mecanismos de defesa da planta contra a FAS.

Conforme apresentado na Figura 8 (A), a atividade da enzima catalase (CAT) apresentou um ajuste quadrático no Ni, em função dos níveis de Ni alcançando o ponto máximo de 0,70 mmol mg⁻¹min proteína, estimado na concentração 35,98 g de Ni ha⁻¹. Quando o Ni foi combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), a enzima apresentou um ajuste quadrático com o ponto máximo de 0,69 mmol mg⁻¹min proteína, estimado na concentração 48,17 g de Ni ha⁻¹ na atividade da catalase (CAT). Indicando um aumento na atividade da CAT até o ponto máximo, seguido de uma diminuição subsequente da enzima CAT.

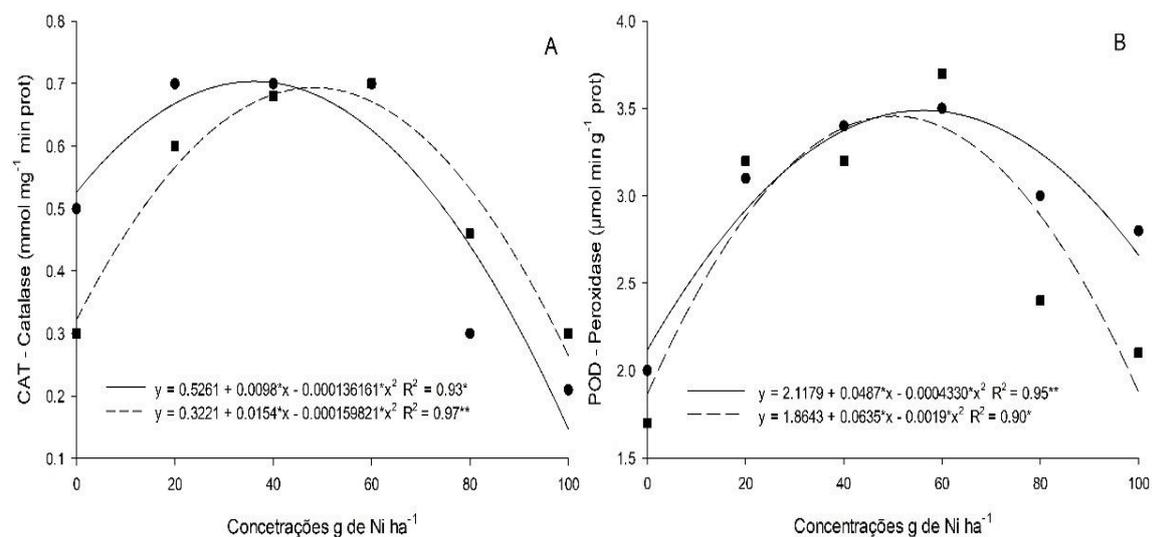
Os resultados da análise estatística, indicam um efeito significativo no fator, dose, fungicida e uma interação significativa entre dose e fungicida, sugerindo que o uso de Ni, e Ni associado com o fungicida, teve um impacto na atividade da enzima catalase (CAT). Esses resultados indicam que as concentrações de Ni utilizadas no estudo pode afetar a atividade da CAT, o que é importante considerar ao avaliar o uso potencial de Ni como um agente de proteção contra a FAS. Além disso, a interação significativa entre dose e

tratamento sugere que o uso combinado de Ni e fungicida pode ter um efeito diferente na atividade da CAT em comparação com o uso isolado de Ni.

A enzima catalase (CAT) é essencial para a sanidade das plantas, pois regula os níveis de peróxido de hidrogênio produzidos pelas enzimas SOD e POD. Embora essas enzimas sejam importantes para a defesa das plantas contra patógenos e estresses ambientais, um acúmulo excessivo de peróxido de hidrogênio pode ser tóxico. Portanto, a regulação adequada da enzima catalase é crucial para manter o equilíbrio da produção de peróxido de hidrogênio nas plantas (BARBOSA et al., 2014).

Embora a principal função da enzima catalase (CAT) seja degradar altas concentrações de peróxido de hidrogênio, que podem ser tóxicas para as plantas, baixas concentrações dessa substância desempenham um papel importante na transdução de sinal em plantas que estão sob ataque de estressores bióticos, como fungos (PRASAD et al, 1994).

Nesse contexto, o peróxido de hidrogênio pode atuar como um sinalizador para a planta, desencadeando respostas de defesa contra o estressor biótico. Assim, a regulação adequada da produção de peróxido de hidrogênio pela enzima CAT é crucial para manter a homeostase da planta e sua capacidade de responder efetivamente aos desafios bióticos (PRASAD et al, 1994).



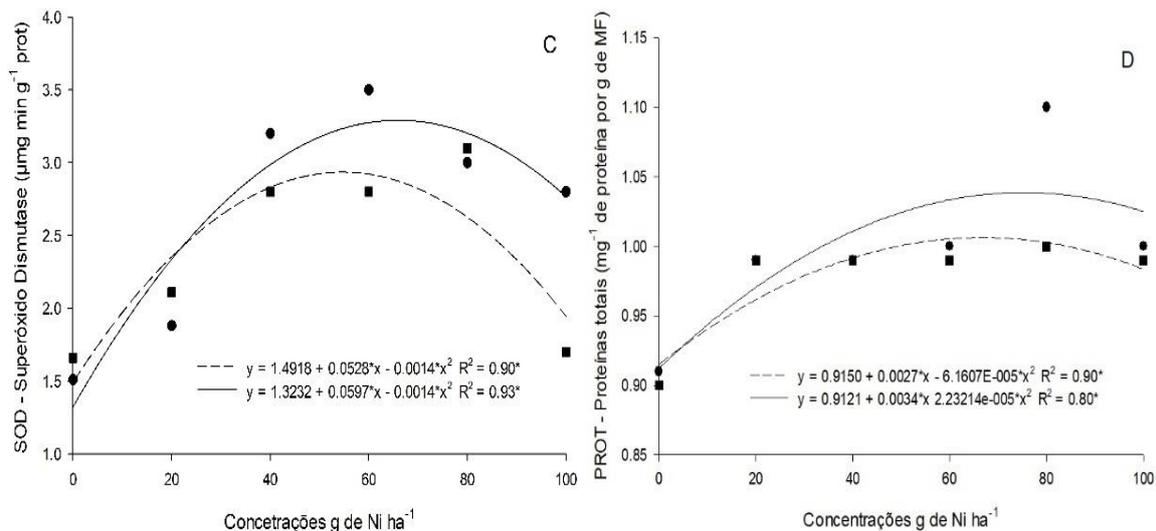


Figura 8 (A), CAT - catalase ($\text{mmol mg}^{-1} \text{ min prot}$), **Figura 8 (B)**, POD - peroxidase ($\mu\text{mol min g}^{-1} \text{ prot}$) e **Figura 8 (C)**, SOD - superóxido Dismutase ($\mu\text{mg min g}^{-1} \text{ prot}$), **Figura 8 (D)**, PROT - proteínas totais dos trifólios de soja (mg g^{-1} proteína por MF) submetidas a diferentes concentrações de Ni sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Ni sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Ni com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

O uso do Ni, e do Ni associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) para proteger as plantas contra a FAS, sugere que eles podem ter um efeito positivo na atividade da enzima catalase (CAT), aumentando-a e mantendo os níveis de peróxido de hidrogênio dentro de níveis seguros para a planta. Dessa forma, a ação do fungicida pode ajudar a manter o equilíbrio necessário entre a produção de peróxido de hidrogênio e a capacidade da planta de lidar com essa substância, o que é fundamental para a sanidade e a sobrevivência das plantas sob estresse biótico (MAMENKO et al., 2019).

Conforme apresentado na Figura 8 (B), a atividade da enzima peroxidase (POD) apresentou um ajuste quadrático às doses de Ni, isolado alcançando o ponto máximo de $3,48 \mu\text{mol min g}^{-1}$ proteína, estimado na concentração $56,23 \text{ g de Ni ha}^{-1}$. O Ni combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), respondendo de forma quadrática com o ponto máximo de $3,45 \mu\text{mol min g}^{-1}$ proteína estimando na concentração $50,08 \text{ g de Ni ha}^{-1}$ na atividade da peroxidase (POD). Observou-se com os ajustes quadráticos, um aumento na atividade da POD até o ponto máximo, seguido de uma diminuição subsequente da enzima POD nos tratamentos testados.

Os resultados deste estudo mostram que o uso de Ni, e Ni em combinação com o fungicida, apresentou um efeito significativo na atividade da enzima peroxidase (POD),

com uma interação significativa entre os fatores, dose, tratamento e na interação dose e tratamento, conforme indicado pela análise estatística (fatorial). Esses achados ressaltam a importância da concentração adequada de Ni, já que níveis excessivos podem afetar a atividade da POD e, conseqüentemente, a capacidade da planta em se defender contra patógenos como o fungo causador da FAS. Além disso, a interação entre Ni e fungicida sugere que o uso combinado desses agentes pode ter um efeito diferente na atividade da POD, em comparação com o uso isolado de Ni. Esses resultados são relevantes para a compreensão da eficácia e segurança do uso de Ni e fungicida como agentes de proteção contra a FAS em plantas de soja.

A resposta do sistema antioxidante peroxidase (POD) é frequentemente induzida em situações de estresse, uma vez que esta enzima desempenha uma função crucial na proteção das células contra reações oxidativas em diferentes tipos de tecidos vegetais. (MARAFON et al., 2009).

A exposição excessiva ao Ni afeta a atividade da enzima peroxidase (POD). Este efeito afeta os processos fisiológicos da planta, causando alterações nas funções celulares que estão envolvidas em vários processos fisiológicos vegetais, como reações de oxidação, lignificação da parede celular, oxidação de compostos fenólicos, ligações de polissacarídeos, cicatrização de ferimentos, resposta a injúrias mecânicas, biossíntese de etileno, desenvolvimento celular, integridade das membranas celulares e defesa contra patógenos (MARAFON et al., 2009).

A enzima peroxidase (POD) é uma enzima importante na defesa das plantas contra patógenos, incluindo a ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) (KAUR et al., 2022). A POD catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular, evitando a formação de espécies reativas de oxigênio que podem causar danos aos tecidos vegetais (BHATTACHARJEE, 2010).

Os estudos de Li et al. (2018) constataram que a aplicação de Ni em plantas de arroz aumentou a expressão de genes relacionados à defesa e levou a uma redução na severidade da infecção pelo fungo do brusone (*Magnaporthe oryzae*). Da mesma forma Li et al. (2019) mostraram que a aplicação de Ni em plantas de trigo aumentou a atividade das enzimas peroxidase e polifenol oxidase, que estão envolvidas na resposta de defesa da planta, e levou a uma redução na severidade causada pelo fungo da ferrugem do trigo (*Puccinia*

triticultura) indicando que as enzimas antioxidantes têm um papel importante na indução de resistência nas plantas.

Participando de uma ampla variedade de processos fisiológicos em plantas, como a lignificação, suberização, formação e reticulação de componentes da parede celular, catabolismo de auxinas, senescência e proteção contra o ataque de patógenos (HIRAGA et al., 2001), a atividade da enzima POD é regulada pela atividade da enzima SOD (Superóxido Dismutase), uma vez que a POD depende do peróxido de hidrogênio produzido pela SOD para atuar (BARREIROS et al., 2006).

Estudos têm mostrado que o uso de Ni pode aumentar a atividade da POD em plantas de soja, contribuindo para a melhoria da resistência das plantas à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (EINHARDT et al., 2022). Além disso, a aplicação do fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir) também pode elevar a atividade da POD, melhorando a capacidade das plantas de lidar com o estresse causado FAS (WU e VON, 2001).

No entanto, é importante destacar que essas descobertas podem variar em diferentes condições climáticas e ambientais, e que mais pesquisas são necessárias para confirmar os efeitos específicos do uso de Ni, e do Ni associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) na atividade da enzima POD em plantas de soja infectadas com a ferrugem asiática FAS (WU e VON, 2001).

Os resultados da análise estática em arranjo fatorial da enzima SOD, mostraram um efeito significativo do fator, dose, fator tratamento e uma interação significativa entre dose e tratamento, sugerindo que a uso de Ni e/ou Ni associado com o fungicida, teve um impacto na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Esses resultados indicam que as concentrações de Ni utilizadas no estudo pode afetar a atividade da SOD, o que é importante considerar ao avaliar o uso potencial de Ni como um agente de proteção contra a FAS. Além disso, a interação significativa entre dose e tratamento sugere que o uso combinado de Ni e fungicida pode ter um efeito diferente na atividade da SOD em comparação com o uso isolado de Ni.

A diminuição da atividade da POD pode ser explicada pela fitotoxicidade gerada pela aplicação de concentrações elevadas de Ni no estudo, com a exposição excessiva ao Ni afetando a atividade da SOD, e danificando a estrutura da enzima ou interferindo em sua

regulação. Essa condição pode levar ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, resultando em danos às células e consequente redução no desempenho fisiológico das plantas (CHEN et al., 2009).

A enzima superóxido dismutase - SOD é amplamente encontrada em organismos aeróbicos e em subcompartimentos celulares suscetíveis a um aumento da oxidação causado por estresse biótico ou abiótico (PAULA et al., 2021). É considerada uma das mais eficazes enzimas antioxidantes intracelulares. A superóxido dismutase desempenha um papel crucial como a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos de altos níveis de espécies reativas de oxigênio (GILL e TUTEJA, 2010).

A SOD catalisa a conversão do superóxido, um dos principais radicais livres produzidos durante o processo de respiração celular, em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (MITTLER, 2002). Além disso, a SOD também inibe a formação de espécies reativas de oxigênio, que são responsáveis por causar danos aos tecidos vegetais (DOMICIANO et al., 2015).

Em estudo publicado por Wu e Vont (2001), foi verificado que a aplicação do fungicida aumentou significativamente a atividade da enzima SOD em plantas de soja infectadas com a ferrugem asiática. Os autores sugerem que a atividade aumentada da SOD pode ser uma das vias pelas quais o fungicida azoxistrobina protege as plantas contra ataques fúngicos.

Em contraste, em outro estudo publicado por Liu et al. (2021), observou-se que a aplicação do fungicida difenoconazol afetou negativamente a atividade da enzima (SOD) em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). De acordo com os resultados do estudo, o uso do fungicida causou estresse oxidativo nas plantas, o que resultou na redução da biossíntese e das funções da clorofila e, por fim, inibiu o crescimento e o desenvolvimento das plantas de trigo.

A aplicação de Ni quando associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) pode ter um efeito significativo na atividade da enzima SOD na defesa das plantas de soja contra a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). De acordo com estudos recentes, o Ni pode aumentar a atividade da SOD, melhorando a capacidade das

plantas de combater o estresse oxidativo causado pelo ataque fúngico (BARCELOS et al., 2018).

A aplicação de Ni, e Ni associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) podem ser uma estratégia eficaz para aumentar a atividade da enzima SOD e melhorar a capacidade de defesa das plantas de soja contra a ferrugem asiática (LI et al., 2018). No entanto, ainda não é possível compreender plenamente os efeitos do Ni associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) nas atividades das enzimas SOD, POD e CAT e na sanidade das plantas de soja.

Além disso, as concentrações específicas desses compostos e seus efeitos na atividade das enzimas em diferentes genótipos de soja precisam ser consideradas. Outros fatores, como as condições climáticas e a presença de patógenos, também podem afetar a atividade das enzimas em plantas de soja.

Conforme apresentado na Figura 8 (D), as proteínas totais dos trifólios de soja (PROT), com a aplicação de Ni apresentaram um ajuste quadrático com o ponto máximo de PROT de $1,09 \text{ mg g}^{-1}$ proteína por MF, estimado na concentração de $66,68 \text{ g de Ni ha}^{-1}$. Com a aplicação do Ni, associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) a proteínas totais dos trifólios de soja com ajuste quadrático PROT – 1, mg g^{-1} proteína por MF, estimado na concentração $76,16 \text{ g de Ni ha}^{-1}$. Observou-se um ajuste quadrático, indicando um aumento na PROT até o ponto máximo, seguido de uma tendência a diminuição das proteínas totais dos trifólios de soja.

Os resultados apresentados na pesquisa apontaram que houve um efeito significativo do fator, dose, fator tratamento e uma interação significativa entre dose e tratamento (análise estatística em arranjo fatorial), o que indica que o uso de Ni, e Ni associado ao fungicida, teve um impacto no teor das proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). Esses achados sugerem que as diferentes concentrações de Ni utilizadas no experimento podem influenciar a PROT, o que deve ser considerado ao avaliar o potencial uso de Ni como um agente de proteção contra a FAS. Além disso, a interação significativa entre dose e tratamento sugere que a combinação do Ni com o fungicida pode ter um efeito diferenciado na PROT quando comparado com a utilização isolada do Ni.

Proteínas são compostas de cadeias de aminoácidos e são consideradas as macromoléculas biológicas mais abundantes na natureza. Encontradas em grande quantidade em uma única célula e são por ela produzidas. As proteínas têm a capacidade de gerar diversos produtos, como enzimas, hormônios e transportadores de moléculas (SOARES e MACHADO, 2007).

