

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**TRATAMENTO DE MUDAS DE REPOLHO (*Brassica oleracea* L. var.
capitata L.) NO CONTROLE DE HÉRNIA DAS CRUCÍFERAS
(*Plasmodiophora brassicae* Woronin)**

LUIZ FELIPE GUEDES BALDINI

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Campus
de Botucatu, para obtenção do Título de
Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP

Agosto – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**TRATAMENTO DE MUDAS DE REPOLHO (*Brassica oleracea* L. var.
capitata L.) NO CONTROLE DE HÉRNIA DAS CRUCÍFERAS
(*Plasmodiophora brassicae* Woronin)**

LUIZ FELIPE GUEDES BALDINI

Orientadora: Prof^a. Dra. Romy Goto
Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Campus
de Botucatu, para obtenção do Título de
Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP

Agosto – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B177t Baldini, Luiz Felipe Guedes, 1985-
Tratamento de mudas de repolho (*Brassica oleracea* L. var. capitata L.) no controle de hérnia das crucíferas (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) / Luiz Felipe Guedes Baldini. - Botucatu : [s.n.], 2016
viii, 66 f. : fots. color., ils. color., grafos. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2016
Orientador: Romy Goto
Coorientador: Antonio Carlos Maringoni
Inclui bibliografia

1. Repolho - Doenças e pragas. 2. Repolho - Mudas - Qualidade. 3. Patógeno de solo - Prevenção. 4. Fungicidas. I. Goto, Romy. II. Maringoni, Antonio Carlos. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: TRATAMENTO DE MUDAS DE REPOLHO (*Brassica oleracea* L.
var. *capitata* L.) NO CONTROLE DE HÉRNIA DAS
CRUCÍFERAS (*Plasmidiophora brassicae* Woronin)

AUTOR: LUIZ FELIPE GUEDES BALDINI

ORIENTADORA: RUMY GOTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA
(HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. RUMY GOTO
Dep de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu



Prof. Dr. MARCIO CHRISTIAN S. DOMINGUES
Botucatu/SP



Prof. Dr. RERISON CATARINO DA HORA
Dep de Ciências Agrômicas / Centro de Ciências Agrárias - Universidade Estadual de Maringá

Botucatu, 05 de agosto de 2016.

DEDICO

Aos meus pais

Antonio Carlos Baldini e Ana Lucia Guedes Baldini

Por todo carinho, apoio, orientação e exemplo de vida que me dão todos os dias.

Aos meus irmãos José Mateus e Antônio Fabricio (Em memória)

À Micheli da Silva Christophano

Aos meus familiares e amigos

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A DEUS por permitir que eu exista e tenha conseguido alcançarmos um objetivo de vida.

A Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agronômicas – Campus de Botucatu, pela oportunidade da realização do curso de mestrado.

A CAPES, pela concessão da bolsa do mestrado, que me ajudou durante a condução dos trabalhos.

A Profa. Dra. Romy Goto, pela orientação, grande amizade, ensinamentos, por compartilhar seus conhecimentos, pela paciência ao longo de todos esses anos.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Maringoni pela amizade, orientação, por compartilhar seus conhecimentos sempre, minha elevada estima e consideração.

À Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima, pela amizade, pelas brincadeiras, por compartilhar seus conhecimentos sempre com muita paciência, pelo espaço do laboratório para a realização do experimento, por dispor do seu tempo comigo.

Aos amigos Luan Fernando O. S. Rodrigues, Monica Bartira da Silva e Marizete C. de S. Vieira pela amizade, troca de conhecimentos técnicos e por toda ajuda durante a condução dos experimentos no campo (mesmo com chuva e frio) e no laboratório (com horas e mais horas durante as análises bioquímicas).

Aos amigos Ewerton Gaspareto da Silva, Thais Botamede Spadoni e Lidiane Fernandes Colombari e Cristina Teixeira Pinto pela amizade e grande apoio e ajuda durante o curso do mestrado.

Aos amigos e familiares que deram apoio, incentivo e orientação durante esse período acadêmico.

Aos Professores e funcionários da F.C.A. que contribuíram durante minha formação profissional.

Aos amigos de Pós-graduação e do laboratório da Professora “Fina” que contribuíram para minha formação acadêmica.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

Página

1. RESUMO	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUÇÃO	3
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
4.1 O Hospedeiro	5
4.2 A hérnia das crucíferas	6
4.3 Métodos de controle	9
4.3.1 Nutrição.....	9
4.3.2 Controle químico	11
4.3.3 Controle biológico.....	12
4.4 Mecanismos de defesa das plantas ao ataque de patógenos.....	13
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
5.1 Produção das mudas e local dos experimentos	16
5.2 Produtos utilizados	17
5.3 Experimento I: Eficácia de produtos químicos, biológicos e nutrientes em épocas de aplicação no manejo de hérnia.	18
5.3.1 Implantação	18
5.3.2 Inoculação	18
5.3.3 Aplicação dos produtos e delineamento experimental	19
5.3.4 Características agronômicas avaliadas.....	21
5.4 Experimento II: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes no controle de hérnia e alterações bioquímicas	23
5.4.1 Implantação	23
5.4.2 Inoculação	23
5.4.3 Aplicação dos Tratamentos e delineamento experimental	23
5.4.4. Características agronômicas e doenças avaliadas	26
5.4.5. Análises bioquímicas	26
5.5 Experimento III: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes aplicados nas mudas para o controle preventivo da hérnia das brássicas	29