Apresentam funções estruturais e dinâmicas e participam em diversas reações bioquímicas com os catalisadores enzimáticos (ARANTES, 2008). Além disso, as proteínas também desempenham funções regulatórias tanto dentro quanto fora da célula, transmitindo informações para os componentes celulares e gerando forças mecânicas e eletroquímicas (VOET et al., 2008). Os aminoácidos são precursores de muitos metabólitos de plantas que estão relacionados à defesa vegetal. Eles são relevantes para as respostas locais e sistêmicas contra-ataques patogênicos nas plantas (ZHOU et al., 2015).

Na Tabela 1, GL apresentou uma correlação negativa forte com SPAD1. O índice SPAD baixo pode afetar negativamente o número de GL em plantas de soja (LAVRES, et al., 2016). Uma planta com um índice SPAD baixo pode ter uma menor concentração de clorofila, o que resulta em taxas reduzidas de fotossíntese nas plantas de soja (WANG et al., 2021).

O número de grão por legumes (GL) apresentou correlações fortes com 1000G e PROD. A quantidade de grãos por planta tem um efeito significativo na massa de mil grãos e, conseqüentemente, na produtividade. A presença de uma maior quantidade de grãos resulta em uma maior concentração de fotoassimilados em um número mais limitado de grãos, o que diminui a competição por nutrientes e, por conseguinte, aumenta a massa de mil grãos. Os resultados obtidos por Cruz et al. (2016) afirmam que o aumento da massa de mil grãos leva a um incremento na produtividade decorrente da menor competição por fotoassimilados.

Como a soja apresenta exigência de nitrogênio (N), para eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio, o Ni exerce função direta no metabolismo do N, contribuindo de forma efetiva na expressão gênica, ativando enzimas e proteínas, causando uma diferenciação das células (HERRIDGE e ROSE, 2000).

A SEV apresentou uma correlação extremamente forte com a AACPD e correlação forte negativa com a PROD, embora a severidade da doença tenha sido baixa, nos diferentes estádios fenológicos da planta. Quando a severidade alcançou níveis maiores houve um aumento da AACPD em resposta ao ataque da FAS, ocorreu uma resposta fisiológica da planta em que a demanda de fotoassimilados é elevada para formação de legumes e grãos e afetando a PROD (GAUNT, 1995).

A SEV e a ACPD apresentaram uma correlação extremamente forte com a CEL. Isso se deva ao aumento da resposta de defesa celular das plantas contra o fungo da FAS, aumentando a produção de celulose, que forma uma barreira física, impedindo a penetração do fungo, reduzindo a severidade da doença e a AACPD (MONAIM et al., 2012).

A massa de 1000G apresentou uma correlação forte com a HEM. Com o aumento nos teores de HEM em resposta ao ataque do fungo da FAS, teve uma maior quantidade de HEM livre. A HEM junto com o amido, são os principais carboidratos do grão de soja, sendo considerado um componente importante do endosperma, esses fatores influenciaram no desenvolvimento dos grãos de soja e conseqüentemente na massa de 1000G (MONAIM et al., 2012).

A CAT apresentou uma correção forte com a POD, a enzima CAT e POD são essenciais para a sanidade das plantas, pois sua função é degradar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), mantendo níveis seguros desse composto na célula. O H_2O_2 é produzido naturalmente pelas células vegetais em resposta a estresses ambientais e patógenos, e sua acumulação pode ser tóxica para a planta. Dessa forma, a CAT e a SOD são cruciais para garantir a integridade e a saúde da planta (FIALHO, 2008).

A PROD apresentou correlações fortes com a CEL e LIG, esses compostos encontrados nas paredes celulares das plantas, não estão diretamente relacionados à produtividade de soja, porém como visto neste estudo o uso do Ni e do Ni associado ao fungicida aumentaram os teores de celulose e lignina indicando que houve ativação de mecanismo de defesa vegetal, e elevando a produtividade.

A CEL e a LIG, apresentaram uma correlação forte entre si, esta correlação é uma resposta, onde as plantas podem produzir diferentes mecanismos para combater o ataque causado pelo fungo: acumulação de calose e lignina (HÉMATY et al., 2009).

O N apresentou correlações fortes com a CEL e LIG. O teor de N nos trifólios de soja pode ter um impacto significativo na produção de CEL, LIG, que são responsáveis pelas modificações que ocorrem na parede celular em resposta aos estímulos abióticos (N) e bióticos ataques de patógenos na planta patógenos (MONAIM et al., 2012).

O N apresentou correlações fortes com a PROD, visto que a soja apresenta exigência de nitrogênio (N), para eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio, contribuindo de forma efetiva na produtividade, ativando enzimas e proteínas, causando uma diferenciação das células (LINDSTRÖM, e MOUSASI, 2020; WANG et al., 2021).

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, é possível verificar que o Ni tem efeito tóxico e de ativação de respostas da planta contra o fungo *P. pachyrhizi*, como descrito anteriormente nos trabalhos de Mishra e Kar (1974) e Gerendas et al., (1999). Entretanto, o efeito do Ni de toxicidade e de ativação das defesas da soja do Ni sobre os esporos de fungos ainda não foi bem compreendido, sendo necessárias novas pesquisas para avaliar como o Ni atua na fisiologia e no metabolismo das plantas sobre os esporos de fungos fitopatogênicos.

Tabela 1- Legenda: Correlação de Pearson parâmetros avaliados nesse estudo, significativo a 5%* e 1%** de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$): AP – Altura de Planta; GL – Grãos por Legume; SEV – Severidade; AACPD – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença; SPAD1 – Primeiro Índice SPAD1 (Soil Plant Analysis Development); SPAD2 Segundo Índice SPAD (Soil Plant Analysis Development); 1000G- Massa de mil grãos corrigida; PROD- Produtividade toneladas por hectare t/ ha⁻¹; CEL – Celulose de trifólios (g kg⁻¹); HEM – Hemicelulose de trifólios (g kg⁻¹); LIG – Lignina de trifólios (g kg⁻¹); CAT - catalase (nmol min/mg prot); POD - peroxidase (μmol min/ mg prot); SOD – superóxido dismutase (U/mg prot); N – nitrogênio de trifólios (g kg⁻¹); Proteínas totais (PROT/mg de proteína por g de MF⁻¹).

	AP	GL	SEV	AACPD	SPAD1	SPAD2	1000G	PROD	CEL	HEM	LIG	CAT	POD	SOD	N	PROT
AP																
GL	0.37															
SEV	-0.53	-0.61														
AACPD	-0.56	-0.57	1.00**													
SPAD1	-0.13	-0.77**	0.65	0.60												
SPAD2	-0.19	0.25	-0.25	-0.26	-0.13											
1000G	0.22	0.75**	-0.14	-0.12	-0.55	-0.19										
PROD	0.65	0.81**	-0.70**	-0.67	-0.68	-0.17	0.65									
CEL	0.49	0.52	-0.85*	-0.83**	-0.68	0.09	0.02	0.71**								
HEMI	-0.01	0.44	0.16	0.18	-0.32	-0.25	0.90**	0.35	-0.35							
LIG	0.60	0.49	-0.54	-0.52	-0.68	-0.36	0.37	0.86**	0.77**	0.11						
CAT	0.16	-0.12	-0.17	-0.20	0.39	0.45	-0.39	-0.32	-0.05	-0.45	-0.43					
POD	0.42	0.24	-0.20	-0.22	0.10	0.19	0.16	0.12	-0.01	0.09	-0.01	0.71**				
SOD	0.82**	0.39	-0.39	-0.40	-0.18	0.01	0.13	0.55	0.51	-0.09	0.59	0.20	0.55			
N	0.62	0.64	-0.62	-0.60	-0.62	-0.27	0.46	0.89**	0.81**	0.14	0.96**	-0.29	0.13	0.60		
PROT	-0.24	0.09	0.06	0.04	0.24	0.60	0.06	-0.36	-0.49	0.20	-0.62	0.52	0.41	-0.24	-0.60	

4. CONCLUSÕES

A utilização de Ni aumentou linearmente os teores de CEL, HEM e lignina, diminuindo a severidade e a AACPD.

A aplicação de Ni foliar na concentração de 60 g ha⁻¹ resultou em menor área foliar lesionada, pela ferrugem asiática da soja e menor AACPD em soja. A concentração de 60 g ha⁻¹ proporcionou ainda as atividades máximas das enzimas CAT, SOD, POD e da PROT. Essas enzimas são reguladas pelo Ni e tem um importante papel fisiológico na redução da severidade da ferrugem na soja.

Não houve efeito significativo do uso do Ni e Ni associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) nas variáveis agronômicas, produtividade e índice SPAD (1 e 2).

REFERÊNCIAS

ALVES, V. M. Fungicidas protetores no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura. 2016. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

AOAC – **Association of Official Analytical Chemistry**. Official methods of analysis, ed. 19. Gaithersburg, 2016. 3000p.

ARANTES, G. M. Uma perspectiva computacional sobre catálise enzimática. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 377-383, 2008.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 1, p. 280-292, 1998.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. D. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, v.3, p. 453-460, 2014.

BARCELOS, J. P. Q.; REIS, H. P. G.; GODOY, C. V.; GRATÃO, P. L.; FURLANI JUNIOR, E.; PUTTI, F. F.; REIS, A. R. Impact of foliar nickel application on urease activity, antioxidant metabolism and control of powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) in soybean plants. **Plant Pathology**, v. 67, n. 7, p. 1502-1513, 2018.

BARREIROS, A. L. B.S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n.1, p. 113-123, 2006.

BERTON, R. S.; PIRES, A. M. M.; ANDRADE, S. A. L. D.; ABREU, C. A. D.; AMBROSANO, E. J.; SILVEIRA, A. P. D. D. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1305-1312, 2006.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, v. 1, p. 1-30, 2010.

Bhering, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017.

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

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

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**, 01 ed. New York: John Wiley, 1990. 532p.

CANTU, D.; VICENTE, A. R.; GREVE, L. C.; DEWEY, F. M.; BENNETT, A. B.; LABAVITCH, J. M.; POWELL, A. L. T. The intersection between cell wall disassembly, ripening, and fruit susceptibility to *Botrytis cinerea*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 3, p. 859-864, 2008.

CHECHI, A.; FORCELINI, C. A.; BOLLER, W. Volumes de calda e doses de fungicidas no controle da ferrugem-asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 3, p. 255-260, 2019.

CHEN, C.; HUANG, D.; LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. **Clean-soil, air, water**, v. 37, n. 4-5, p. 304-313, 2009.

CHOWDHURY, J.; LÜCK, S.; RAJARAMAN, J.; DOUCHKOV, D.; SHIRLEY, N. J.; SCHWERDT, J. G.; LITTLE, A. Altered expression of genes implicated in xylan biosynthesis affects penetration resistance against powdery mildew. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 445, 2017.

CONAB. **Acompanhamento da Safra de Grãos 2021/2022**. 2022. Retrieved from <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/2022>>

CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM. **Parceria público-privada no combate à ferrugem asiática da soja**. Disponível em:< consorcioantiferrugem.net/#/main>. Acesso: 20 fev. 2023.

COS-GROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 11, p. 850-861, 2005.

CRUZ, S. C. S.; SENA-JUNIOR, D. G.; SANTOS, D. M. A.; LUNEZZO, L. O.; MACHADO, C. G. Cultivo de soja sob diferentes densidades de semeadura e arranjos espaciais. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2016.

DELGADO-CEREZO, M.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, C.; ESCUDERO, V.; MIEDES, E.; FERNÁNDEZ, P. V.; JORDÁ, L.; MOLINA, A. *Arabidopsis* heterotrimeric G-protein regulates cell wall defense and resistance to necrotrophic fungi. **Molecular plant**, v. 5, n. 1, p. 98-114, 2012.

DERBALAH, A. S. H.; ELSHARKAWY, M. M. A new strategy to control cucumber mosaic virus using fabricated NiO-nanostructures. **Journal of Biotechnology**, v. 306, n.1, p. 134-141, 2019.

DETMANN, E.; SOUZA, M. D.; VALADARES FILHO, S. D. C.; QUEIROZ, A. D.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. D. O.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para análise de**

alimentos-INCT-Ciência Animal Suprema. ed. 1. Viçosa: Visconde do Rio Branco, 2012. p. 93.

DIXON, N. E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5. 1.5). Metalloenzyme. Simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 14, p. 4131-4133, 1975.

DOMICIANO, G. P.; CACIQUE, I. S.; CHAGAS FREITAS, C.; FILIPPI, M. C. C.; DAMATTA, F. M.; DO VALE, F. X. R.; RODRIGUES, F. Á. Alterations in gas exchange and oxidative metabolism in rice leaves infected by *Pyricularia oryzae* are attenuated by silicon. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 738-747, 2015.

DOUCHKOV, D.; LUECK, S.; HENSEL, G.; KUMLEHN, J.; RAJARAMAN, J.; JOHRDE, A.; SCHWEIZER, P. The barley (*Hordeum vulgare*) cellulose synthase-like D2 gene (HvCslD2) mediates penetration resistance to host-adapted and nonhost isolates of the powdery mildew fungus. **New Phytologist**, v. 212, n. 2, p. 421-433, 2016.

DOUSSEAU, G.; BLIGNY, R.; SANCHEZ-MORENO, S. Nickel and other metal ions as elicitors of plant metabolic responses. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.1, p. 174-195, 2016.

EINHARDT, A. M.; FERREIRA, S.; HAWERROTH, C.; VALADARES, S. V.; RODRIGUES, F. Á. Nickel potentiates soybean resistance against infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 849-859, 2020.

EINHARDT, A. M.; OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, S.; ARAÚJO, W. L.; MEDEIROS, D. B.; FERNIE, A. R.; RODRIGUES, F. Á. Defense responses and oxidative metabolism of glyphosate-resistant soybean plants infected by *Phakopsora pachyrhizi* modulated by glyphosate and nickel. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 118, n.1, p. 101817, 2022.

EMBRAPA. **BRS Zuri, produção e resistência para a agropecuária**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2013, 2p.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Dourados-MS, 2021. Disponível em:<< <https://clima.cpao.embrapa.br>>> Acesso em: 15 fev. 2023.

ENDLER, A.; PERSSON, S. Cellulose synthases and synthesis in *Arabidopsis*. **Molecular Plant**, v. 4, n. 2, p. 199-211, 2011.

FABIANO, C. C.; TEZOTTO, T.; FAVARIN J. L.; POLACCO, J. C.; MAZZAFERA, P. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 754, p. 01-04, 2015.

FARROKHI, N.; BURTON, R. A.; BROWNFIELD, L.; HRMOVA, M.; WILSON, S. M.; BACIC, A.; FINCHER, G. B. Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes. **Plant Biotechnology Journal**, v. 4, n. 2, p. 145-167, 2006.

FERREIRA, L. L.; CARVALHO, I. R.; AMARAL, D. T. T.; FERNANDES, M. S.; PRADO, R. L. F.; CARRIJO, N. S.; LORO, M. V. Nutritional management in soybean crop for high yields using organomineral fertilizers. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.8, n. 1, p. 1-15, 2022.

FIALHO, M. B. **Mecanismos de ação de compostos orgânicos voláteis antimicrobianos produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da pinta preta dos citros**. 2008. Tese (Doutorado)- Microbiologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura, Luiz de Queiroz, São Paulo. 2008.

FOURIE, A.; DE JONGE, R.; VAN DER NEST, M. A.; DUONG, T. A.; WINGFIELD, M. J.; WINGFIELD, B. D.; BARNES, I. Genome comparisons suggest an association between *Ceratocystis* host adaptations and effector clusters in unique transposable element families. **Fungal Genetics and Biology**, v. 143, n.1, p. 103433, 2020.

GAJEWSKA, E.; SKŁODOWSKA, M.; SŁABA, M.; MAZUR, J. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. **Biologia Plantarum**, v. 50, n.1, p. 653-659, 2006.

GAUNT, R. E. The relationship between plant disease severity and yield. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, n. 1, p. 119-144, 1995.

GERENDAS, J.; POLACCO, J. C.; FREYERMUTH, S. K.; SATTELMACHER, B. Significance of nickel for plant growth and metabolism. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, Weinheim, v. 162, n. 3, p. 241 - 256, 1999.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxidedismutases: I. Occurrence in higherplants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n.12, p. 909-930, 2010.

GILLSON, A. M. E.; GLOVER, S. A.; TUCKER, D. J.; TURNER, P. Crystal structures and properties of mutagenic N-acyloxy-N-alkoxyamides— “Most pyramidal” acyclic amides. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 19, p. 3430-3437, 2003.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n.1, p. 63-68, 2006.

HAMANN, T.; BENNETT, M.; MANSFIELD, J.; SOMERVILLE, C. Identification of cell-wall stress as a hexose-dependent and osmosensitive regulator of plant responses. **The Plant Journal**, v. 57, n. 6, p. 1015-1026, 2009.

HÉMATY, K.; CHERK, C.; SOMERVILLE, S. Host–pathogen warfare at the plant cell wall. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 4, p. 406-413, 2009.

HERRIDGE, D.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, v. 65, p. 229-248, 2000.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; HIROYUKI, I.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidase. **Plant Cell Physiology**, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

KAUR, S.; SAMOTA, M. K.; CHOUDHARY, M.; CHOUDHARY, M.; PANDEY, A. K.; SHARMA, A.; THAKUR, J. How do plants defend themselves against pathogens- Biochemical mechanisms and genetic interventions. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 28, n. 2, p. 485-504, 2022.

KRUPA, Z.; SIEDLECKA, A.; MAKSYMIEC, W.; BASZYNSKI, Y.T. In vivo response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v.142, p.664-668, 1993.

KUMAR, S.; ABEDIN, M. M.; SINGH, A. K.; DAS, S. Role of phenolic compounds in plant-defensive mechanisms. **Plant Phenolics in Sustainable Agriculture**, v.1, n.1, p. 517-532, 2020.

LAVRES, J.; CASTRO FRANCO, G.; DE SOUSA CÂMARA, G. M. Soybean seed treatment with nickel improves biological nitrogen fixation and urease activity. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, n.1, p. 37, 2016.

LEŠKOVÁ, A.; ZVARÍK, M.; ARAYA, T.; GIEHL, R. F. Nickel toxicity targets cell wall-related processes and PIN2-mediated auxin transport to inhibit root elongation and gravitropic responses in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 61, n. 3, p. 519-535, 2020.

LI, J.; LI, Y.; LI, L.; LI, X.; LI, X. Lignin biosynthesis and regulation in plants. **Plant Journal**, v.100, n.1, p. 3-20, 2019.

LI, J.; XU, J.; QIN, Y.; LI, Q.; QIN, X. Nickel in agriculture: Functions, mechanisms, and implications. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n.1, p. 779-799, 2018.

LINDSTRÖM, K.; MOUSAVI, S. A. Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. **Microbial Biotechnology**, v.13, n.5, p. 1314-1335, 2020.

LIU, R.; LI, J.; ZHANG, L.; FENG, T.; ZHANG, Z.; ZHANG, B. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2304, 2021.

MACHADO, L. R. A.; OLIVEIRA, A. B.; MARIANO, R. L.; MARIANO, A. R. Fungicidas registrados para o controle da ferrugem da soja no Brasil. **Agronomia**, v.10, n. 1, p. 69-76, 2021.

MAMENKO, T. P.; KHOMENKO, Y. O.; KOTS, S. Y. A. Influence of fungicides on activities of enzymes of phenolic metabolism in the early stages of formation and functioning of soybean symbiotic apparatus. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 1, p. 111-116, 2019.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G.; BACARIN, M. A.; HAWERROTH, F. J. Atividade da peroxidase durante o período hibernar de plantas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch.) cv. Jubileu com e sem sintomas da morte precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 938-942, 2009.

MATTEI, E.; DE OLIVEIRA, P. S. R.; RAMPIM, L.; DE MORAES REGO, C. A. R.; BARTZEN, B. T.; VENGEN, A. P. Características agronômicas e produtividade da soja em sistema de integração lavoura-pecuária. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e7909109114-e7909109114, 2020.

MISHRA, D.; KAR, M. Nickel in plant growth and metabolism. **Botanical Review**. v. 40, n. 4, p. 395 - 452, 1974.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MONAIM, A. M. F.; ISMAIL, M. E.; MORSI, K. M. Induction of systemic resistance in soybean plants against *Fusarium* wilts disease by seed treatment with benzothiadiazole and humic acid. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n. 10, p.2454-2465, 2012.

PADILHA, N. S.; CECCON, G.; ALVES, V. B.; NETO, A. L. N.; DA SILVA, J. F.; MAKINO, P. A. Soybean yield in succession to single and intercropping corn and brachiaria and submitted to different irrigation intervals. **Revista Engenharia na Agricultura-Reveng**, v. 29, n. 1, p. 66-80, 2021.

PAULA, S. de; HOLZ, S.; SOUZA, D. H. G.; PASCHOLATI, S. F. Potential of resistance inducers for soybean rust management. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 43, n. sup2, p. S298-S307, 2021.

PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; STEWART, C. R. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 105, n. 2, p. 619-627, 1994.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical. 2020.

RAMÍREZ, V.; AGORIO, A.; COEGO, A.; GARCÍA-ANDRADE, J.; HERNÁNDEZ, M. J.; BALAGUER, B.; VERA, P. MYB46 modulates disease susceptibility to *Botrytis cinerea* in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 4, p. 1920-1935, 2011.

RANADE, S. S.; SEIPEL, G.; GORZSÁS, A.; GARCÍA-GIL, M. R. Enhanced lignin synthesis and ecotypic variation in defense-related gene expression in response to shade in Norway spruce. **Plant, Cell & Environment**, v. 45, n. 9, p. 2671-2681, 2022.

REIS, A. R.; TABELI, K.; SAKAKIBARA, Y. Oxidation mechanism and overall removal rates of endocrine disrupting chemicals by aquatic plants. **Journal of Hazardous Materials** v.265, n.1, p.79-88, 2014.

SAKAMOTO, T.; BRYANT, D. A. Requirement of nickel as an essential micronutrient for the utilization of urea in the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002. **Microbes and Environments**, v. 16, n. 3, p. 177-184, 2001.

SAMPEDRO, J.; PARDO, B.; GIANZO, C.; GUITIÁN, E.; REVILLA, G.; ZARRA, I. Lack of α -xylosidase activity in *Arabidopsis* alters xyloglucan composition and results in growth defects. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 1105-1115, 2010.

SCHELLER, H. V.; ULVSKOV, P. Peter. Hemicelluloses. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 263-289, 2010.

SCHULZE, B.; MENTZEL, T.; JEHLE, A. K.; MUELLER, K.; BEELER, S.; BOLLER, T.; CHINCHILLA, D. Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 13, p. 9444-9451, 2010.

SIEGBAHN, P. E.; CHEN, S. L.; LIAO, R. Z. Theoretical studies of nickel-dependent enzymes. **Inorganics**. v.7, n. 8, p. 95- 119, 2019.

SIQUEIRA, F. D.; WURR, R. B.; RODRIGUES, D. R. A.; BARROS, R. F.; SOARES, D. C. T.; SCHULZE, J.; GUIMARAES, G. L. R. Hidden nickel deficiency? Nickel fertilization via soil improves nitrogen metabolism and grain yield in soybean genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 614, 2018.

SIRHINDI, G.; MIR, M. A.; ABD-ALLAH, E. F.; AHMAD, P.; GUCEL, S. Jasmonic acid modulates the physio-biochemical attributes, antioxidant enzyme activity, and gene expression in *Glycine max* under nickel toxicity. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 591, 2016.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

SOBRAL, M. C. A; DA SILVA, W. F. Níquel na Agricultura: Uma Revisão de Literatura. **Revista Agroveterinária, Negócios e Tecnologias**, v. 6, n.2, p. 50-59, 2021.

SYSTAT SOFTWARE Inc. **SigmaPlot versão 12.5**. San Jose, California, 2013.

TSUKAHARA, R.Y.; HIKISHIMA, M.; CANTERI, M. G. Relações entre o clima e o progresso da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em duas micro-regiões do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 47-52, 2008.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. determination of plant cell-wall constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 50, p. 50-55, 1967.

VAN SOEST, P. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of official Agricultural Chemists**, v. 46, n. 5, p. 829-835, 1963.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p. 93.

WAN, J.; HE, M.; HOU, Q.; ZOU, L.; YANG, Y.; WEI, Y.; CHEN, X. Cell wall associated immunity in plants. **Stress Biology**, v. 1, n. 1, p. 3, 2021.

WANG, C.; ZHOU, L.; ZHANG, G.; GAO, J.; PENG, F.; ZHANG, C.; SHAO, M. Responses of photosynthetic characteristics and dry matter formation in waxy sorghum to row ratio configurations in waxy sorghum-soybean intercropping systems. **Field Crops Research**, v. 263, n.1, p. 108077, 2021.

WU, Y.; VON, T. A. Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2001.

XU, J.; JIA, W.; HU, C.; NIE, M.; MING, J.; CHENG, Q.; ZHAO, X. Selenium as a potential fungicide could protect oilseed rape leaves from *Sclerotinia sclerotiorum* infection. *Environmental Pollution*, v. 257, p. 113495, 2020.

YOKOYAMA, A. H.; RIBEIRO, R. H.; JUNIOR, A. A. B.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; ZUCARELI, C. Índices de área foliar e SPAD da soja em função de culturas de entressafra e nitrogênio e sua relação com a produtividade. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 953-962, 2018.

YU, L., LIU, J., LIU, X., YU, L. Effect of Ni²⁺ on the activity of urease and the efficacy of azoxystrobin in controlling soybean fungal diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.90, n.3, p. 169-175, 2008.

ZHOU, S.; LOU, Y. R.; TZIN, V.; JANDER, G. Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory, **Plant Physiology**, v. 169, n. 3, p. 1488-1498, 2015.

CAPÍTULO II

SELÊNIO E SUA ASSOCIAÇÃO AO FUNGICIDA (AZOXISTROBINA + BENZOVINDIFLUPIR) NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*) E SEUS EFEITOS BIOQUÍMICOS NA CULTURA DA SOJA

RESUMO: O selênio é um micronutriente que precisa ser estudado como indutor de resistência na ativação de mecanismos de defesa contra ferrugem asiática. O objetivo desse estudo foi verificar o efeito do Se, e do Se com associação com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) no controle do fungo *P. pachyrhizi* e seus efeitos bioquímicos, e componentes agrônômicos e produtividade na cultura da soja, na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados-MS. O ensaio foi conduzido em DBC-delineamento de blocos ao acaso, em arranjo fatorial 6x2, seis concentrações de Se, com e sem associação de fungicida e 4 repetições, sendo as concentrações de Se (0; 10; 20; 30; 40 e 50 g ha⁻¹) utilizando Selenito de sódio (Na₂SeO₃), e com a concentração de 200 g ha⁻¹ do fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) aplicados durante estágio fenológico R1 da soja. Foram avaliados: A severidade da doença (SEV), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), massa de mil grãos (1000G), produtividade por hectare (PROD), nitrogênio de trifólios de soja (N), altura de plantas (AP), grãos por legumes (GL), índice SPAD - 1 e 2, celulose (CEL), hemicelulose (HEM), lignina de trifólios de soja (LIG), catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). O Se associado ao fungicida apresentou redução de 78,26% nos índices de severidade e conseqüentemente da AACPD em comparação com o Se isolado. Para a massa de 1000G, não apresentou diferenças significativas para os fatores, dose, bloco e a interação entre dose e tratamento do Se, isolado e do Se associado com fungicida. No entanto, o fator tratamento foi significativo de acordo com o teste de Fisher (LSD) com um nível de significância de 5%. Para a variável N e GL, o fator dose, tratamento, bloco e a interação entre dose e tratamento do Se, isolado e do Se associado com o fungicida, não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas. A AP e o SPAD-1 apresentaram ajustes lineares negativos em relação à aplicação do selênio, tanto isoladamente quanto em conjunto com o fungicida. Os tratamentos de Se, e Se associado ao fungicida, levou a um aumento nos teores de celulose (CEL) e hemicelulose (HEM), nos trifólios de soja, respondendo com ajuste linear aos tratamentos. Entretanto para a lignina os resultados não foram significativos, conforme a análise estatística em arranjo fatorial. As enzimas CAT, POD, SOD e a PROT, apresaram ajuste quadráticos para o tratamento Se, e Se combinado com o fungicida, indicando um aumento até o ponto máximo, seguido de uma tendência a redução nos trifólios de soja, podendo ser causada pelo efeito de toxidez do Se.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças fúngicas, elicitor, enzimas antioxidantes, micronutrientes.

SELENIUM AND ITS ASSOCIATION TO THE FUNGICIDE (AZOXYSTROBIN + BENZOVINDIFLUPIR) IN THE CONTROL OF ASIAN RUST (*Phakopsora pachyrhizi*) AND ITS BIOCHEMICAL EFFECTS IN SOYBEAN CROP

ABSTRACT: Selenium is a micronutrient that needs to be studied as a resistance inducer in the activation of defense mechanisms against Asian rust. The objective of this study was to verify the effect of Se, and of Se associated with a fungicide (Azoxystrobin + Benzovindiflupir) in the control of the fungus *P. pachyrhizi* and its biochemical effects, and agronomic components and productivity in the soybean crop, at the Experimental Farm of Faculdade of Agricultural Sciences (FAECA) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD), in Dourados-MS. The assay was conducted in DBC-randomized block design, in a 6x2 factorial arrangement, 12 treatments with and without fungicide association and 4 replications, with Se concentrations (0; 10; 20; 30; 40 and 50 g ha⁻¹) using sodium selenite (Na₂SeO₃), and with a concentration of 200 g ha⁻¹ of the fungicide (Azoxystrobin + Benzovindiflupir) applied during the soybean phenological stage R1. The following were evaluated: disease severity (SEV), area under the disease progress curve (AUDPC), thousand grain mass (1000G), productivity per hectare (PROD), soybean trefoil nitrogen (N), plant height (AP), Grain per Leg (GL), SPAD Index - 1 and 2, Cellulose (CEL), Hemicellulose (HEM), Soybean Trefoil Lignin (LIG), Catalase (CAT), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and total soybean protein (PROT). Se associated with fungicide showed a reduction in severity indices and, consequently, in AUDPC compared to Se alone. For the mass of 1000G, there were no significant differences for the factors, dose, block and the interaction between dose and treatment of Se, isolated and of Se associated with fungicide (Azoxystrobin + Benzovindiflupir). However, the treatment factor was significant according to Fisher's test (LSD) with a significance level of 5%. For the variable N and GL, the factor dose, treatment, block and the interaction between dose and treatment of Se, isolated and of Se associated with the fungicide, did not show statistically significant differences. AP and SPAD-1 showed negative linear adjustments in relation to the application of selenium, both alone and together with the fungicide. The Se treatments, and Se associated with the fungicide, led to an increase in the cellulose (CEL) and hemicellulose (HEM) contents in soybean trefoils, responding with a linear adjustment to the treatments. However, for lignin, the results were not significant, according to the statistical analysis in a factorial arrangement. The CAT, POD, SOD and PROT enzymes showed a quadratic adjustment for the Se, and Se treatment combined with the fungicide, indicating an increase to the maximum point, followed by a tendency to increase in soybean trefoils, possibly be caused by the toxic effect of Se.

KEYWORDS: Fungals diseases, elicitors, antioxidative enzymes, micronutrients.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* [L.] Merrill) destaca-se no Brasil por ser a principal cultura agrícola em extensão de área cultivada e em produção (RAETANO et al., 2022). Entretanto, a ocorrência de doenças, como a ferrugem asiática da soja (FAS), tem causado preocupação aos produtores e pesquisadores e levado à busca de alternativas, ao uso de fungicidas químicos, menos prejudiciais ao meio ambiente e que reduzam o risco de resistência dos patógenos (ONS et al., 2020).

A FAS, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd é uma das principais doenças que ocorrem na cultura da soja, pode causar grandes prejuízos nas áreas atingidas e em condições favoráveis ao seu crescimento e desenvolvimento, pode se disseminar rapidamente, devido a sua alta agressividade (MEIRA et al., 2020).

Os fungicidas pertencentes aos grupos “triazóis”, “estrobilurinas” e “carboxamidas” têm mostrado um menor efeito contra o fungo *Phakopsora pachyrhizi*, mostrando populações menos sensíveis a esses grupos de fungicidas (BRASIL, 2022). Aplicações sucessivas destes grupos (“triazóis”, “estrobilurinas” e “carboxamidas”) de fungicidas, aumentaram a pressão de seleção para a resistência, causando resistência do fungo, acelerando o processo de seleção de populações resistentes, dificultando o manejo da doença (MACHADO et al., 2021).

Uma possibilidade para o controle da ferrugem asiática da soja, que necessita ser estudada, é o uso do selênio (Se) como indutor de resistência na ativação de mecanismos de defesa contra o fungo *P. pachyrhizi*, associado ou não com fungicidas no controle da ferrugem asiática. De acordo com alguns estudos realizados por pesquisadores, Xu et al. (2020) encontraram que a aplicação de Se na dose 0,5 mg/kg Se via solo, melhorou a resistência da colza, contra o fungo *S. sclerotiorum* e Joshi et al., (2019) verificaram que concentrações de 50 e 100 ppm de Se foram capazes de inibir a infecção de *Colletotrichum capsici* e *Alternaria solani* em folhas de pimentão e tomate.

As pesquisas, em geral, sobre Se, atribuem a ele diferentes funções, levando em condição a espécie vegetal estudada, método de aplicação, como, antioxidante putativo,

elemento químico essencial, micronutriente e indutor de resistência (GOLOB et al., 2017).

Por não ser um elemento considerado essencial para as plantas, normalmente não há suplementação usando selênio nas plantas. A utilização desse micronutriente pode influenciar o crescimento das plantas, por meio do aumento da absorção de nutrientes, clorofila e conseqüentemente na fotossíntese, além de influenciar na síntese enzimática do sistema antioxidantes das plantas (XU, et al., 2020).

Com o aumento da produção de soja e sua importância no mercado nacional e internacional, há uma busca crescente por alternativas que reduzam o efeito da FAS sobre o seu rendimento, sem prejudicar o meio ambiente, e reduzindo o risco de contaminação por produtos químicos do solo e dos leitos de água (CHAUHAN et al., 2017).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito se no controle da FAS, bem como os seus efeitos nos componentes agrônômicos, bioquímicos e na produtividade da cultura da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área experimental

O ensaio foi conduzido de 14 de outubro de 2020 a 28 de fevereiro de 2021, na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no município de Dourados-MS. O local situa-se sobre a latitude 22° 14' S e longitude 54° 49' W e 452 m de altitude. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (EMBRAPA, 2013). Conforme a classificação de Köppen, o clima da região é classificado como temperado úmido com inverno seco e verão quente (Cwa).