5.5.1 Implantação	29
5.5.2 Aplicação dos tratamentos.....	29
5.5.3 Características agronômicas avaliadas.....	30
5.6 Análise estatística dos dados.....	31
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6.1 Experimento I: Eficácia de produtos químicos, biológicos e nutrientes em épocas de aplicação no manejo de hérnia.	32
6.2 Experimento II: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes no controle de hérnia e alterações bioquímicas	41
6.3 Experimento III: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes aplicados nas mudas para o controle preventivo da hérnia das brássicas.	56
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
8. CONCLUSÕES	61
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo da <i>Plasmodiophora brassicae</i> . Visão geral do ciclo (A) e ciclo detalhado de cada estágio e em vermelho o intervalo de tempo aproximado de cada fase do ciclo (B). Adaptado de AUER e LUDWIG-MÜLLER (2015).....	8
Figura 2 Medida do diâmetro da cabeça de repolho UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014 Foto: L. F. G. Baldini.	21
Figura 3 Medida da altura de planta e altura do coração na cabeça de repolho UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014 Foto: L. F. G. Baldini.	21
Figura 4: Escala de nota de severidade de hérnia das crucíferas em raiz de repolho. Adaptado de Takahashi (1994). Foto: L. F. G. Baldini	22
Figura 5: Vista geral do experimento II aos 35 dias após o transplante. Sítio Janeiro, Pardinho, SP, 2014. Foto: L. F. G. Baldini.	24
Figura 6: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: A - Massa média de cabeças (g) colhidas no experimento I; B - Severidade da hérnia das crucíferas (%) na área experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.....	40
Figura 7 Evolução da doença ao longo do ciclo da cultura, ilustrado através dos gráficos com área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) no experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.	43
Figura 8: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: A - Massa média de cabeça (g) produzidas no experimento II; B - Severidade de hérnia das crucíferas (%) na área do experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.....	46
Figura 9: A ao E – Atividade da superóxido dismutase (SOD, U mg ⁻¹ de proteína) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da superóxido dismutase (SOD, U mg ⁻¹ de proteína) em raízes de repolho. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.	49
Figura 15: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: A - Massa média de cabeça (g) B - Severidade (%) da hérnia na área do experimento III. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.....	59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Resultado da análise química básica do solo. FCA/UNESP, 2014.....	17
TABELA 2: Descrição dos tratamentos aplicados no experimento 1.	20
TABELA 3: Arranjo dos tratamentos com doses e épocas respectivas de aplicação no experimento 2. UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014.	25
TABELA 4: Arranjo dos tratamentos isolados e combinados no experimento 3. UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014.	30
TABELA 5. Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento I, na primeira colheita, aos 90 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.	34
TABELA 6. Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento I, na segunda colheita, aos 104 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.	35
TABELA 7. Produção média (kg/parcela) por tratamento em cada colheita e acumulada de repolho do experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.	37
TABELA 8. Comparação das médias de severidade e produção por parcela no experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.....	39
TABELA 9. Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento II aos 84 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu,SP, 2015.	42
TABELA 10. Comparação das médias para as características produção e área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) no experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.....	45
TABELA 11. Características observadas em plantas de repolho produzidas no experimento III aos 80 dias após o transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.	57
TABELA 12: Comparação das médias para as características produção por parcela e severidade da doença. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.	58

TRATAMENTO DE MUDAS DE REPOLHO (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) NO CONTROLE DE HÉRNIA DAS CRUCÍFERAS (*Plasmodiophora brassicae* Woronin). Botucatu, 2016 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista.

Autor: Luiz Felipe Guedes Baldini

Orientadora: Prof^a. Dra. Romy Goto

Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

1. RESUMO

Conduziu-se três experimentos no Sítio Janeiro, município de Pardinho-SP, em área de produção comercial de brássicas para avaliar o manejo alternativo de controle químico e/ou biológico associado a aplicação de nutrientes no controle preventivo de hérnia em repolho (*Plasmodiophora brassicae* Woronin). No primeiro experimento, avaliou-se a eficácia de produtos químicos, biológicos e nutrientes em diferentes épocas de aplicações no manejo da hérnia. No segundo, avaliou-se a eficiência de produtos químicos e nutrientes no manejo da hérnia sob aspectos patológicos e bioquímicos. No terceiro, avaliou-se a eficiência de produtos químicos e nutrientes aplicados nas mudas para manejo preventivo da hérnia. Com base nos resultados obtidos nos experimentos chegou-se às seguintes conclusões: a aplicação de ciazofamida em rega de mudas de repolho híbrido Shinsei, antes do transplante a campo, mostrou potencialidade de controle da hérnia das crucíferas e maior produção das plantas em áreas/solos com baixo a moderado inoculo da *P. brassicae*. Plantas de repolho híbrido Shinsei em função dos tratamentos empregados não mostraram alterações quanto ao incremento na atividade de enzimas (SOD, CAT, POD, PPO e PAL) e fenóis totais na parte aérea e nas raízes.

Palavras chaves: *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L., *Plasmodiophora brassicae*, manejo preventivo, aplicação em mudas.

CABBAGE SEEDLINGS TREATMENT IN CLUBROOTS CONTROL. Botucatu, 2016 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista.

Author: Luiz Felipe Guedes Baldini

Adviser: Prof^a. Dra. Romy Goto

Co-Adviser: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

2. SUMMARY

It was conducted three experiments on the Site Janeiro municipality of Pardinho-SP, in commercial production of brassica area to evaluate alternative management of chemical control and / or biological associated with application of nutrients in the preventive control clubroots in cabbage (*Plasmodiophora brassicae* Woronin). In the first experiment, evaluated the effectiveness of chemical, biological and nutrients in times of applications in the management of clubroots. Then, evaluated the effectiveness of chemicals and nutrients into the clubroots handling under pathological and biochemical aspects. In the third, evaluated the effectiveness of chemicals and nutrients applied to seedlings for preventive control of clubroots. Based on the results obtained in the experiments we came to the following conclusions: the application of cyazofamid in irrigation hybrid cabbage seedlings Shinsei before the transplant field, showed control capability clubroots and largest production plants in areas / soils with low to moderate inoculum of *P. brassicae*. Cabbage plants hybrid Shinsei depending employee's treatments showed no changes as to the increase in enzyme activity (SOD, CAT, POD, PPO and PAL) and total phenols in the shoot and in roots.

Keywords: *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L., *Plasmodiophora brassicae*, preventive control, application seedlings.

3.INTRODUÇÃO

Anualmente cerca de 80.000 toneladas de brassicas,são comercializadas no Brasil. Dentre estas, as principais são *Brassica oleracea* var. *botrytis*(couve flor), *Brassica oleracea* var. *italica* (brócolis), *Brassica rapavar. chinensis* (couve chinesa), *Brassica oleracea* var. *acephala* (couve folha) e *Brassica oleracea* var. *capitata* (repolho). Desse volume, 50 mil toneladas são de repolho (AGRIANUAL, 2015)

O cultivo sucessivo de plantas do gênero *Brassica* em uma mesma área, ao longo do ano,favorece o aumento na ocorrência de doenças radiculares como hérnia das crucíferas. Essa doença é caracterizada pelo desenvolvimento de galhas nas raízes, formadas devido à multiplicação e aumento das células do tecido radicular, que prejudica a absorção de água e nutrientes, interferindoconsequentemente, no crescimento, rendimento e qualidade do repolho para comercialização (MARINGONI, 2005; REIS, 2009)

A doença é causada por *Plasmodiophora brassicae* Woronin, um parasita biotrófico de solo, que necessita de tecidos de raízes vivas para se desenvolver e sobrevive por longos períodos no solo, via estrutura de resistência, que dificulta o seu controle (REIS, 2009).

Isso se torna um grande problema porque, a partir do momento que, a área cultivada estiver infestada com o patógeno, não existirão maneiras de erradicá-lo, portanto é necessário elaborar estratégias para conviver com a doença, minimizando os impactos na produção (MANITOBA AGRICULTURE, 2015)

Entre os métodos de controle da doença utilizados em campo estão: condições adequadas de drenagem, uso de mudas saudáveis, calagem e rotação de culturas (TREMBLAY et al., 2005). Uso de cultivares ou híbridos resistentes/tolerantes também é uma ferramenta para manejo da doença, contudo, essa medida tem mostrado pouco sucesso devido à ocorrência de numerosas raças do patógeno. O controle químico também é utilizado, porém não é eficiente por se tratar de um patógeno de solo (DIXON; ROBINSON, 1996) e a nutrição das plantas com alguns nutrientes específicos como o cálcio, o nitrogênio (DIXON, 2009) e boro apresentam resultados positivos na redução da doença (RUARO, LIMA NETO e JÚNIOR, 2009).

Em virtude da dificuldade de controle da doença principalmente em áreas infestadas é necessário elaborar estratégias que possibilitem o manejo da doença, sem que prejudique a produção. Atualmente no mercado, existem vários produtos com diferentes princípios ativos capazes de exercer controle e, juntamente com aplicações complementares de alguns nutrientes, buscam modificar o mecanismo de defesa das plantas visando à sobrevivência das mesmas e consequentemente a produção comercial desejada pelo produtor.

Dentre os mecanismos de defesa das plantas às condições de estresse provocado pela doença, vale ressaltar a capacidade das plantas reagirem através de sistemas bioquímicos de defesa: enzimático ou não enzimático. Ambos são ativados pelo aumento de radicais livres (espécies reativas de oxigênio) produzidos pelas plantas sob condições de estresse, seja pelo ataque de patógenos ou pragas, seja por condições do ambiente, como oscilação de temperatura ou luminosidade.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar alternativas de controle químico e/ou biológico associados à aplicação de nutrientes no controle preventivo da doença das crucíferas em repolho.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O Hospedeiro

A família Brassicaceae tem grande importância econômica devido ao grande número de espécies utilizadas na alimentação. As principais são repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck), couve folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC), couve flor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.), couve chinesa (*Brassica pekinensis* Lour e *Brassica chinensis* L.), rúcula (*Eruca sativa* Mill), rabanete (*Raphanus sativus* L.), rábano (*Raphanus sativus* L. var. *acanthiformis*), nabo (*Brassica rapa* L. var. *rapa*), couve de bruxelas (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* DC), couve rábano (*Brassica oleracea* L. var. *gongyloides* L.) e o agrião da água (*Rorippa nasturtium-aquaticum* L.)(FILGUEIRA, 2008).

A produção mundial de repolho está em torno de 55 milhões de toneladas de “cabeças” frescas, cultivadas anualmente em 2,6 milhões de hectares (FAO,2014). No cenário econômico brasileiro é uma hortaliça de importância econômica, com volume comercializado pela Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), em 2014, de aproximadamente 80 mil toneladas (AGRIANUAL, 2015).

No Brasil, essa cultura tem grande importância econômica e social, sendo cultivada em praticamente todas as regiões do país, principalmente por pequenos produtores que buscam boa rentabilidade econômica em curto período de tempo com destaque para as regiões sudeste e sul, que são as principais produtoras.

A planta do repolho é herbácea, formada por inúmeras folhas que se sobrepõem formando uma “cabeça” que constitui a parte comestível. É uma espécie cultivada o ano todo, com o ciclo fenológico desde a semeadura até a colheita de 80 a 140 dias, dependendo do cultivar, do clima e da época da colheita. A “cabeça” pode ser pontuda, redonda ou achatada, apresentando cores verde ou roxa, com folhas lisas ou crespas e a massa da cabeça pode variar entre 0,5 kg a 3,5 kg (FILGUEIRA, 2008). A temperatura média para seu cultivo está em torno de 25°C durante o dia e 17°C durante a noite com umidade relativa em torno de 60 a 90%. (TIVELLI e PURQUERIO, 2015).

A necessidade de água situa-se em torno de 4mm/dia, após o transplante, e aumenta para 5mm/dia após 20 dias (LUZ, SABOYA e PEREIRA, 2002). Segundo esses autores, a escassez de água durante o período de formação da cabeça pode resultar em produtos menores, de baixo valor comercial. (FILGUEIRA, 2008).

Usualmente é feito a produção de mudas em ambiente protegido e posterior transplante a campo para que se tenha melhor uniformidade do número de plantas em menor tempo, além de diminuir os custos de produção. O transplante é feito em canteiros com espaçamentos entre plantas de 0,3 e 0,5m, conforme o interesse do produtor e do mercado para onde será destinado suas vendas. (FILGUEIRA, 2008).

A colheita tem início a partir dos 80 dias dependendo do cultivar. As cabeças devem estar compactas e bem formadas, com as folhas que revestem a cabeça apresentando os bordos voltados para trás. As folhas externas ficam caídas e ocorre a mudança da coloração verde para um tom claro (LUZ, SABOYA e PEREIRA, 2002). A produtividade é variável, geralmente superior a 50 t ha⁻¹. (FILGUEIRA, 2008).