O ensaio foi conduzido em sistema de plantio direto, sobre os restos culturas do milho, utilizando 300 kg de 0-20-20 (N-P-K) de adubo. As sementes foram tratadas previamente com piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil, sendo efetuada inoculação a base de turfa com bactérias *Bradyrhizobium japonicum*.

A semeadura foi realizada utilizando uma semeadora-adubadora da marca Jumil, adequada para plantio direto, visando um stand de plantas de 340.000 ha⁻¹. Foi utilizada a cultivar Monsoy 6410 IPRO e as unidades experimentais foram compostas por seis linhas de semeadura de soja, com espaçamento de 0,45 m e 6 metros de comprimento (16,2 m²). Para as avaliações, foram consideradas as duas linhas centrais, descartando-se 0,5 metro de cada extremidade da unidade experimental.

O Se sem e com associação ao fungicida, foram diluídos em água limpa e aplicados com auxílio de um pulverizador costal pressurizado por CO₂, acoplado a uma barra de pulverização com 2 m de largura útil e quatro pontas do tipo jato plano (XR 110.02). As características climáticas da área utilizada, durante o período do ensaio podem ser observadas na Figura 1.

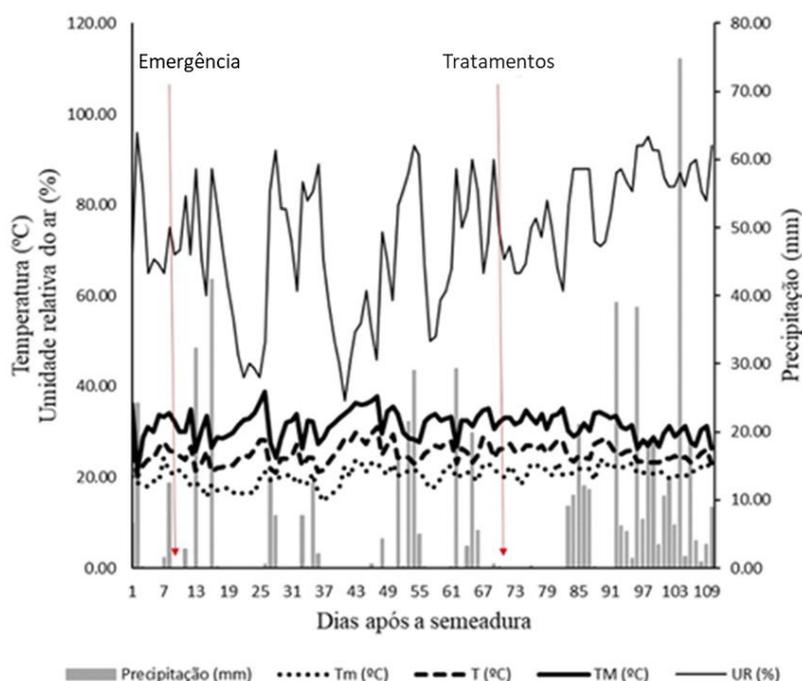


Figura 1. Precipitação pluviométrica acumulada (mm) e temperaturas máxima (TM), média (T) e mínima (Tm), em °C, registradas durante o cultivo da soja 2020/2021, em Dourados, MS. Fonte: EMBRAPA (2021).

2.2. Delineamento experimental e tratamentos

O ensaio foi conduzido em DBC - delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2 com 12 tratamentos com Selênio (Se), de forma isolada e associado ao fungicida, sendo as concentrações de Se (0; 10; 20; 30; 40 e 50 g ha⁻¹) utilizando selenito

de sódio (Na_2SeO_3), e com a concentração de 200 g ha^{-1} do fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) marca comercial ELATUS®, aplicados durante estágio fenológico R1 da soja.

2.3. Variáveis Analisadas

O índice de clorofila

O índice foi quantificado por meio do SPAD (Soil Plant Analysis Development) no folíolo central do terceiro trifólio totalmente aberto do ápice para a base da planta (YOKOYAMA et al., 2018) em avaliações realizadas aos 21 (SPAD1) e 35 (SPAD2) dias após os tratamentos. Utilizou-se três folhas do ápice para a base de 10 plantas por tratamento, evitando as nervuras.

A avaliação de severidade

Para avaliação de severidade (SEV) da ferrugem asiática, foram realizadas seis coletas semanais de 20 folíolos de cada parcela do terço médio e inferior. As amostragens iniciaram-se aos 14 dias após a aplicação. Posteriormente, determinou-se a área foliar lesionada pelo patógeno. A severidade de ferrugem asiática, expressa pela área foliar lesionada, foi estimada utilizando-se escala diagramática de Godoy et al. (2006), mostrada na Figura 2.

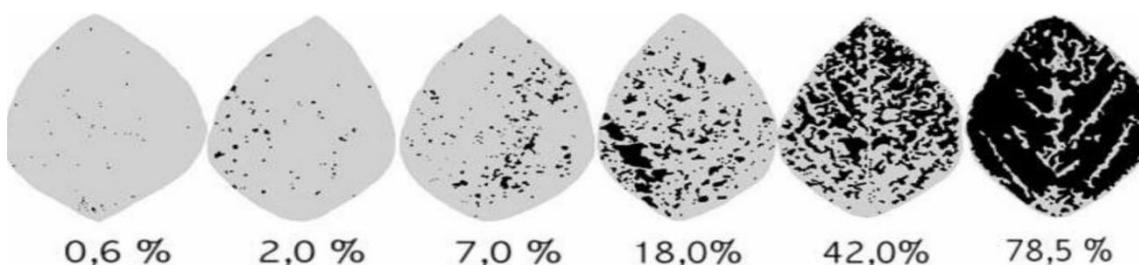


Figura 2. Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem asiática da soja (GODOY et al., 2006).

Area da curva de progresso de doença

Os valores de severidade média de cada parcela foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença, a AACPD, (CAMPBELL e MADDEN,

1990). AACPD foi calculada pela fórmula: $AACPD = i \sum_{n=1}^{n-1} [(x_i + x_{i+1})] / 2 (t_{i+1} - t_i)$, onde n é o número de avaliações, x é a severidade da doença e $(t_{i+1} - t_i)$ é o intervalo de tempo entre duas avaliações consecutivas. O valor da AACPD sintetiza todas as avaliações de severidade da doença em um único valor.

Componentes agronômicos e produtividade da soja

Foram avaliadas o número de grão por legumes (GL) e a altura da planta (AP), dada pela distância do colo da planta até a extremidade da haste principal em cm, sendo utilizadas dez plantas aleatoriamente por unidade experimental para todas as variáveis no estágio fenológico R8 (PADILHA, 2021).

Após a colheita manual das plantas localizadas, no estágio fenológico R8, as plantas foram trilhadas e os grãos peneirados para a retirada de impurezas. Posteriormente, os grãos foram pesados em balança digital. Foi estimado a massa de mil grãos (1000G) foi estimada pela pesagem de oito amostras contendo 100 sementes de cada unidade experimental e fazendo a média das amostras e realizando a correção da umidade para 13% RAS (BRASIL, 2009). Após a aferição da massa e determinação de umidade foi obtida a produtividade e convertida em toneladas por hectare (PROD) (MATTEI et al., 2020).

Análises Laboratoriais

As análises foram processadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia e as análises bioquímicas foram realizadas no laboratório de Zootecnia Geral e para as análises de determinação de lignina, celulose e hemicelulose utilizou-se o laboratório de Forragicultura Geral na Unidade II da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada no município de Dourados – MS.

Coleta do material

Uma coleta de trifólios de soja foi realizada aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos, no estágio R2, sendo coletado o primeiro trifólio totalmente expandido de 15 plantas de cada unidade experimental, que foram condicionados em nitrogênio líquido, e utilizados para quantificação do conteúdo de catalase (CAT), superóxido dismutase

(SOD), peroxidase (POD) e proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). Esses materiais foram macerados em N líquido e armazenados em freezer até serem processadas as análises.

Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase (CAT) foi avaliada por meio da análise da degradação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), utilizando o método descrito por Azevedo et al. (1998). Para realizar a análise, adicionou-se 1 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,5) e 2 μ L de H_2O_2 (30%) em cada tubo de ensaio. Em seguida, adicionou-se 150 μ L de extrato de proteína e os tubos foram imediatamente misturados por vórtex. A atividade enzimática foi medida pela quantificação da decomposição de H_2O_2 em um intervalo de tempo de 2 minutos, utilizando um espectrofotômetro com o comprimento de onda de 240 nm, a 25 °C. Os resultados foram expressos em μ M $min^{-1} mg^{-1}$ de proteína.

Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi avaliada conforme o método descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Para realizar o teste, 50 μ L da amostra foram adicionados a uma mistura contendo 5 mL de tampão fosfato de sódio (50 mmol/L, pH 7,8), metionina (13 mmol/L), NBT (75 mmol/L), EDTA (0,1 mmol/L) e riboflavina (2 μ mol/L). Os tubos de ensaio foram colocados dentro de uma câmara de reação (caixa) e submetidos à iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W a 25 °C, por um período de 15 minutos. Durante esse tempo, ocorreu a formação do composto formazano azul produzido pela fotorreação do NBT. Para cada amostra, também foram preparados tubos de ensaio contendo a mesma mistura, porém cobertos com papel alumínio para evitar a exposição à luz, e esses tubos foram utilizados como controles. Após os 15 minutos, as amostras foram homogeneizadas por vórtex e as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram expressos como proteína U SOD mg^{-1} .

Peroxidase (POD)

O método utilizado para determinar a atividade da enzima peroxidase (POD) nos tecidos foliares da soja foi o descrito por Reis et al. (2014). Após o processo de extração enzimática dos tecidos foliares, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL dos extratos teciduais

e adicionadas a 0,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 6,7), 0,5 mL de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) e 0,5 mL de aminoantipirina. Os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria a 30 °C por 5 minutos e, após a incubação, 2 mL de etanol foram adicionados para interromper a reação. As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, agitadas em vórtex e lidas em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 505 nm. Como controle, o extrato enzimático foi substituído por tampão fosfato de potássio 0,2 M (pH 6,7). A atividade enzimática total foi expressa em μmol de H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

Proteínas totais dos trifólios de soja

A concentração de proteínas solúveis totais foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA (albumina de soro bovino) como padrão. 100 μL da alíquota da amostra e 5 mL do reagente de Bradford pré-preparado foram pipetados em tubos de ensaio. A absorbância foi medida a 595 nm usando um espectrofotômetro, e os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de proteína MF. Os valores de proteína foram utilizados para calcular as concentrações de enzimas antioxidantes.

Determinação de Lignina, Celulose e Hemicelulose

Após a colheita dos trifólios de soja no estágio R2, doze dias após a aplicação dos tratamentos, foi coletado o primeiro trifólio recém expandido de 15 plantas de cada unidade experimental. As amostras foram homogeneizadas e levadas para pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55° C por 72h e após este período foram moídas em moinho do tipo Willey a 1 mm, em triplicada, para determinação dos teores de nitrogênio, lignina, hemicelulose e celulose.

Foi empregado o método de autoclavagem descrito por Detmann et al. (2012) para análise dos resíduos de FDN ou FDA. Os sacos de amostra foram confeccionados com TNT (tecido não tecido), medindo 5x4 cm, secos em estufa a 105°C por 3 horas, e identificados com lápis. Cada saco foi preenchido com 0,5 g de amostra e selado. Em seguida, os sacos foram colocados em potes de plástico com capacidade de 80 mL, contendo 50 mL de solução, e submetidos à autoclavagem a 105°C e 0,5 ATM por 1 hora. Após o processo de autoclavagem, os sacos contendo os resíduos foram lavados três vezes com água destilada aquecida e, posteriormente, lavados com acetona em béquer por duas

vezes. Os sacos foram secos em estufa a 105°C por 3 horas, colocados em dessecador até esfriar e, em seguida, pesados para obtenção dos respectivos pesos dos resíduos de FDN ou FDA.

Considerou-se a relação entre a amostra e a solução recomendada pelo método original de Van Soest (1963) e Van Soest e Wine (1967) para a obtenção da Fibra em Detergente Neutro (FDN) ou Fibra em Detergente Ácido (FDA) em cada 1,0g de amostra, utilizando 100mL de solução. Os cálculos para determinar a quantidade de fibra (FDN ou FDA) presente na amostra seca ao ar (ASA) foram realizados utilizando a fórmula adequada.

$$\text{FDN ou FDA (\% na ASA)} = (P2 - P3) \times 100 / P1$$

Onde:

P1 = peso da amostra, em g;

P2 = peso da tara + resíduo, em g;

P3 = peso da tara, em g.

OBS: tara = cadinho filtrante ou saco de TNT.

Em seguida, a % de FDN ou FDA na ASA foram corrigida para matéria seca (MS), segundo a fórmula:

$$\text{FDN ou FDA (\% na MS)} = (\%F \div \%ASE) \times 100$$

Onde:

% F = percentual de fibra, FDN ou FDA, na ASA;

%ASE = percentual de amostra seca em estufa.

Onde:

% F = percentual de fibra, FDN ou FDA, na ASA;

% ASE = percentual de amostra seca em estufa.

Os teores de hemicelulose, foram calculados pela diferença entre o FDN e FDA (Hemicelulose = FDN – FDA) e a celulose foram determinados pela diferença entre a fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (Celulose = FDA – Lignina) (VAN SOEST, 1963).

O teor de lignina foi determinado pelo método sequencial, onde as amostras foram previamente tratadas com solução de detergente neutro (FDN) e posteriormente em fibra em detergente ácido (FDA), que após foi submetida à digestão com solução concentrada de ácido sulfúrico a 72%, por 3 horas, foram lavados e secos em estufa e por diferença de peso obteve-se o teor final de lignina (VAN

SOEST, 1963).

Determinação de Nitrogênio

Os teores de nitrogênio foram determinados pelo método de Kjeldahl. As amostras foram pesadas e colocadas em tudo de digestão, contendo 5 ml de ácido sulfúrico e mistura catalizadora (sulfato de potássio e sulfato de cobre). As amostras foram digeridas por digestão sulfúrica e posteriormente o material foi destilado pelo método de arraste e titulado com solução de ácido clorídrico (AOAC, 2016).

2.4 Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos aos testes de normalidade e homoscedasticidade e análise de variância pelo teste F, com nível de significância de 5% de probabilidade. Quando significativas, foi realizada análise de regressão e probabilidade do Se sem e com associação com o fungicida. Foi realizada a análise de correlação de Pearson entre as variáveis a 5% de probabilidade. Utilizando os softwares R (R CORE TEAM, 2020), Rbio (BHERING, 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura da soja foi semeada no mês de outubro de 2020, dentro do período recomendado para a cultivar. No entanto, no período da safra de soja do ano 2020/2021 houve uma baixa precipitação pluvial, não apresentado ambiente adequado para o desenvolvimento da ferrugem asiática na região, durante o período experimental. O primeiro foco da doença no estado ocorreu somente em 26/01/2021 (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2023). Isso sugere uma baixa quantidade inicial de inóculo no campo. Observando o ano da safra anterior (2019/2020), o primeiro foco de doença encontrado no município de Dourados - MS foi no dia 09/01/2020, com uma diferença

de dezessete dias em relação ao período 26/01/2021 (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2023).

A FAS pode infectar a cultura a partir dos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, desde que encontre condições ambientais favoráveis (ALVES, 2016). As temperaturas durante a condução do experimento ficaram dentro das médias normais para esse período do ano, oscilando entre 25,7 e 26,8 °C (Figura 1), mantendo-se também dentro do intervalo favorável ao desenvolvimento do patógeno, que é de 15 a 28 °C. Já a precipitação pluvial acumulada foi de 647 mm durante a condução do ensaio, que iniciou no dia 14 de outubro de 2020 e terminou no dia 28 de fevereiro de 2021. O baixo índice pluviométrico durante o experimento, influenciou em um tempo inferior a seis horas de molhamento foliar, consequentemente dificultou a infecção e posteriormente o desenvolvimento e expansão do inóculo do patógeno (*Phakopsora pachyrhizi*), o que pode ter exercido um efeito negativo na dispersão do patógeno dentro do dossel das plantas na área experimental do ensaio (TSUKAHARA et al., 2008).

Neste estudo, o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) controlou a doença e apresentou o menor índice da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) e uma redução de 78,26% na severidade. Os resultados indicaram que o uso do Se associado com o fungicida não teve um efeito adicional significativo. Os fatores, dose, bem como a interação entre dose e fungicida do Se, isolado e do Se associado com o fungicida, não demonstraram diferenças significativas, com exceção do fator fungicida.