4. 2 A hérnia das crucíferas

A hérnia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae* Woronin pertencem ao grupo das doenças de podridões de raízes e colo, e provocam danos comprometendo a absorção de água e de nutrientes, interferindo no desenvolvimento normal da planta (BERGAMIN FILHO, KIMATI e AMORIN, 1995). É de ocorrência cosmopolita e na Europa é conhecida desde o século XIII (DIXON, 2009). No Brasil ocorre nas regiões sul e sudeste do país por serem as regiões onde mais se cultivam brássicas, mas também pode ocorrer onde predomina clima ameno, temperaturas entre 12°C e 27°C, solos com temperatura variando de 16°C e 21°C, umidade acima de 70% e pH ácidos (MARINGONI, 2005; DIXON, 2009; KAGEYAMA e ASANO, 2009).

Hérnia é caracterizada pela formação de galhas que se desenvolvem nas raízes de plantas suscetíveis da família das brassicaceas dando tal nome à doença. As galhas podem ter tamanhos variando desde alguns milímetros até maiores de 10 cm de diâmetro, prejudicando todo o processo de absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular, causando grande estresse à planta prejudicando o crescimento, rendimento e qualidade da cabeça para comercialização (MARINGONI, 2005; DIXON, 2009).

A extensão dos danos às raízes pode variar consideravelmente dependendo da quantidade de inóculo de *P. brassicae* no solo, das condições ambientais predominantes e o grau de resistência do hospedeiro (STRELKOV, HWANG, *et al.*, 2011). Inicialmente, as galhas têm aparência de cor clara, esbranquiçada, posteriormente, torna-se de cor acastanhada com textura macia e esponjoso conforme vai “amadurecendo”. (MARINGONI, 2005; REIS, 2009; STRELKOV, HWANG, *et al.*, 2011).

Em função da formação das galhas no sistema radicular, na parte aérea são observados sintomas reflexos como murcha e amarelecimento prematuro das folhas e nanismo. O rendimento da cultura pode cair significativamente quando os sintomas são mais severos (DIXON, 2009; MARINGONI, 2005).

P. brassicae é um parasita biotrófico, ou seja, é um plasmodiophoromiceto ou “endoparasitic slime mold”, um organismo mais próximo taxonomicamente dos protozoários do que dos fungos, que precisa da presença de raízes vivas do hospedeiro para completar seu ciclo (REIS, 2009) que é composto por três fases: esporo de resistência no solo, infecção das raízes e infecção cortical (KAGEYAMA e ASANO, 2009).

Nas galhas de raízes infectadas, os esporos de resistência se formam e tem grande capacidade de sobreviver no solo por grandes períodos até que uma nova planta hospedeira se desenvolva no local. Ao entrar em contato com as radículas da planta hospedeira, o esporo germina ocorrendo a primeira fase da infecção por um zoósporo primário (KAGEYAMA e ASANO, 2009).

Mais tarde, os zoósporos passam por divisões celulares em plasmódios até a formação do zoosporângio, de onde são formados e liberados os zoósporos secundários que são lançados ao solo. Os plasmódios ou zoósporos secundários movem-se e penetram nos tecidos, se estabelecendo dentro de células, provocando a multiplicação rápida com aumento excessivo do tamanho das células, caracterizado pela hipertrofia e hiperplasia celular, que formam as galhas (MARINGONI, 2005; KAGEYAMA e ASANO, 2009). As células afetadas eventualmente darão origem a uma nova geração de esporos de resistência (KAGEYAMA e ASANO, 2009; DIXON, 2009; STRELKOV, HWANG, *et al.*, 2011). O ciclo da doença encontra-se ilustrado na Figura 1.

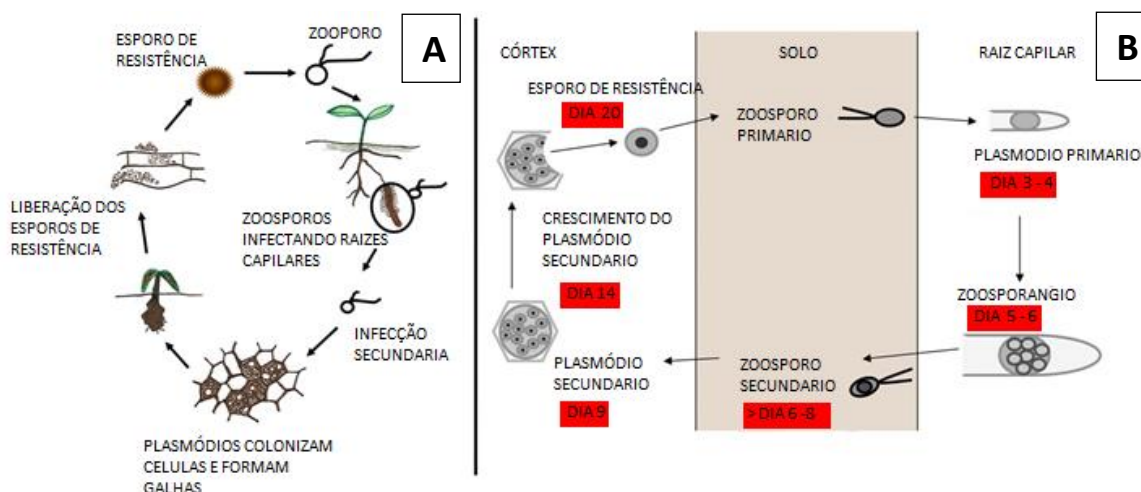


Figura1: Ciclo da *Plasmodiophora brassicae*. Visão geral do ciclo (A) e ciclo detalhado de cada estágio e em vermelho o intervalo de tempo aproximado de cada fase do ciclo (B). Adaptado de AUER e LUDWIG-MÜLLER (2015)

As condições favoráveis para o desenvolvimento da doença são temperaturas entre 12°C e 27°C, com temperaturas do solo variando entre 16°C e 21°C, para que haja germinação dos esporos. Solos com umidade acima de 70% e pH mais ácidos favorecem a infecção do patógeno no hospedeiro (MARINGONI, 2005; DIXON, 2009; KAGEYAMA e ASANO, 2009).

Por se tratar de um patógeno de solo, sua disseminação ocorre lentamente de várias maneiras, desde mudas infectadas produzidas em locais contaminados, escoamento de água no solo de uma área para outra, pela movimentação de máquinas e implementos agrícolas ou mesmo de trabalhadores carregando solo contaminado entre lavouras (MARINGONI, 2005; REIS, 2009).

Strelkov et al (2011) relataram que durante estudos da distribuição de plantas de canola infectadas dentro do campo de produção, a maior ocorrência era próxima às áreas de entrada do campo e esta diminuía significativamente após percorrer 150 a 300m da entrada, confirmando que a movimentação de máquinas carregando os esporos de resistência é uma importante forma de disseminação.

4.3 Métodos de controle

O controle da hérnia é algo que preocupa os produtores de brássicas, devido à falta de estratégias eficientes, o que os obriga adotar uma sequência de manejos visando aumentar a sanidade da propriedade para obter uma produção satisfatória.

O manejo inicia-se com o mapeamento das áreas infestadas para restringir a movimentação em áreas sadias, prevenir o escoamento de água para evitar a disseminação do patógeno, usar cultivares e híbridos resistentes quando possível, aumentar o uso de adubação orgânica e fazer o controle químico e/ou biológico da doença (REIS, 2009; DIXON, 2009).

Outras medidas de controle da doença que devem ser adotadas são o saneamento das máquinas agrícolas e outros equipamentos como tubos de irrigação que transitam entre áreas infestadas e sadias para diminuir a disseminação do patógeno.

Nas áreas onde já se diagnosticou a presença do patógeno, as estratégias de manejo a serem adotadas são rotação de culturas, com culturas não hospedeiras, que auxiliam na redução da severidade da doença (COSTA e VENTURA, 2004).

Se a rotação de culturas for a única forma de controle, deve-se fazê-la por um período mínimo de quatro anos (REIS, 2009), no entanto, se a densidade dos esporos de resistência estiver alta, períodos maiores devem ser respeitados com rotação, uma vez que os esporos de resistência podem ter uma meia-vida, estimada entre 3,6 e 20 anos (STRELKOV, HWANG, *et al.*, 2011).

O monitoramento do pH do solo deve ser considerado no manejo da doença, devendo evitar pH igual ou inferior a 5,8 pois favorece o desenvolvimento do patógeno. Se elevarmos o pH para valores acima de 6,5, o patógeno diminui sua capacidade de infecção e desenvolvimento (DIXON, 2009; PENALBER, 2009; RUARO, LIMA NETO e JÚNIOR, 2009).

4.3.1 Nutrição

O fornecimento equilibrado dos nutrientes para a planta em cada fase de seu desenvolvimento juntamente com o fornecimento adequado de água, promovem, em condições climáticas de temperatura e luminosidade, o máximo de

produção de biomassa que uma cultura agrícola pode dispor. Isso seria uma verdade absoluta, se nada mais influenciasse no meio, como o ataque de pragas e doenças que desestabilizam o funcionamento perfeito dessa “máquina”. No entanto, a manipulação dos nutrientes diretamente através da aplicação adequada de fertilizantes ou indiretamente através de uso de diferentes práticas culturais como calagem, ajustes do pH do solo, tratamento químico, manejo da microbiologia do solo e a nutrição mineral, é possível se ter estratégias para melhorar o controle das doenças em plantas (VIECELLI, MOREIRA, *et al.*, 2012; ZAMBOLIM, VENTURA e JUNIOR, 2012).

Na graduação da importância dos elementos minerais para a planta, o nitrogênio (N) é considerado o mais importante, por participar na constituição de compostos de carbono como proteínas, aminoácidos, pigmentos, ácidos nucleicos, hormônios, coenzimas, vitaminas, entre outras, sendo que sua deficiência pode limitar o crescimento em massa, antecipar senescência e processo reprodutivo da planta. O enxofre (S) participa junto com o N na composição dos compostos de carbono. O fósforo (P) tem sua importância em reações que envolvem o ATP. O potássio (K) é o principal responsável pelo turgor celular e manutenção da eletroneutralidade da célula, além de sua importância para as enzimas como o magnésio (Mg) que participa na transferência de fosfatos nas enzimas e é o principal constituinte da molécula de clorofila. O cálcio (Ca) é importante constituinte da lamela média da parede celular, participa na hidrólise do ATP e na regulação metabólica. O boro (B) tem grande importância no alongamento celular por ser constituinte da parede celular. O manganês (Mn), zinco (Zn), ferro (Fe), cobre (Cu), níquel (Ni) e o molibdênio (Mo) participam em reações redox na planta (ZAMBOLIM, VENTURA e JUNIOR, 2012).

O aumento dos teores de Ca no solo através da calagem já é recomendado há mais de 100 anos para o controle da *P. brassicae*, seja pelo aumento do pH (FRIBERG, 2005), ou pelo próprio aumento do teor do nutriente que prejudica o desenvolvimento não só da hérnia, mas também de outros patógenos de solo (ZAMBOLIM, COSTA e VALE, 2005).

Ruaro *et al* (2009) relatam que o aumento da concentração de B no solo a teores entre 10 e 30 mg kg⁻¹ e adubações nitrogenadas concentradas usando nitrato de cálcio como fonte, com pH acima de 6,5 aumentaram a produção de massa fresca com resultados positivos na redução da severidade da doença na cultura de Pak choi.

O ataque de patógenos que causam podridão de raízes e galhas, prejudicam a absorção, solubilização e distribuição dos nutrientes consequentemente, prejudicando a eficiência metabólica da planta(ZAMBOLIM, VENTURA e JUNIOR, 2012).

4.3.2 Controle químico

O controle químico de doenças radiculares apresenta enorme limitação em relação à eficiência, devido à maioria dos produtos serem eficientes apenas quando aplicados de forma preventiva, após a infecção das plantas, haverá o desenvolvimento das galhas, prejudicando o processo de absorção de água e nutrientes, o que se traduz em perda parcial ou total da produção(MICHEREFF et al., 2005). Além do mais, no momento da colheita, não é permitido resíduo de produtos químicos (PENALBER, 2009)

Ao longo dos tempos, uma gama de fungicidas já foram usados e recomendados para o controle da hérnia, aplicados em pré ou pós plantio, através de rega das mudas no transplante ou ainda na fumigação do solo(CHEAH e PAGE, 1997; DIXON, 2009; VIDAL, 2012).