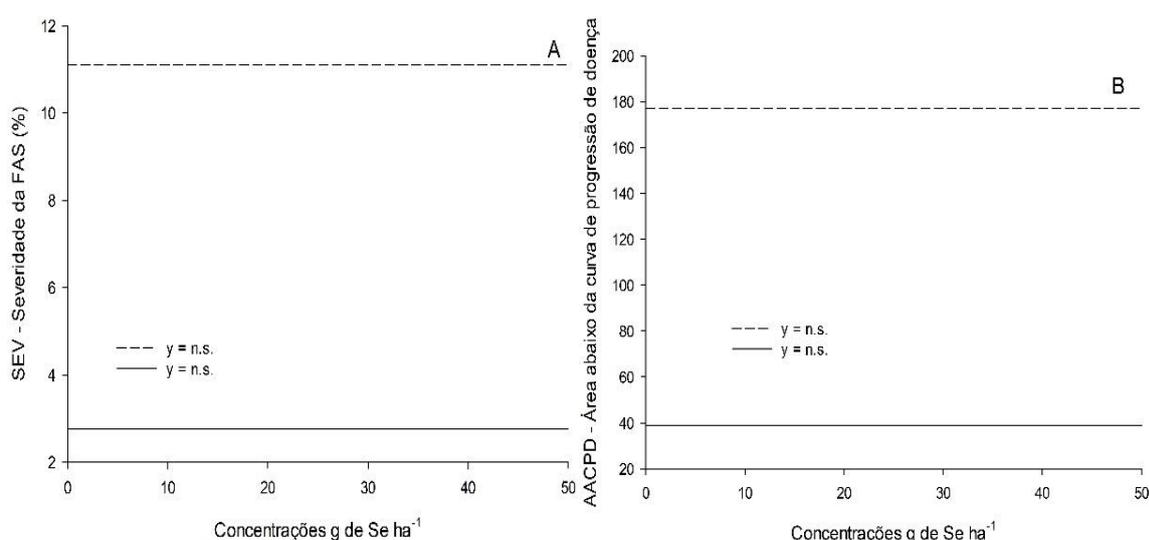


Figura 3 (A). SEV - severidade (%) da FAS. **Figura 3 (B)** AACPD - Área abaixo da curva de progressão de doença de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se

sem e com associação ao fungicida. Linha pontilhada indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Conforme relatado no estudo conduzido por Chechi et al., (2019) realizado em campo durante os anos de 2014 e 2016, a dose do fungicida (azoxistrobina + benzovindiflupir) em conjunto com o volume de calda de 200 L ha⁻¹, aplicados sobre plantas de soja, indicaram que o melhor controle da doença foi alcançado com percentuais de controle oscilando entre 68,4% e 70,1%. Estes resultados sugerem que a aplicação do fungicida é adequado e eficaz no controle da ferrugem asiática da soja.

Com base nos resultados obtidos neste estudo, é possível observar que o Se apresentou um efeito antifúngico inferior ao fungicida, demonstrando que o uso do Se não potencializou o efeito do fungicida no controle da FAS nas plantas durante o estudo.

Para massa de 1000G apresentada na Figura 4 (A), PROD - produtividade apresentada na Figura 4 (B), N - teor de nitrogênio dos trifólios de soja, Figura 4 (C), foi possível observar que os fatores, dose, bloco e a interação entre dose e fungicida do Se, não apresentaram diferenças significativas. No entanto, o fator fungicida foi significativo, apresentando menores valores de 1000G, PROD e N.

Esses resultados indicam que o uso de selênio ao fungicida não teve um efeito significativo na massa de 1000G, PROD e N. Além disso, não foi encontrada uma relação dose-resposta significativa entre a aplicação de selênio na massa de 1000G, PROD e N.

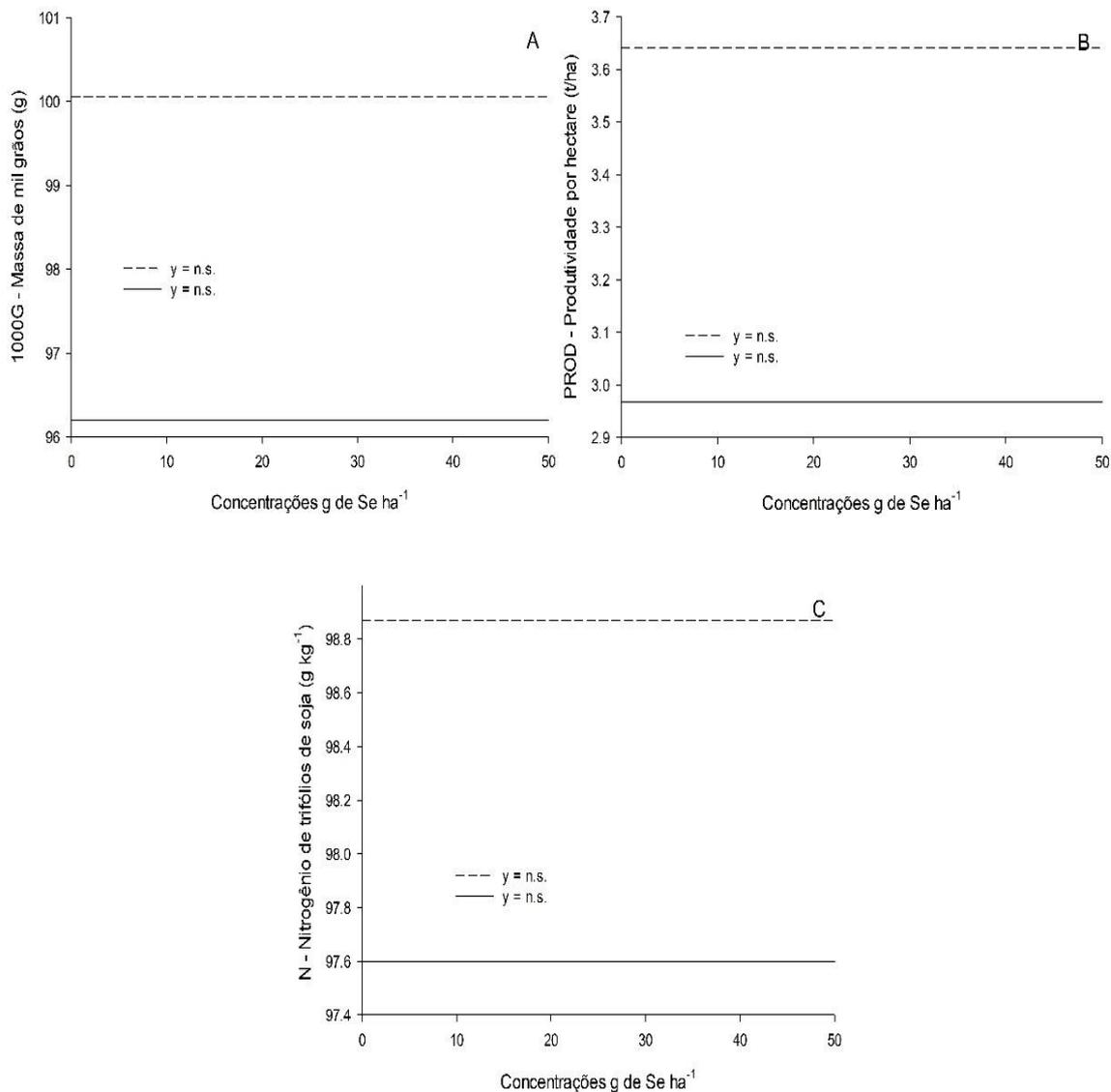


Figura 4 (A). 1000G - massa de mil grãos (g). **Figura 4 (B).** PROD - produtividade por hectare (t/ha). **Figura 4 (C).** N – nitrogênio de trifólios de soja (g kg⁻¹) de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se sem e com associação ao fungicida. Linha pontilhada indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua preta indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

No entanto, é importante destacar que outros estudos relataram efeitos positivos da aplicação de selênio na massa de 1000G. Ramos et al. (2020) observaram maior produção na massa de grãos, na dose 40 g ha⁻¹ Se, utilizando selenato de sódio (Na₂SeO₄) como fonte de Se, utilizando três cultivares de feijão-caupi (BRS-Cauam e, BRS-Guariba e BRS-Itaim). A diferença entre os experimentos e a falta de resultado do Se na massa de 1000G da soja, quando comparado com o feijão se deve a diferença de respostas das duas culturas, além disso como são culturas diferentes possuem, requisitos nutricionais

diferentes, mecanismos de absorção e metabolismos diferentes, o que levou a falta de respostas no presente estudo com doses similares.

O estudo conduzido por Rezende et al., (2011) examinou o impacto do uso de selenito de sódio (Se) por via foliar, em diversas concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 kg ha⁻¹), e em três modos de aplicação (solo, foliar e solo + foliar) sobre plantas de soja. Os resultados demonstraram que a aplicação de Se não ocasionou redução na produtividade da cultura de soja, sendo que a produtividade média de grãos foi de 1911 kg ha⁻¹. Esses achados sugerem que o uso de Se via foliar não influenciou negativamente na produtividade da soja.

Isso sugere que a adição de Se via foliar em plantas de soja não impactou de forma significativa o teor de nitrogênio nos trifólios avaliados, independentemente da dose ou da aplicação do fungicida utilizado. É importante ressaltar que outros fatores podem influenciar o teor de nitrogênio nas plantas de soja, como o tipo de solo, a época de aplicação, a genética das plantas, dentre outros (TEJO et al., 2021).

A quantidade de grãos por legumes (GL), apresentada na Figura 5A indicam que o fator, dose, fungicida, bloco e a interação entre dose e fungicida, não apresentaram diferenças significativas para o número de GL. Isso significa que a aplicação do selênio, isolado ou Se em conjunto com o fungicida, em diferentes concentrações, não afetou significativamente a produção de grãos por legumes em plantas de soja.

Conforme o resultado visualizado na Figura 5 (B), a altura de plantas de soja (AP) apresentou ajustes lineares negativos em relação à aplicação do Se, e Se em conjunto com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir). Isso indica que o aumento das doses de selênio aplicadas resultou em uma menor altura das plantas de soja. Não foi observado efeito da interação entre dose e fungicida, o que significa que a combinação entre a dose de aplicação e sem e com fungicida não afetou a altura das plantas de forma significativa.

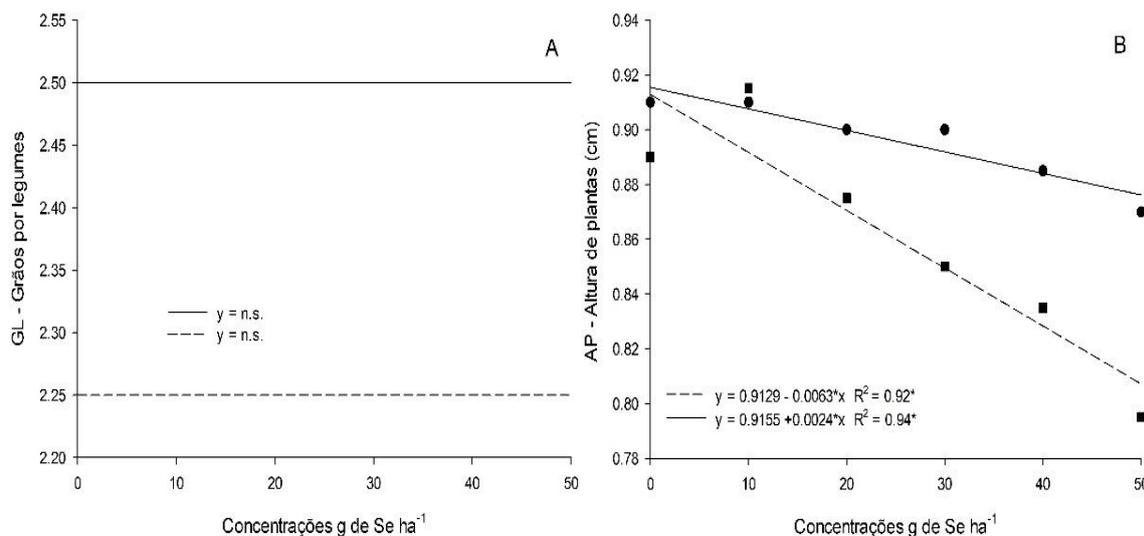


Figura 5 (A). GL - Grãos por legumes. **Figura 5 (B).** AP - altura de plantas (cm) de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se sem e com associação ao fungicida. Linha reta indica n. s.- não significativa; linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

A diminuição no tamanho das plantas pode ser atribuída à toxicidade causada pelo aumento das concentrações de Selênio (Se), seja isoladamente ou Se combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir). Isso ocorre porque o Se é absorvido intensamente pelas plantas sem uma competição inicial com o enxofre (S) durante o processo de assimilação e incorporação do Se nas proteínas, causando toxidez nas plantas nas doses acima de 20 g ha⁻¹. Esse efeito de toxidez pode ser visto no comportamento das enzimas (CAT, POD, SOD) e nas proteínas totais (DUMONT et al., 2006). Entretanto na AP o efeito da toxicidade foi reduzido pelo uso do fungicida, que diminui os efeitos do Se sobre a AP neste estudo.

Ao aplicar concentrações menores de selênio, isoladamente em plantas, a concentração do elemento absorvido e integrado nos selenoaminoácidos, como a selenocisteína e a selênio metionina, pode ter sido maior. Entretanto, ao aumentar as concentrações, a incorporação desses selenoaminoácidos em proteínas específicas foi reduzida, o que pode ter promovido a fitotoxidez como menor altura das plantas (GUPTA e GUPTA, 2017). De fato, a principal causa da toxicidade do selênio em plantas é a sua não incorporação em proteínas. A toxicidade do Se nas plantas é atribuída ao estresse oxidativo induzido pelo selênio, bem como à distorção da estrutura e função das proteínas (GUPTA e GUPTA, 2017).

Com base na pesquisa de Ramos et al. (2011), foi constatado que há evidências significativas de que o selenito e selenato de sódio são absorvidos pelas plantas por meio de transportadores de enxofre (S) com alta afinidade. Isso pode explicar por que a forma de aplicação do selênio (foliar) e a concentração utilizada podem afetar a altura das plantas.

Martinez et al. (2009), realizaram uma pesquisa que constatou que a aplicação de selênio via foliar, nas doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 kg ha⁻¹ em todas as doses testadas, teve um efeito negativo na altura da planta, altura do primeiro legume, número de sementes por legume e na produtividade da cultura da soja, especificamente na cultivar Conquista. Resultado semelhante foi encontrado no presente estudo, onde o aumento das doses de Se, reduziu linearmente a AP. Na dose de 50 g ha⁻¹ foi encontrado a altura média das plantas de soja de 80cm maior que a encontrada por Martinez et al. (2009), essa diferença de altura pode estar relacionada a cultivar utilizada, que consegue tolerar maior dose de Se.

Conforme os resultados obtidos na Figura 6 (A), foi observado que o efeito do Se, e Se associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), afetou negativamente o índice SPAD-1, apresentando ajustes lineares negativos. Além disso, para a variável SPAD-1 indica que os fatores, dose e fungicida do Se, isolado e do Se combinado com o fungicida, apresentaram diferenças significativas. No entanto, os fatores bloco e a interação entre dose e fungicida não foram significativos. Esses resultados indicam que a aplicação de diferentes concentrações e combinação do Se, isolado ou em conjunto com o fungicida associado ao Se, teve um efeito negativo no teor de clorofila das plantas de soja, como indicado pelo índice SPAD-1.

A utilização de Se tem sido associada ao estímulo do crescimento de plantas, uma vez que essa substância pode favorecer o aumento do nível de clorofila, melhorar o processo de fotossíntese, reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumentar a atividade das enzimas antioxidantes no trigo (NAWAZ et al., 2016). Entretanto isso não foi observado no presente estudo que com o aumento das doses de Se reduziu o índice SPAD-1, indicando redução do nível de clorofila, e consequentemente do processo de fotossíntese, o que disponibilizou menor quantidade de energia química para o crescimento das plantas de soja, reduzindo da altura das plantas (Figura 5B).

Quando o limite seguro de concentração ou tempo de exposição é ultrapassado, o Selênio pode desencadear sintomas de intoxicação, causar alterações no metabolismo e reduzir o teor de clorofila, afetando negativamente a fotossíntese das plantas (MOSTOFA et al., 2017).

No entanto, é importante mencionar que o estudo conduzido por Djanaguiraman et al. (2005) apresentou resultados opostos aos descritos neste estudo. De acordo com estudo, a aplicação foliar de selenato de sódio em concentração de 50 ppm na cultura da soja, aos 78 dias após a emergência, contribuiu para a redução da degradação da clorofila ao longo do ciclo da cultura e para a manutenção da área fotossinteticamente ativa por um período maior de tempo. Essa diferença pode ser atribuída ao selenato de sódio ser considerado menos tóxico que o selenito de sódio (utilizado no presente estudo), essa diferença de toxicidade nas diferentes fontes de Se, se deve que o selenato é convertido em selenometionina, que é um aminoácido contendo Se e posteriormente ser incorporado em proteínas vegetais. Já o selenito é convertido em selenocisteína na planta de soja e, posteriormente, incorporado em proteínas vegetais. Essas diferentes vias metabólicas utilizadas podem influenciar a utilização e o destino do selênio nas plantas de soja, influenciando na toxidez.

O Se afetou negativamente o índice SPAD – 2 (Figura 6 B), sendo observadas respostas quadráticas negativas, com o Se com o ponto máximo do índice SPAD 41,28 com a concentração de Se, isolado de 24,76 g ha⁻¹, e Se associado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) com ponto máximo do índice SPAD 38,69 com a concentração de Se com associação ao fungicida de 13,25 g ha⁻¹.