Em outros países, alguns são os produtos com registro para controle da hérnia, incluindo pentacloronitrobenzeno e fluazinam(STRELKOV, HWANG, et al., 2011), porém sem controle eficiente da doença(FRIBERG, 2005; DIXON, 2009; STRELKOV, HWANG, et al., 2011)

Atualmente, foram desenvolvidos produtos químicos mais eficazes, como a ciazofamida já registrada no Brasil para o controle da hérnia(AGROFIT, 2016). Stelkov et al (2011) relataram o uso da ciazofamida com resultados positivos no controle da hérnia em cultivo de canola. Mitani et al (2003) relatam também a eficiência da ciazofamida em couve chinesa, em que a mesma inibiu a germinação de esporos de repouso, infecção dos pêlos radiculares e formação de galhas e concluíram ainda, que a doença pode ser controlada com uma aplicação na bandeja, antes do transplante das mudas.

O modo de ação da ciazofamida (4-chloro-2-cyano-N, N-dimethyl-5-p-tolylimidazole-1-sulfonamide) é através da inibição do transporte de elétrons nas mitocôndrias resultante da ligação em um local específico no citocromo B inibindo a

produção de energia (ATP) e afeta todas as fases do ciclo de vida do patógeno (MITANI, SUGIMOTO, *et al.*, 2003). Outros produtos também têm modo de ação semelhantes na inibição da respiração mitocondrial como os pertencentes ao grupo das estrobilurinas.

O grupo químico das estrobilurinas abrange vários princípios ativos que exercem controle sobre patógenos como *Verticillium dahliae* em tomateiro e berinjela (BUBICI, AMENDUNI, *et al.*, 2006), *Fusarium oxysporum*, em plantas de cravo e margarida (GULLINO, MINUTO, *et al.*, 2002), *Rhizoctonia solani*, em beterraba (STUMPL, FRANCI, *et al.*, 2004), além de outros patógenos de solo.

Salman *et al.*, (2012) obtiveram bons resultados no controle de *Pythium spp.*, patógeno que causa tombamento em mudas de tomateiro, utilizando piraclostrobina, fungicida pertencente ao grupo químico das estrobilurinas.

4.3.3 Controle biológico

Além de estratégias culturais e químicas para controle da hérnia, o controle biológico tem despertado o interesse para essa doença. Estudos relatam o uso de microrganismos empregados para o controle de diversos patógenos de solo, porém ainda não foi relatado produtos biológicos específicos registrados para o controle da hérnia.

Os fungos do gênero *Trichoderma spp.* são eficazes no controle de vários de patógenos de plantas, principalmente aqueles com estrutura de resistência cujo controle químico é menos eficiente. *Trichoderma harzianum* é a espécie mais estudada, contudo outras espécies como *T. koningii*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. pseudokoningii* e *T. polysporum* também têm sido isoladas e estudadas. Essas espécies mostram potencial antagônico a patógenos habitantes do solo, tais como, *R. solani*, *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum*, *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, *Fusarium spp.* e *Pythium spp.* (MARIANO, SILVEIRA e GOMES, 2005).

O controle da hérnia através de fungicidas biológicos apresenta resultados positivos na diminuição do patógeno, pela presença dos inimigos naturais como *Trichoderma spp.*, porém, sem controle eficiente da doença (BOTERO, GÓMEZ, *et al.*, 2015).

4.4 Mecanismos de defesa das plantas ao ataque de patógenos

As plantas ao longo do seu desenvolvimento sofrem influência de diversos fatores do ambiente, como oscilação extrema da temperatura, da umidade, disponibilidade de água e luz, além do ataque de pragas e patógenos que podem provocar injúrias, induzindo a estresses, com concomitante aumento da quantidade de espécies reativas de oxigênio (ERO's), promovendo o desequilíbrio, ativando mecanismos de eliminação dessas ERO's nas plantas. Estas substâncias podem reagir com proteínas alterando atividade enzimática, reagir com lipídios aumentando permeabilidade de membranas (MOLLER, 2001), ativar processo de morte celular ou aumentar a resposta sistêmica a patógenos (PANDHAIR e SEKHON, 2006).

As ERO's são constituídas por radicais livres, principalmente ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($OH^{\cdot}$). A produção em excesso desses radicais, além da capacidade antioxidativa causará o estresse oxidativo da planta (SCANDALIOS, 2005).

Para evitar o acúmulo das ERO's e sobreviver às condições de estresse, as plantas possuem dois sistemas de defesa antioxidante: um enzimático e outro não enzimático. O sistema enzimático é composto por diversas enzimas, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) e glutathione S-transferase (GSTs). O mecanismo de defesa não enzimático abrange as vitaminas C e E, β -caroteno, glutathione (GSH), compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas (BLOKHINA, VIRILAINEN e FAGERSTEDT, 2003; SCANDALIOS, 2005).

A SOD (EC 1.15.1.1) é a primeira enzima da linha de defesa das plantas contra as EROS nas células, entre organismos que consomem oxigênio. Pode ser encontrada em três classes diferenciadas de isoenzimas nas plantas que são classificadas de acordo com seu metal cofator Fe, Mn e Cu/Zn (GRATÃO, POLLE, *et al.*, 2005). As Cu/Zn-SOD estão localizadas no citosol e cloroplastos, Fe-SOD localizadas nos cloroplastos e Mn-SOD localizadas na matriz. A enzima trabalha catalisando a dismutação do superóxido $O_2^{\cdot-}$ em H_2O e O_2 , representando, assim, um dos principais mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo celular (SCANDALIOS, 2005).

A catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) é encontrada, nas plantas, nos peroxissomos e glioxissomos. Tem a capacidade de degradar o peróxido de hidrogênio em

H₂O e O₂, por isso, é muito importante no sistema antioxidativo e são separadas em três classes: Na classe I - responsáveis por remover o H₂O₂ produzido durante a fotorrespiração, são encontradas no tecido fotossintético; Classe II - localizada no tecido vascular participa do processo de lignificação e, por fim, a classe III – encontradas em sementes e plantas e degradam o H₂O₂ produzido durante a degradação dos ácidos no glioxissoma (RESENDE, SALGADO e CHAVES, 2003).

A peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7) está envolvida nas respostas ao estresse, participando da oxidação de compostos fenólicos, ligação de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético e desta maneira, participando da lignificação, cicatrização de ferimentos, defesa de patógenos (HIRAGA, SASAKI, *et al.*, 2001; CAMPA, 1991). Além disso, catalisa a oxidação de substratos através da reação com H₂O₂ (YOSHIDA, KAO THIE N, *et al.*, 2003). Podem ser divididas em três classes: Classe I - enzimas intracelulares em plantas, bactérias e leveduras, como a peroxidase e ascorbato, peroxidase de cloroplasto e citosol. Classe II - enzimas extracelulares de fungos, e a Classe III - constituída por peroxidases que são secretadas no apoplasto (HIRAGA, SASAKI, *et al.*, 2001). A atividade da peroxidase tem sido demonstrada por ser induzida por fungos, bactérias e vírus (BABU, GRIFFITHS, *et al.*, 2008; HIRAGA, ITO, *et al.*, 2000).

A polifenoloxidase (PPO) (EC 1.14.18.1) na origem da palavra, significa “catalisadora da oxidação de diversos fenóis” (SOUZA, 2009). É sintetizada no citoplasma e armazenada nos cloroplastos e participa do grupo das oxirredutases, torna-se ativa quando liberada na membrana dos tilacóides devido ao rompimento causado por dano, senescência, ataque de patógenos ou insetos (MAYER; HAREL, 1991), promovem a hidroxilação de compostos fenólicos, formando quinonas, que ao sofrerem polimerização não-enzimática com aminoácidos ou proteínas, formam pigmentos marrom, vermelho ou preto, responsáveis pelo escurecimento dos tecidos (UNDERHILL; CRITCHLEY, 1995).

Outra enzima relacionada com estresse em plantas atacadas por microrganismos/patógenos e que tem sua atividade alterada é a fenilalanina amônia liase (PAL) (EC 4.1.3.5). É uma das enzimas mais importantes na síntese de compostos fenólicos, sendo estes precursores da lignina e do ácido salicílico, que atuam na defesa estrutural e no processo de sinalização da resposta sistêmica (BONAS; LAHAYE, 2002). A PAL é a enzima que leva à conversão de fenilalanina em ácido trans-cinâmico, com a eliminação de amônia e é considerada a enzima chave na síntese de vários compostos

secundários como fenóis e ligninas relacionadas com a defesa (HEMM, RIDER, *et al.*, 2004).

Os compostos fenólicos são sintetizados no metabolismo secundário das plantas e atuam no crescimento e reprodução. Sob condições de estresse como ferimentos por injúrias ou ataques de patógenos ou pragas, são produzidos em maior quantidade, servindo como um sinalizador no estudo da atividade enzimática da planta sob estes ataques (SHAHIDI e NACZK, 2002; VANITHA, NIRANJANA e UMESHA, 2009).

5.MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Produção das mudas e local dos experimentos

Foram conduzidos três experimentos de fevereiro de 2014 a janeiro de 2015 no Sítio Janeiro, localizado no município de Pardinho-SP, com acesso pela estrada vicinal Botucatu-Pardinho (coordenadas 23°02'32''S e 48°22'41''O) em campo com histórico de ocorrência de hérnia das crucíferas.

As mudas utilizadas em todos os experimentos foram produzidas no viveiro da propriedade, utilizando bandejas plásticas de 288 células (com 15mL de volume na célula totalizando 4,32L por bandeja) com substrato à base de casca de pinus (Vivato®).

Utilizou-se o híbrido F1 Shinsei da Empresa TOHOKU SEED CO., LTD do Japão, que tem como características cabeças de coloração verde clara, compactas, formato globo achatado, pesando entre 2 a 2,5kg.

Antes da instalação do experimento foi realizada análise química do solo. A amostra de solo foi retirada da área experimental na profundidade de 0-20 cm e colocadas para secar e posteriormente, foram determinados os teores de macro (P, K, Ca, Mg) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zi), pH, matéria orgânica, acidez potencial (H+Al), soma de bases, capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V%). As características químicas avaliadas, de acordo com a metodologia de Trani e Raij (1997), encontram-se na Tabela 1.

Com base na análise química do solo (Tabela 1) e segundo a recomendação de Trani e Raij (1997), foi realizada a adubação inorgânica de plantio

fornecendo 140 kg ha⁻¹ do formulado 4-14-8 na área experimental. O adubo foi distribuído sobre os canteiros e incorporado ao solo com a rotocaneteradora. A adubação em cobertura foi realizada aos 30 dias utilizando 40 kg ha⁻¹ do formulado 20-00-20 aplicado sobre os canteiros.

TABELA1. Resultado da análise química básica do solo. FCA/UNESP, 2014.

pH	M.O	Presina	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
CaCl ₂	g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	-----mmol _c .dm ⁻³ -----							
5,9	37	276	--	21	3,8	87	20	45	110	84
B	Cu	Fe			Mn			Zn		
-----mg/dm ³ -----										
0,81	7,1	62			10,2			20,9		

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da UNESP/FCA.

Na ausência de chuva, foi realizada a irrigação por aspersão. O controle das plantas espontâneas foi realizado com capinas, utilizando enxadas, quando necessário.

5.2 Produtos utilizados

Os produtos que constituíram os tratamentos foram:

- Cabrio Top®: piraclostrobina (50g kg⁻¹ i.a.) + metiram (550g kg⁻¹ i.a.). É um produto composto por fungicida sistêmico (piraclostrobina) do grupo químico das estrobirulinas e inseticida sistêmico (metiram) do grupo químico alquilfenóis (ditiocarbamatos) (AGROFIT, 2016).
- Cantus®: boscalida (500g kg⁻¹ i.a.). Fungicida sistêmico do grupo químico anilidas, (AGROFIT, 2016).
- Ranman®: ciazofamida (400g L⁻¹ i.a.). Fungicida de contato do grupo químico dos imidazóis (AGROFIT, 2016).
- Raizal®: fertilizante foliar de formulação N-P-K (9-45-11) comercializado pela Arista LifeScience (ARYSTA, 2015).