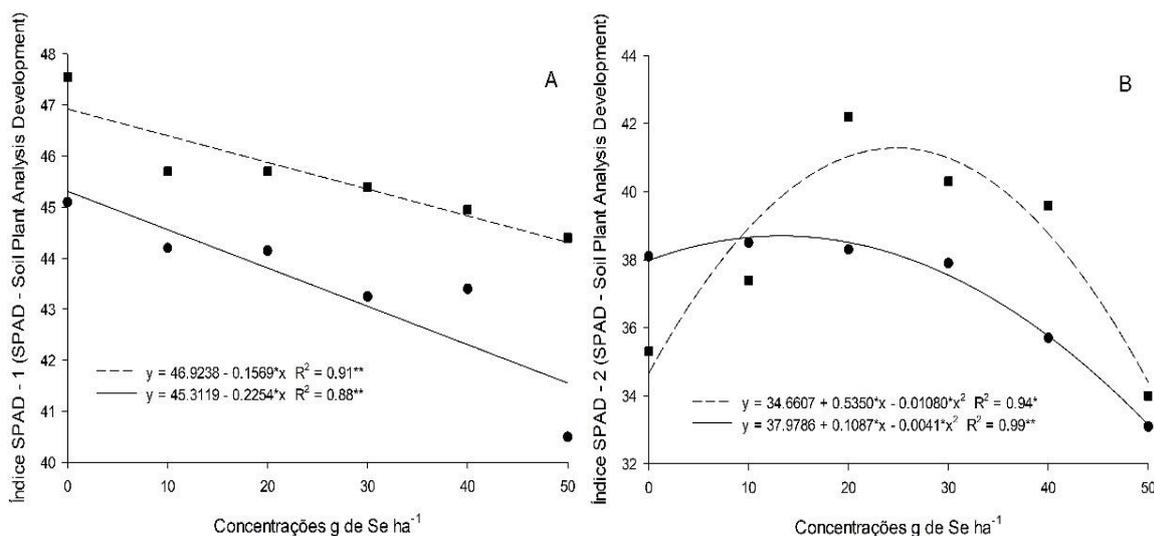


Figura 6 (A). Índice SPAD - 1 (SPAD - Soil Plant Analysis Development). **Figura 6 (B)** Índice SPAD - 2 (SPAD - Soil Plant Analysis Development) de trifólios de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

O resultado da análise para a variável SPAD-2 indicou que os fatores, de dose, fungicida e a interação entre a dose do Se, isolado e do Se combinado com o fungicida apresentaram diferenças significativas. Isso sugere que as concentrações de Selênio e o tipo de tratamento utilizado (isolado ou em combinação com o fungicida) afeta a clorofila nas plantas.

A partir dos resultados apresentados na Figura 6 (A, B), pode-se constatar que a aplicação do Se, isolado e do Se em conjunto com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), pode levar a uma diminuição significativa no teor de clorofila. Esse efeito antagônico pode inibir a síntese de pigmentos fotossintéticos e interferir na absorção de nutrientes essenciais, como ferro, manganês e magnésio, comprometendo a saúde e o desenvolvimento da planta (PRASAD et al., 1999).

Com base em estudos realizados em *Cardamine violifolia*, que é uma planta considerada como acumuladora é possível observar que a aplicação de selenato de sódio (Se) em concentrações de $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ (15.1 g ha^{-1}) pode causar redução significativa no teor de clorofila e biomassa, além de apresentar sintomas de intoxicação nas plantas (RAO et al., 2021) Além disso, concentrações mais elevadas de selenato de sódio ($200\text{-}400 \mu\text{mol L}^{-1}$) podem ultrapassar a tolerância da planta ao Se, gerando estresse e inibindo seriamente o seu crescimento. É importante destacar que tais resultados podem ser

atribuídos à inibição da síntese de nutrientes essenciais, como ferro, manganês e magnésio, causando anormalidades no metabolismo e na nutrição de *C. violifolia*. Portanto, é necessário considerar com cuidado as concentrações de selenato de sódio aplicadas, a fim de evitar possíveis danos às plantas (WU et al., 2020).

Liu et al. (2004) observaram que a interação do Se com as espécies reativas do oxigênio (EROs) pode resultar na redução do teor de clorofila nas folhas de arroz. Esse efeito se deve à capacidade dos radicais livres de oxigênio de quebrar os pigmentos fotossintéticos e as proteínas estruturais do sistema fotossintético em condições de altas concentrações de Se nas plantas. Demonstrou-se que o efeito adverso do Se na síntese de pigmentos fotossintéticos é especialmente evidente na proteína D1, que é um dos alvos primários da degradação oxidativa no centro de reação do fotossistema II. Suas clorofilas e as proteínas da cadeia de transporte de elétrons associadas estão localizadas predominantemente nas lamelas grana. (KIM et al., 2006). A deterioração do comprimento da atividade fotossintética, em plantas sob estresse após a aplicação de Se, pode estar associada ao aumento dos níveis de EROs (PACIOLLA et al., 2011).

Como as Figuras 7 (A, B) demonstram, que o Se, isolado e o Se associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), levou a um aumento nos teores de celulose (CEL) e hemicelulose (HEM), nos trifólios de soja. As plantas que receberam a aplicação de Se, e Se associado ao fungicida apresentaram maiores teores de HEM, com um ajuste de forma quadrática, o Se, com ponto máximo $152,00 \text{ g kg}^{-1}$ estimado na concentração de $17,31 \text{ g de Se ha}^{-1}$. E o Se com o fungicida, com ponto máximo $160,31 \text{ g kg}^{-1}$ estimado na concentração de $23,21 \text{ g de Se ha}^{-1}$, seguido de uma diminuição subsequente da HEM. A análise estatística em arranjo fatorial indicou que as variáveis CEL e HEM, apresentaram diferenças significativas entre os fatores, dose e fungicida.

A parede celular da planta desempenha um papel fundamental na defesa contra patógenos e no reconhecimento de estresses ambientais, transmitindo sinais que ativam respostas de defesa (COS-GROVE, 2005). Embora tradicionalmente vista como uma barreira passiva contra patógenos, estudos recentes indicam que a parede celular age de forma ativa na proteção da planta.

A parede celular é a primeira linha de defesa das plantas contra patógenos, uma vez que a barreira física formada pela parede celular é uma importante barreira para a penetração do patógeno. Além disso, a parede celular também atua como um local de reconhecimento para os receptores de padrões de patógenos (PRRs) nas plantas, que são capazes de detectar padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e iniciar a cascata de sinalização da resposta de defesa (LORRAI e FERRARI, 2021). De acordo com o estudo realizado por Li et al. (2019), a alteração na composição da parede celular pode ser uma resposta imune da planta contra o stress biótico ou abiótico, aumentando a robustez e a flexibilidade do tecido vegetal para oferecer proteção contra invasores patogênicos.

Na Figura 7 (A), foi observado que o Se, isolado e o Se com associação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), promoveram um aumento significativo no teor de celulose (CEL) nos trifólios de soja. A celulose é um componente chave da parede celular que influencia tanto o crescimento quanto a resposta de defesa das plantas. Estudos em plantas mutantes que apresentam deficiência na síntese de celulose têm revelado graves alterações no desenvolvimento, como nanismo e menor rendimento nas plantas (SCHULZE et al. 2010; RAMÍREZ et al. 2011).

O bloqueio da síntese de celulose pode levar à diminuição da resistência de plantas a doenças (HAMANN et al. 2009). Por exemplo, quando a cevada é silenciada pelo gene HvCSLD2, que codifica a sintase celulose, a parede celular epidérmica da planta exibe uma redução no conteúdo de celulose, o que torna as papilas da planta mais facilmente penetradas pelo fungo *Blumeria graminis*. Como resultado, a planta apresenta uma resistência comprometida ao oídio. (DOUCHKOV et al. 2016).

A inibição química da síntese de celulose também pode inibir a ativação da imunidade da planta. A inibição da síntese de celulose tem sido associada à produção do ácido jasmônico (AJ) e espécies reativas de oxigênio (EROs) e a deposição da lignina na parede celular. Esses processos afetam a imunidade da planta, tornando-a menos resistente a patógenos e estresses abióticos (WAN et al. 2021).

Na Figura 7 (B), foi observado que o Se, isolado e o Se associado com o fungicida

(Azoxistrobina + Benzovindiflupir), promoveram um aumento significativo no teor de hemicelulose (HEM) nos trifólios de soja de forma quadrática até o ponto máximo e depois uma queda progressiva nos teores de HEM. As hemiceluloses são um conjunto heterogêneo de polissacarídeos que apresentam um esqueleto β -(1 β 4)-glicosídico, composto por manose, glicose ou xilose. Sua função principal é reforçar a parede celular por meio da interação com a celulose e, em algumas situações, com a lignina (SCHELLER e ULVSKOV, 2010; ENDLER e PERSSON, 2011).

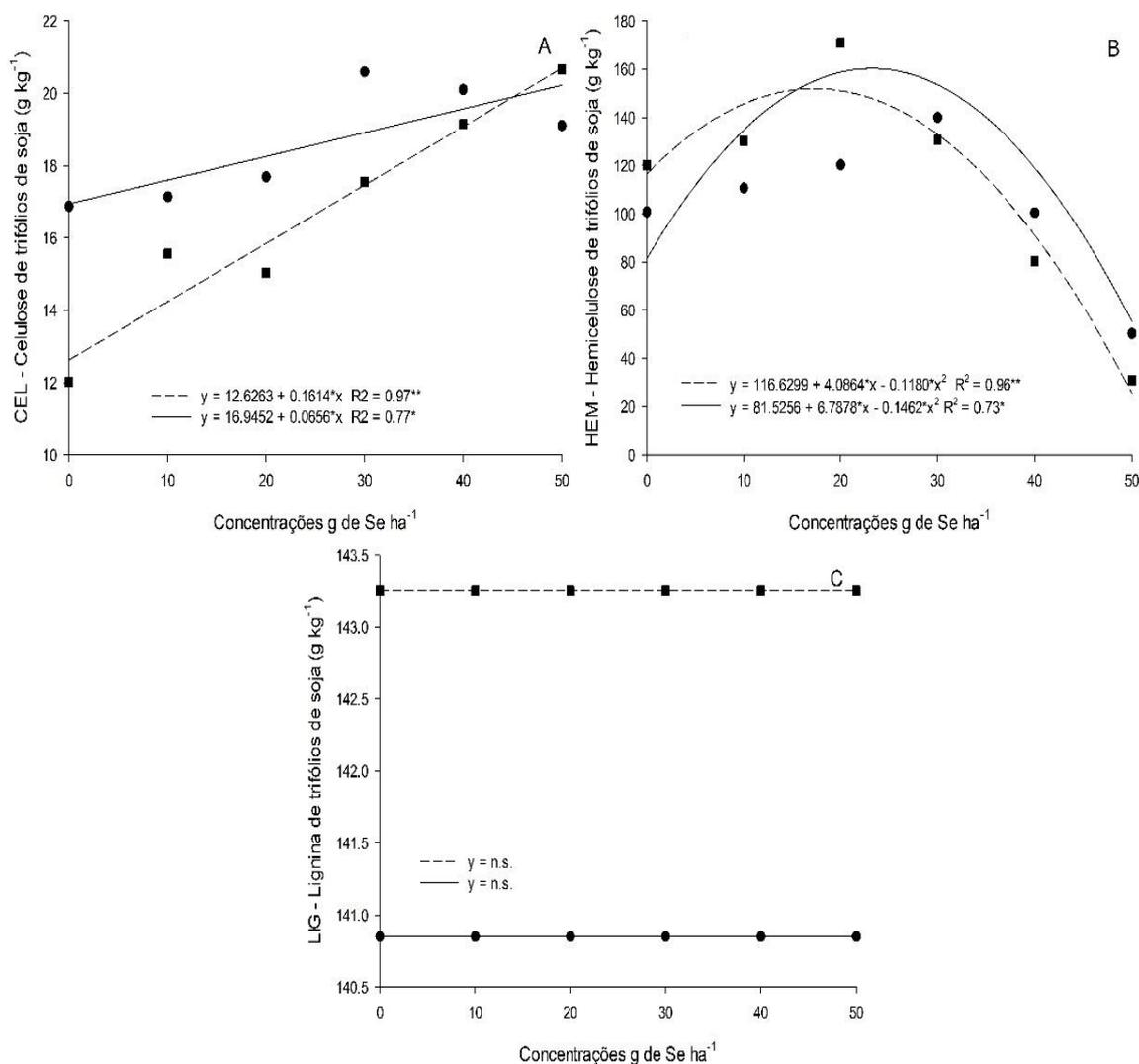


Figura 7 (A). CEL - celulose de trifólios de soja (g kg⁻¹), Figura 7 (B). HEM – hemicelulose de trifólios de soja (g kg⁻¹) e Figura 7 (C). LIG - lignina de trifólios de soja (g kg⁻¹) de trifólios de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Tanto a xilana quanto a xiloglucana pertencem ao grupo das hemiceluloses e são

consideradas os principais componentes da parede celular vegetal. Cada vez mais, evidências têm mostrado que alterações nesses componentes podem afetar a resistência de *Arabidopsis* a patógenos (DELGADO-CEREZO et al. 2012; SAMPEDRO et al. 2010; CHOWDHURY et al. 2017).

Os mutantes *Arabidopsis* *det3* (de-estiolado3) e *irx6-1* (xilema irregular 6-1) apresentam níveis elevados de xilose (hemicelulose) em sua parede celular, quando comparados ao tipo selvagem. De maneira interessante, esses mutantes demonstram maior resistência ao fungo *Alternaria cucumerina* (DELGADO-CEREZO et al. 2012).

Além de proporcionar estrutura e resistência à parede celular, a celulose e hemicelulose também são cruciais na resposta de defesa das plantas contra patógenos (GILLSON et al., 2003). Por exemplo, a presença de celulose e hemicelulose pode ajudar a controlar a invasão de patógenos pela formação de barreiras físicas (FARROKHI et al., 2006). Além disso, a degradação da celulose e hemicelulose pode ser um sinal de ativação da resposta de defesa das plantas contra patógenos (FOURIE et al., 2020).

Além disso, é importante destacar que a quantidade e distribuição de celulose e hemicelulose na parede celular também podem afetar a resposta de defesa das plantas contra patógenos. Por exemplo, uma quantidade insuficiente de celulose pode levar a uma parede celular fraca e vulnerável a invasões patogênicas (FARROKHI et al., 2006). Portanto, embora os aumentos nos teores de celulose e hemicelulose nos trifólios de soja observados neste estudo possam contribuir para o fortalecimento da parede celular, essas alterações não necessariamente ativaram respostas de defesa nas plantas de soja contra a FAS.

A função das hemiceluloses na indução de resistência em plantas está relacionada à sua capacidade de reforçar a parede celular e interagir com outros componentes, como a celulose e a lignina. Alterações na composição e na estrutura das hemiceluloses podem desencadear respostas de defesa em plantas, levando a uma maior resistência a patógenos (LI et al. 2019). No entanto, os resultados deste estudo não encontraram evidências de que o Se, isolado em comparação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), tenha reduzido a severidade ou a AACPD da FAS, sugerindo que o selênio não ativou diretamente as respostas de defesa da planta contra a doença.

De acordo com as Figuras 7 (A, B) deste estudo, foi observado que a aplicação de Se, e Se combinado com o fungicida, resultou em aumentos lineares nos teores de CEL e em ajuste quadrático para a HEM nos trifólios de soja. Esses resultados sugerem que a aplicação de Se pode estimular a síntese de celulose e hemicelulose, possivelmente fortalecendo a parede celular das plantas. No entanto, não foi observada uma melhora na resistência das plantas ao ataque de patógeno (*Phakopsora pachyrhizi*).

Na Figura 7 (C), foi observado que o Se, isolado e o Se com associação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), não foram significativos no teor da lignina (LIG) nos trifólios de soja. Esse efeito pode ter ocorrido pelo fato de a LIG ser um polímero fenólico (diferente da CEL e HEM que são Polissacarídeos), que confere rigidez e impermeabilidade à parede celular das plantas e possivelmente o Se não tem efeito na síntese e deposição da LIG, além disso a % da severidade foi considerada baixa (menor que 12%), não foi possível ativar esse mecanismo de defesa.

É importante ressaltar que este estudo não avaliou diretamente os efeitos da inibição química da síntese de celulose (CEL), hemicelulose (HEM) e lignina (LIG) na imunidade da planta contra a FAS. Em vez disso, o estudo se concentrou em examinar os efeitos da aplicação de Se, isolado e do Se associado com fungicida nos teores desses compostos nos trifólios de soja.

Embora os resultados sugiram uma relação entre a aplicação do Se e o aumento nos teores de CEL e HEM, indicando que essas alterações na síntese desses compostos podem fortalecer a parede celular, os resultados não evidenciam que estas mudanças estejam diretamente envolvidas na ativação de mecanismos de defesa da planta contra a FAS.

Conforme apresentado na Figura 8 (A), o Se, aumentou a atividade da enzima catalase (CAT) apresentou um ajuste quadrático, alcançando o ponto máximo de 0,67 mmol mg⁻¹ min proteína, estimado na concentração 23,19 g ha⁻¹ de Se. Para o Se combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), a enzima apresentou um ajuste quadrático com o ponto máximo de 0,68 mmol mg⁻¹, estimado na concentração 22,67 g ha⁻¹ de Se, na atividade da catalase (CAT). Observou-se com os ajustes

quadráticos, aumentando a atividade da CAT até o ponto máximo, seguido de uma diminuição subsequente da enzima CAT.

A variável CAT mostra um efeito significativo no fator, dose, fator fungicida e uma interação significativa entre dose e fungicida, sugerindo que o Se e o Se associado com o fungicida, teve um impacto na atividade da enzima catalase (CAT). Esses resultados indicam que as concentrações de Se utilizada no estudo podem afetar a atividade da CAT, o que é importante considerar ao avaliar o uso potencial do Se como um agente elictor. Além disso, a interação significativa entre dose e fungicida sugere que o uso combinado de Se e fungicida pode ter um efeito diferente na atividade da CAT em comparação com o uso isolado de Se.

A enzima catalase (CAT) é essencial para a sanidade das plantas, pois regula os níveis de peróxido de hidrogênio produzidos pelas enzimas SOD e POD. Embora essas enzimas sejam importantes para a defesa das plantas contra patógenos e estresses ambientais, um acúmulo excessivo de peróxido de hidrogênio pode ser tóxico. Portanto, a regulação adequada da enzima catalase é crucial para manter o equilíbrio da produção de peróxido de hidrogênio nas plantas (BARBOSA et al., 2014).

Embora a principal função da enzima catalase (CAT) seja degradar altas concentrações de peróxido de hidrogênio, que podem ser tóxicas para as plantas, baixas concentrações dessa substância desempenham um papel importante na transdução de sinal em plantas que estão sob ataque de estressores bióticos (PRASAD et al, 1994).

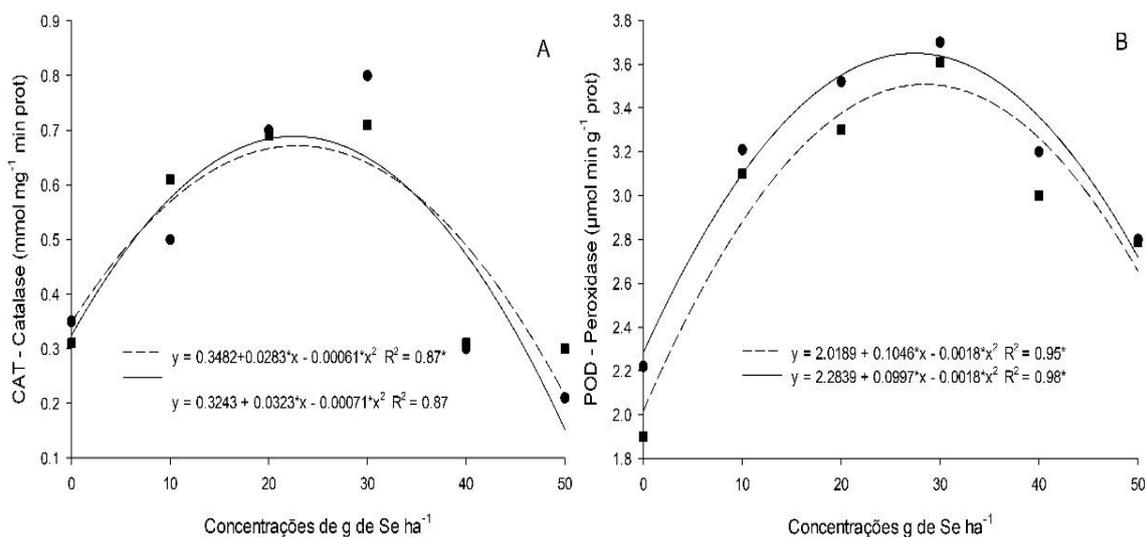
Nesse contexto, o peróxido de hidrogênio pode atuar como um sinalizador para a planta, desencadeando respostas de defesa contra o estressor biótico. Assim, a regulação adequada da produção de peróxido de hidrogênio pela enzima CAT é crucial para manter a homeostase da planta e sua capacidade de responder efetivamente ao stress biótico (PRASAD et al, 1994).

Embora não tenham sido observados resultados significativos no controle da FAS com Se, e do Se associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), estes demonstraram efeitos positivos na atividade da enzima catalase (CAT), aumentando-a e mantendo os níveis de peróxido de hidrogênio em níveis seguros para as plantas. Conseqüentemente, o uso do fungicida pode ajudar a manter o equilíbrio necessário entre

a produção de peróxido de hidrogênio e a capacidade da planta de lidar com essa substância, o que é crucial para a sanidade e a sobrevivência das plantas sob estresse biótico (MAMENKO et al., 2019).

Conforme apresentado na Figura 8 (B), quando o Se, foi aplicado isolado a atividade da enzima peroxidase (POD) apresentou um ajuste quadrático, alcançando o ponto máximo de $3,65 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{min}$ estimado na concentração $27,54 \text{ g de Se ha}^{-1}$. Para o Se combinado com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), respondeu de forma quadrática com o ponto máximo de $3,51 \text{ g kg}^{-1}$ estimando na concentração $28,57 \text{ g de Se ha}^{-1}$ na atividade da peroxidase (POD). Observou-se com os ajustes quadráticos, um aumento na atividade da POD até os pontos máximos, seguido de uma diminuição subsequente da enzima POD.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que a aplicação de Se, tanto isoladamente quanto em combinação com o fungicida, apresentou um efeito significativo na atividade da enzima peroxidase (POD). Essa resposta foi observada mediante a análise estatística em arranjo fatorial, que demonstrou uma interação significativa entre os fatores dose e fungicida, bem como na interação entre ambos (dose e fungicida).



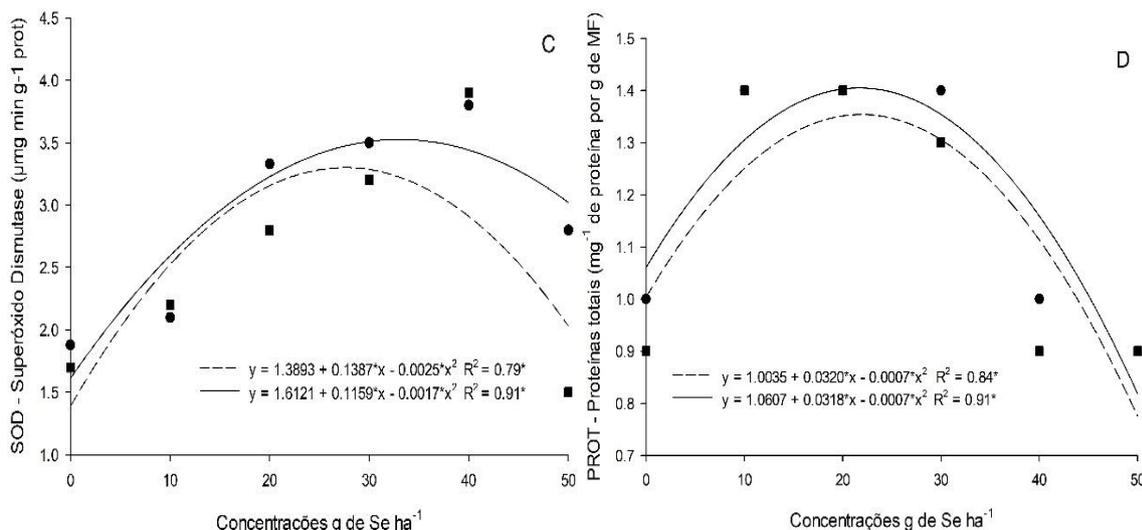


Figura 8 (A), CAT - catalase (mmol mg⁻¹ min prot), Figura 8 (B), POD - peroxidase (µmol min g⁻¹ prot) e Figura 8 (C), SOD - superóxido Dismutase (µmg min g⁻¹ prot), Figura 8 (D), PROT - proteínas totais dos trifólios de soja (mg g⁻¹ de proteína por MF) de trifólios de plantas de soja submetidas a diferentes concentrações de Se sem e com associação ao fungicida. Linha tracejada e ■ indica a aplicação foliar de Se sem associação de fungicida e linha contínua com ● indica a aplicação foliar de Se com fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir).

Os níveis excessivos podem comprometer a atividade da POD e, conseqüentemente, o sistema antioxidante das plantas. A interação entre Se e fungicida indica que o uso simultâneo desses agentes pode gerar um efeito distinto na atividade da POD quando comparado com o uso isolado de Se. Esses achados têm importância significativa para a compreensão da limitação do uso de Se como método de controle da FAS, bem como do fungicida como agente de proteção contra a FAS em plantas de soja.

A resposta do sistema antioxidante peroxidase (POD) é frequentemente estimulada em situações de estresse, uma vez que essa enzima desempenha um papel fundamental na proteção das células vegetais contra reações oxidativas em diversos tipos de tecidos. A POD atua no catabolismo de peróxidos, incluindo o peróxido de hidrogênio, e é responsável por manter o equilíbrio redox nas células vegetais. Em condições de estresse oxidativo, a atividade da POD pode ser aumentada para ajudar a minimizar danos às células, restaurando o equilíbrio redox e evitando a morte celular (MARAFON et al., 2009).

O aumento observado na atividade da enzima peroxidase (POD) pode estar relacionado ao efeito de fitotoxicidade causado pela exposição a concentrações elevadas

de selênio durante o estudo. Esse efeito pode afetar os processos fisiológicos da planta, incluindo a lignificação da parede celular, a oxidação de compostos fenólicos, a cicatrização de ferimentos, a resposta a injúrias mecânicas, a biossíntese de etileno, o desenvolvimento celular e a defesa contra patógenos. No entanto, é importante ressaltar que a exposição excessiva ao selênio afetou negativamente a atividade da enzima POD, o que pode impactar negativamente o sistema antioxidante da planta e prejudicar a proteção contra reações oxidativas na planta (MARAFON et al., 2009).

A enzima peroxidase (POD) é responsável por catalisar a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular, proporcionando proteção às células vegetais contra a formação de espécies reativas de oxigênio que podem levar a danos celulares e teciduais na planta (BHATTACHARJEE, 2010).

Concentrações baixas e moderadas de selênio (por exemplo, $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ e/ou $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$) foram observadas para aumentar a atividade de enzimas antioxidantes, como catalase, polifenol oxidase e peroxidase, em plantas. Isso resultou na regulação positiva de genes de defesa em folhas de colza, incluindo CHI, ESD1, NPR1 e PDF1.2, tornando-se um benefício significativo para a resistência das plantas a patógenos (XU et al., 2020).

Além disso, a pulverização de solução orgânica de selênio (SeMet e SeCys2) mostrou inibir o desenvolvimento do fungo *Fusarium graminearum* em espigas de trigo e reduzir a porcentagem de espiguetas doentes, possivelmente devido à regulação da produção de toxinas e à redução do acúmulo de deoxinivalenol (MAO et al., 2020; LI et al., 2023).

É importante ressaltar que as descobertas sobre os efeitos dos tratamentos com Se e Se associado ao fungicida podem variar em diferentes condições ambientais, genótipos de plantas e níveis de estresse (LI et al., 2023). Portanto, mais pesquisas são necessárias para confirmar os efeitos desses tratamentos na atividade da enzima POD em plantas de soja infectadas com a ferrugem asiática e entender por que as enzimas antioxidantes não foram capazes de ativar uma defesa eficaz contra o ataque da doença.

Conforme apresentado na Figura 8 (C), o efeito do Se, aplicado isoladamente, sobre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) apresentou um ajuste quadrático, alcançando o ponto máximo de $3,31 \mu\text{mg mg}^{-1} \text{ min proteína}$ na concentração

de 27,74 g ha⁻¹ de Se. Além disso, quando o Se foi aplicado em combinação com o fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir), a resposta foi quadrática com o ponto máximo de 3,58 $\mu\text{mg mg}^{-1}$ na concentração de 34,05 g ha⁻¹ de Se, na atividade da enzima SOD, indicando um aumento na atividade da SOD até os pontos máximos dos tratamentos, seguido de uma diminuição subsequente da enzima SOD.

Os resultados da análise estatística em arranjo fatorial da enzima POD demonstraram um efeito significativo do fator dose, fungicida e uma interação significativa entre dose e fungicida. Isso indica que o uso de Selênio (Se), isolado ou em associação com o fungicida, teve um impacto na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Esses achados sugerem que as concentrações de Se utilizadas no estudo podem afetar a atividade da SOD, o que é relevante para avaliar o potencial uso do Se como agente de proteção contra a FAS. Além disso, a interação significativa entre dose e fungicida indica que o uso combinado de Se com o fungicida pode ter um efeito distinto na atividade da SOD, em comparação com o uso isolado de Se.

É importante considerar esses resultados, já que eles podem variar em diferentes condições ambientais, genótipos de plantas e níveis de estresse da planta. Mais pesquisas são necessárias para confirmar os efeitos do Selênio (Se), na atividade da enzima POD em plantas de soja infectadas com a ferrugem asiática, especialmente no genótipo avaliado onde foi observado que o Se não teve controle sobre a FAS.

A diminuição da atividade da POD pode ser explicada pela fitotoxicidade gerada pela aplicação de concentrações elevadas de Se no estudo, com a exposição excessiva ao Se afetando a atividade da SOD, e danificando a estrutura da enzima ou interferindo em sua regulação. Essa condição pode levar ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, resultando em danos às células e conseqüente redução no desempenho fisiológico das plantas (CHEN et al., 2009).

A enzima superóxido dismutase - SOD é amplamente encontrada em organismos aeróbicos e em subcompartimentos celulares suscetíveis a um aumento da oxidação causado por estresse biótico ou abiótico (PAULA et al., 2021). É considerada uma das mais eficazes enzimas antioxidantes intracelulares. A superóxido dismutase desempenha

um papel crucial como a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos de altos níveis de espécies reativas de oxigênio (GILL e TUTEJA, 2010).

A SOD catalisa a conversão do superóxido, um dos principais radicais livres produzidos durante o processo de respiração celular, em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (MITTLER, 2002). Além disso, a SOD também inibe a formação de espécies reativas de oxigênio, que são responsáveis por causar danos aos tecidos vegetais (DOMICIANO et al., 2015).

Em contraste, em outro estudo publicado por Liu et al. (2021), observou-se que a aplicação do fungicida difenoconazol, pertencente ao grupo dos triazóis, que atua inibindo a síntese de ergostreol, componente essencial na para a membrana celular dos fungos afetou negativamente a atividade da enzima (SOD) em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). De acordo com os resultados do estudo, o uso do fungicida causou estresse oxidativo nas plantas, o que resultou na redução da biossíntese e das funções da clorofila e, por fim, inibiu o crescimento e o desenvolvimento das plantas de trigo.

De acordo com os resultados obtidos, o uso de selênio, seja de forma isolada ou em associação com o fungicida, em concentrações elevadas, pode ter um impacto na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Essa enzima é fundamental para proteger as plantas contra o estresse oxidativo, que pode ser causado pelo ataque fúngico (SAHA et al., 2017). No entanto, é importante destacar que mais estudos são necessários para avaliar plenamente os efeitos destes tratamentos e suas interações com outros fatores envolvidos na resposta de defesa das plantas (LI et al., 2018).

No entanto, é importante destacar que ainda é necessário realizar mais pesquisas para compreender plenamente os efeitos do Se, e do Se associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) nas atividades das enzimas SOD, POD, CAT e PROT nas plantas de soja.

Além disso, as concentrações específicas desses compostos e seus efeitos na atividade das enzimas em diferentes genótipos de soja precisam ser consideradas. Outros fatores, como as condições climáticas e a presença de patógenos, também podem afetar a atividade das enzimas em plantas de soja.

Conforme apresentado na Figura 8 (D), o Se, isolado as proteínas totais dos trifólios de soja (PROT), com a aplicação de Ni apresentou um ajuste quadrático com o ponto máximo de PROT de $1,35 \text{ mg g}^{-1}$ de proteína por MF, estimado na concentração de $22,75 \text{ g ha}^{-1}$ de Se. Com a aplicação do Se, associado ao fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) o efeito sobre as proteínas totais dos trifólios de soja, apresentou-se com ajuste quadrático PROT $-1,40 \text{ mg g}^{-1}$ de proteína por MF, estimado na concentração $21,78 \text{ g ha}^{-1}$ de Se. Observaram-se ajustes quadráticos, indicando um aumento na PROT até o ponto máximo, seguido de uma tendência a diminuição das proteínas totais dos trifólios de soja.

Os resultados apresentados nesta pesquisa apontaram que houve um efeito significativo do fator, dose, fungicida e uma interação significativa entre dose e fungicida (análise estatística em arranjo fatorial), o que indica que o Se, e o Se associado com o fungicida, teve um impacto no teor das proteínas totais dos trifólios de soja (PROT). Esses achados sugerem que as diferentes concentrações de Se utilizadas no experimento podem influenciar a PROT. Além disso, a interação significativa entre dose e fungicida sugere que a combinação do Se com o fungicida pode ter um efeito diferenciado na PROT quando comparado com a utilização isolada do Se.

As proteínas são macromoléculas, formadas por aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas, sendo consideradas as macromoléculas biológicas mais abundantes na natureza. Elas podem ser encontradas em grande quantidade em uma única célula e são produzidas por ela, apresentando diversas funções como, estrutural, catalítica, transportadora, reguladora e de defesa, tendo a capacidade de gerar produtos, como enzimas e hormônios (SOARES e MACHADO, 2007).

As proteínas desempenham ainda funções regulatórias tanto dentro quanto fora da célula, transmitindo informações para os componentes celulares e gerando forças mecânicas e eletroquímicas (VOET et al., 2008). Os aminoácidos são precursores de muitos metabólitos de plantas que estão relacionados à defesa vegetal. Eles são relevantes para as respostas locais e sistêmicas contra-ataques patogênicos nas plantas. (ZHOU et al., 2015).

4. CONCLUSÕES

O fungicida (Azoxistrobina + Benzovindiflupir) sem associação com o Se reduziu a AACPD e a severidade da FAS, independe das concentrações utilizadas de Se não houve efeito aditivo do elemento no controle da FAS.

Não houve efeito do Se, e do Se associado ao fungicida nas variáveis GL e N, entretanto foi observado efeito do Se, e do Se associado ao fungicida na massa de 1000G. Para a AP e o SPAD-1 foi observado um efeito negativo à medida que as concentrações de Se aumentaram no estudo.

A concentração de 20 g ha⁻¹ de Se proporcionou as atividades máximas das enzimas CAT, SOD, POD e da PROT, mas com o aumento da concentração, ocorreu menor altura das plantas e queda da atividade enzimática CAT, SOD, POD e da PROT, podendo ser causada pelo efeito da toxicidade do Se nas plantas de soja.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, V. M. **Fungicidas protetores no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**, ed. 19. Gaithersburg, 2016. 3000p.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 1, p. 280-292, 1998.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. D. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n.3, p. 453-460, 2014.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, v. 1, p. 1-30, 2010.

BHERING, L.L. Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the r platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017.

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

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Workshop reúne cadeia produtiva para debater ferrugem da soja**. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/workshop-reune-cadeia-produtiva-para-debater-ferrugem-da-soja>>, acessado:20 de junho 2023.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**, 01 ed. New York: John Wiley, 1990. 532p.

CHAUHAN, R.; AWASTHI, S.; TRIPATHI, P.; MISHRA, S.; DWIVEDI, S.; NIRANJAN, A.; MALLICK, S.; TRIPATHI, P.; PANDE, V.; TRIPATHI, R. D. Selenite modulates the level of phenolics and nutrient element to alleviate the toxicity of arsenite in rice (*Oryza sativa* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 47-55, 2017.

CHECHI, A.; FORCELINI, C. A.; BOLLER, W. Volumes de calda e doses de fungicidas no controle da ferrugem-asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 3, p. 255-260, 2019.

CHEN, C.; HUANG, D.; LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. **Clean-soil, air, water**, v. 37, n. 4-5, p. 304-313, 2009.

CHOWDHURY, J.; LÜCK, S.; RAJARAMAN, J.; DOUCHKOV, D.; SHIRLEY, N. J.; SCHWERDT, J. G.; LITTLE, A. Altered expression of genes implicated in xylan biosynthesis affects penetration resistance against powdery mildew. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 445, 2017.

CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM. **Parceria público-privada no combate à ferrugem asiática da soja**. Disponível em:< consorcioantiferrugem.net/#/main>. Acesso: 20 fev. 2023.

COS-GROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 11, p. 850-861, 2005.

DELGADO-CEREZO, M.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, C.; ESCUDERO, V.; MIEDES, E.; FERNÁNDEZ, P. V.; JORDÁ, L.; MOLINA, A. *Arabidopsis* heterotrimeric G-protein regulates cell wall defense and resistance to necrotrophic fungi. **Molecular plant**, v. 5, n. 1, p. 98-114, 2012.

DETMANN, E.; SOUZA, M. D.; VALADARES FILHO, S. D. C.; QUEIROZ, A. D.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. D. O.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal Suprema**. ed. 1. Viçosa: Visconde do Rio Branco, 2012. p. 93.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Selenium: an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**. v. 272, n. 1, p. 77-86, 2005.

DOMICIANO, G. P.; CACIQUE, I. S.; CHAGAS FREITAS, C.; FILIPPI, M. C. C.; DAMATTA, F. M.; DO VALE, F. X. R.; RODRIGUES, F. Á. Alterations in gas exchange and oxidative metabolism in rice leaves infected by *Pyricularia oryzae* are attenuated by silicon. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 738-747, 2015.

DOUCHKOV, D.; LUECK, S.; HENSEL, G.; KUMLEHN, J.; RAJARAMAN, J.; JOHRDE, A.; SCHWEIZER, P. The barley (*Hordeum vulgare*) cellulose synthase-like D2 gene (HvCslD2) mediates penetration resistance to host-adapted and nonhost isolates of the powdery mildew fungus. **New Phytologist**, v. 212, n. 2, p. 421-433, 2016.

DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 385, p. 1304-1323, 2006.

EMBRAPA. **BRS Zuri, produção e resistência para a agropecuária**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2013, 2p.

EMBRAPA. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*, Dourados-MS, 2021. Disponível em: << <https://clima.cpao.embrapa.br> >> Acesso em: 15 fev. 2023.

ENDLER, A.; PERSSON, S. Cellulose synthases and synthesis in *Arabidopsis*. **Molecular Plant**, v. 4, n. 2, p. 199-211, 2011.

FARROKHI, N.; BURTON, R. A.; BROWNFIELD, L.; HRMOVA, M.; WILSON, S. M.; BACIC, A.; FINCHER, G. B. Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes. **Plant Biotechnology Journal**, v. 4, n. 2, p. 145-167, 2006.

FOURIE, A.; DE JONGE, R.; VAN DER NEST, M. A.; DUONG, T. A.; WINGFIELD, M. J.; WINGFIELD, B. D.; BARNES, I. Genome comparisons suggest an association between *Ceratocystis* host adaptations and effector clusters in unique transposable element families. **Genética e Biologia Fúngica**, v. 143, n.1, p. 103433, 2020.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higherplants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S., TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n.12, p. 909-930, 2010.

GILLSON, A. M. E.; GLOVER, S. A.; TUCKER, D. J.; TURNER, P. Crystal structures and properties of mutagenic N-acyloxy-N-alkoxyamides— “Most pyramidal” acyclic amides. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 1, n. 19, p. 3430-3437, 2003.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n.1, p. 63-68, 2006.

GOLOB, A.; KAVCIC, J.; STIBILJ, V.; GABERSCIK, A.; VOGEL-MIKUS, K.; GERM, M. The effect of selenium and UV radiation on leaf traits and biomass production in *Triticum aestivum* L. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 136, n. 1, p. 142-149. 2017.

GUPTA, M.; GUPTA, S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 2074, 2017.

HAMANN, T.; BENNETT, M.; MANSFIELD, J.; SOMERVILLE, C. Identification of cell-wall stress as a hexose-dependent and osmosensitive regulator of plant responses. **The Plant Journal**, v. 57, n. 6, p. 1015-1026, 2009.

JOSHI, S. M.; DE BRITTO, S.; JOGAIHAH, S.; ITO, S. I. Mycogenic selenium nanoparticles as potential new generation broad spectrum antifungal molecules. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 419, 2019.

KIM, S. H.; SICHER, R. C.; BAE, H.; GITZ, D. C.; BAKER, J. T.; TIMLIN, D. J.; REDDY, V. R. Canopy photosynthesis, evapotranspiration, leaf nitrogen, and

transcription profiles of maize in response to CO₂ enrichment. **Global Change Biology**, v. 12, n. 3, p. 588-600, 2006.

LI, J.; LI, Y.; LI, L.; LI, X.; LI, X. Lignin biosynthesis and regulation in plants. **Plant Journal**, v.100, n.1, p. 3-20, 2019.

LI, J.; XU, J.; QIN, Y.; LI, Q.; QIN, X. Nickel in agriculture: Functions, mechanisms, and implications. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n.1, p. 779-799, 2018.

LI, Q.; XIAN, L.; YUAN, L.; LIN, Z.; CHEN, X.; WANG, J.; LI, T. The use of selenium for controlling plant fungal diseases and insect pests. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.

LIU, Q.; WANG, D. J.; JIANG, X. J.; CAO, Z. H. Effects of the interactions between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza sativa*). **Environmental Geochemistry and Health**, v. 26, p. 325-330, 2004

LIU, R.; LI, J.; ZHANG, L.; FENG, T.; ZHANG, Z.; ZHANG, B. Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2304, 2021.

LORRAI, R.; FERRARI, S. Host cell wall damage during pathogen infection: mechanisms of perception and role in plant-pathogen interactions. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 399, 2021.

MACHADO, L. R. A.; OLIVEIRA, A. B.; MARIANO, R. L.; MARIANO, A. R. Fungicidas registrados para o controle da ferrugem da soja no Brasil. **Agronomia**, v.10, n. 1, p. 69-76, 2021.

MAMENKO, T. P.; KHOMENKO, Y. O.; KOTS, S. Y. A. Influence of fungicides on activities of enzymes of phenolic metabolism in the early stages of formation and functioning of soybean symbiotic apparatus. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 1, p. 111-116, 2019.

MAO, X.; HUA, C.; YANG, L. ; ZHANG, Y. ; SUN, Z. ; LI, L. ; LI, T. The effects of selenium on wheat fusarium head blight and DON accumulation were selenium compound-dependent. **Toxins**, v. 12, n. 9, p. 573, 2020.

MARAFON, A. C.; HERTER, F. G.; BACARIN, M. A.; HAWERROTH, F. J. Atividade da peroxidase durante o período hibernar de plantas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch.) cv. Jubileu com e sem sintomas da morte precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 938-942, 2009.

MARTINEZ, R. A. S.; REZENDE, P. M. D.; ALVARENGA, A. A. D.; ANDRADE, M. J. B. D.; PASSOS, A. M. A. D. Doses e formas de aplicação de selênio na cultura da soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 698-704, 2009.

MATTEI, E.; DE OLIVEIRA, P. S. R.; RAMPIM, L.; DE MORAES REGO, C. A. R.; BARTZEN, B. T.; VENGEN, A. P. Características agronômicas e produtividade da soja

em sistema de integração lavoura-pecuária. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e7909109114-e7909109114, 2020.

MEIRA, D.; WOYANN, L. G.; BOZI, A. H.; MILIOLI, A. S.; BECHE, E.; PANHO, M. C.; BENIN, G. Asian soybean rust: a scientometric approach of *Phakopsora pachyrhizi* studies. **Euphytica**, v. 216, p. 1-12, 2020.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MOSTOFA, M. G.; HOSSAIN, M. A.; SIDDIQUI, M. N.; FUJITA, M.; TRAN, L. S. P. Phenotypical, physiological and biochemical analyses provide insight into selenium-induced phytotoxicity in rice plants. **Chemosphere**, v. 178, p. 212-223, 2017.

NAWAZ, F.; ASHRAF, M. Y.; AHMAD, R.; WARAICH, E. A.; SHABBIR, R. N.; HUSSAIN, R. A. Selenium supply methods and time of application influence spring wheat (*Triticum aestivum* L.) yield under water deficit conditions. **The Journal of Agricultural Science**, v. 155, n. 4, p. 643-656, 2016.

ONS, L.; BYLEMANS, D.; THEVISSSEN, K.; CAMMUE, B. P. Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1930, 2020.

PACIOLLA, C.; DE LEONARDIS, S.; DIPIERRO, S. Effects of selenite and selenate on the antioxidant systems in *Senecio scandens* L. **Plant Biosystems**, v. 145, n. 1, p. 253-259, 2011.

PADILHA, N. S.; CECCON, G.; ALVES, V. B.; NETO, A. L. N.; DA SILVA, J. F.; MAKINO, P. A. Soybean yield in succession to single and intercropping corn and brachiaria and submitted to different irrigation intervals. **Revista Engenharia na Agricultura-Reveng**, v. 29, n. 1, p. 66-80, 2021.

PAULA, S. de ; HOLZ, S.; SOUZA, D. H. G.; PASCHOLATI, S. F. Potential of resistance inducers for soybean rust management. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 43, n. sup2, p. S298-S307, 2021.

PRASAD, M. N.V.; HAGEMeyer, J.; PRASAD, M. N. V.; STRZAŁKA, K. Impact of heavy metals on photosynthesis. In **Heavy metal stress in plants**. ed. 1. Springer, Berlin, Heidelberg, 1999. p. 117–138.

PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; STEWART, C. R. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. **Plant Physiology**, v. 105, n. 2, p. 619-627, 1994.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical. número de páginas 2020.

RAETANO, C. G.; NEGRISOLI, M. M.; DA SILVA, F. N.; RODRIGUES, D. M.; PRADO, E. P. Optimization of Application Technology for Plant Protection Products in Soybean Crops in Brazil. In: **Soybean-Recent Advances in Research and Applications**. IntechOpen, 2022.

RAMÍREZ, V.; AGORIO, A.; COEGO, A.; GARCÍA-ANDRADE, J.; HERNÁNDEZ, M. J.; BALAGUER, B.; VERA, P. MYB46 modulates disease susceptibility to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 155, n. 4, p. 1920-1935, 2011.

RAMOS, D. P.; TAVARES, T. C. D. O.; SOUSA, S. A. D.; NASCIMENTO, V. L.; MARTINEZ, R. A. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; FIDELIS, R. R. Agronomic biofortification of cowpea with selenium by foliar fertilization: effect of doses in three cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 4, p. 538-547, 2020.

RAMOS, S. J., FAQUIN, V.; ALMEIDA, H. J. D.; ÁVILA, F. W.; GUILHERME, L. R. G.; BASTOS, C. E. A.; ÁVILA, P. A. Selenato e selenito na produção, nutrição mineral e biofortificação com selênio em cultivares de alface¹. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1347-1355, 2011.

RAO, S.; YU, T.; CONG, X.; ZHANG, W.; ZHU, Z.; LIAO, Y.; XU, F. Effects of selenate applied at two growth stages on the nutrient quality of *Cardamine violifolia*. **Scientia Horticulturae**, v. 288, p. 110352, 2021.

REIS, A. R.; TABEL, K.; SAKAKIBARA, Y. Oxidation mechanism and overall removal rates of endocrine disrupting chemicals by aquatic plants. **Journal of Hazardous Materials** v.265, n.1, p.79-88, 2014.

REZENDE, P. M.; MARTINEZ, R. A. S.; DOS PASSOS, A. M. A.; BALIZA, D. P.; CARVALHO, E. R.; DE ÁVILA, F. W. Doses e formas de aplicação de selênio na produtividade e outras características agronômicas da soja [*Glycine max* (L.) Merrill cv. Luziânia]. **Global Science and Technology**, v. 4, n. 3, 2011.

SAHA, U.; FAYIGA, A.; SONON, L. Selenium in the soil-plant environment: A review. **International Journal of Applied Agricultural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-18, 2017.

SAMPEDRO, J.; PARDO, B.; GIANZO, C.; GUITIÁN, E.; REVILLA, G.; ZARRA, I. Lack of α -xylosidase activity in *Arabidopsis* alters xyloglucan composition and results in growth defects. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 1105-1115, 2010.

SHELLER, H. V.; ULVSKOV, P. Peter. Hemicelluloses. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 263-289, 2010.

SCHULZE, B.; MENTZEL, T.; JEHLE, A. K.; MUELLER, K.; BEELER, S.; BOLLER, T.; CHINCHILLA, D. Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 13, p. 9444-9451, 2010.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropicã-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

Systat Software Inc. **SigmaPlot versão 12.5**. San Jose, California, 2013.

TEJO, D. P.; SANTOS, F. C. H. Estudo sobre os impactos da adoção de métodos de adubação nitrogenada no desenvolvimento do trigo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 37, n. 73, p. 26-45, 2021.

TSUKAHARA, R.Y.; HIKISHIMA, M.; CANTERI, M. G. Relações entre o clima e o progresso da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em duas micro-regiões do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 47-52, 2008.

VAN SOEST, C.J; WINE, R.H. The use of detergents in analysis of fibrous feeds: IV. Determination of plant cell-wall constituents. **Journal of Association Official Analytical Chemists International**, v.50, n.50, 1967.

VAN SOEST, P. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of official Agricultural Chemists**, v. 46, n. 5, p. 829-835, 1963.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p. 93.

WAN, J.; HE, M.; HOU, Q.; ZOU, L.; YANG, Y.; WEI, Y.; CHEN, X. Cell wall associated immunity in plants. **Stress Biology**, v. 1, n. 1, p. 3, 2021.

WU, M.; CONG, X.; LI, M.; RAO, S.; LIU, Y.; GUO, J.; YU, T. Effects of different exogenous selenium on Se accumulation, nutrition quality, elements uptake, and antioxidant response in the hyperaccumulation plant *Cardamine violifolia*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 204, p. 111045, 2020.

XU, J., JIA, W., HU, C., NIE, M., MING, J., CHENG, Q., ZHAO, X. Selenium as a potential fungicide could protect oilseed rape leaves from *Sclerotinia sclerotiorum* infection. **Environmental Pollution**, v. 257, p. 113495, 2020.

YOKOYAMA, A. H.; RIBEIRO, R. H.; JUNIOR, A. A. B.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; ZUCARELI, C. Índices de área foliar e SPAD da soja em função de culturas de entressafra e nitrogênio e sua relação com a produtividade. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 953-962, 2018.

ZHOU, S.; LOU, Y. R.; TZIN, V.; JANDER, G. Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory. **Plant Physiology**, v. 169, n. 3, p. 1488-1498, 2015.