- Biozyme TF®: Fertilizante líquido composto por nitrogênio (1,73%), potássio (K₂O; 5%), boro (0,08%), ferro (0,49%), manganês (1%), zinco (2,43%), enxofre (2,1%) e carbono orgânico (3,5%) para aplicação foliar comercializado pela Arysta Lifescience.
- Orkestra SC®: piraclostrobina (333g L⁻¹ i.a.) +fluxapiroxade (167g L⁻¹ i.a.). É um produto composto por fungicidas sistêmicos dos grupos químicos estrobilurina e carboxamida. (AGROFIT, 2016).
- Trichodermil®: é denominado um fungicida biológico composto de linhagem de fungo *Trichoderma harzianum* (48g L⁻¹ i.a.), denominada ESALQ 1306. (AGROFIT, 2016).

5.3 Experimento I: Eficácia de produtos químicos, biológicos e nutrientes em épocas de aplicação no manejo de hérnia.

5.3.1 Implantação

A semeadura foi realizada em 28 de fevereiro de 2014 e quando as plântulas atingiram quatro a cinco folhas definitivas totalmente desenvolvidas, efetuou-se as aplicações dos tratamentos (Tabela 2) nas bandejas (uma bandeja para cada tratamento respectivamente) e cinco dias após (com 32 dias após a semeadura), as plântulas foram transplantadas em canteiros com largura de 1,8m na base e 1,3m no topo com altura aproximada de 0,20 m. A parcela experimental tinha 1,3m de largura e 3,8m de comprimento contendo 30 plantas de repolho espaçadas de 0,35 m entre plantas e entre linhas no canteiro. Foram consideradas como área útil as seis plantas centrais.

5.3.2 Inoculação

No dia do transplante, as mudas foram regadas com uma solução de raízes e solo contaminados com hérnia oriundos de áreas vizinhas a do experimento. A suspensão foi feita coletando-se 10 raízes de plantas doentes com solo aderido, oriundas do cultivo que antecedeu o experimento. O material foi moído, macerado e diluído em 10 litros de água e posteriormente regou-se com 1 litro da suspensão por bandeja.

5.3.3 Aplicação dos produtos e delineamento experimental

Alguns dos tratamentos (Tabela 2) foram realizados nas bandejas com objetivo de se ter mudas já tratadas no transplante. A aplicação foi feita através de rega das bandejas, buscando deixar o substrato com o tratamento desejado. O procedimento foi realizado medindo quanto de água seria necessário para encharcamento total da bandeja até escorrer (pingar). Feito isso, diminuiu-se o volume em 20% para garantir de que não houvesse perdas do produto. Empregou-se na rega 0,8L de calda por bandeja. Para as pulverizações realizadas em campo, a mesma foi feita para que houvesse completo molhamento foliar das plantas.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 8 tratamentos e seis repetições e encontram-se descritos na Tabela 2.

TABELA2: Descrição dos tratamentos aplicados no experimento 1. UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014

Tratamentos	Épocas de aplicação	Dosagens
1. Testemunha	-	-
2. Ranman (ciazofamida)	Aplicação em bandeja pré-transplante	2mL do pc* (0,8mL ia**) por bandeja
Raizal (NPK; 9-45-11)		2g do pc por bandeja
Biozyme TF (micronutrientes)		3mL do pc por bandeja
3. Ranman (ciazofamida)	Aplicação em bandeja pré-transplante	2mL do pc (0,8mL ia.) por bandeja e 2,0L ha ⁻¹
Raizal (NPK; 9-45-11)	Aplicação no campo – 5 dias após o transplante e aos	1(0,8L ia.)
Biozyme TF (micronutrientes)	25 dias após o transplante	2g do pc por bandeja e 2,0kg ha ⁻¹ 3mL do pc por bandeja e 3,0L ha ⁻¹
4. Ranman (ciazofamida)	Aplicação no campo – 5 dias após o transplante e aos	2,0L ha ⁻¹ pc (0,8L ia.)
Raizal (NPK; 9-45-11)	25 dias após o transplante	2,0kg ha ⁻¹
Biozyme TF (micronutrientes)		3,0L ha ⁻¹
5. Cantus (boscalida)	Aplicação na semeadura	0,3g L ⁻¹ (0,15 g L ⁻¹)
Cabrio Top (piraclostrobina+metiran)	Aplicação na semeadura e pré-transplante	3g L ⁻¹ (1,5 g L ⁻¹)
6. Cantus (boscalida)	Aplicação na semeadura	0,3g L ⁻¹ (0,15 g L ⁻¹)
Cabrio Top (piraclostrobina+metiran)	Aplicação na semeadura, pré-transplante, aplicações quinzenais até a colheita	3g L ⁻¹ (1,5 g L ⁻¹)
7. Orkestra SC	Aplicação em bandeja pré-transplante	0,3 mL do pc (0,15 mL L ⁻¹) por bandeja
(piraclostrobina+fluxapiroxade)	Aplicações quinzenais após o transplante até a colheita	0,3g L ⁻¹ (0,15 g L ⁻¹)
8. Trichodermil (Trichoderma spp.)	Aplicação em bandeja pré-transplante	2mL do pc por bandeja

*p c: produto comercial

**i a: ingrediente ativo

5.3.4 Características agronômicas avaliadas

Realizaram-se duas colheitas, aos 90 dias e aos 104 dias após o transplante em que foram avaliadas 04 plantas centrais da parcela experimental. Avaliou-se: número de folhas da saia, massa fresca da “cabeça” (g), diâmetro da “cabeça” (cm) (Figura 2), altura do coração (cm) (Figura 3), altura total da “cabeça” (cm), massa fresca e massa seca de raiz (g) e severidade da doença (avaliada coletando-se amostras de raízes das plantas de cada parcela e classificando segundo escala visual de notas (Figura 4) adaptado de Takahashi(1994), onde: 0 (ausência de galhas nas raízes); 1 (aproximadamente 25% das raízes comprometidas); 2 (50% das raízes comprometidas); 3 (75% das raízes comprometidas); 4 (100% das raízes comprometidas).



Figura 2 Medida do diâmetro da cabeça de repolho UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014
Foto: L. F. G. Baldini.



Figura 3 Medida da altura de planta e altura do coração na cabeça de repolho UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014 Foto: L. F. G. Baldini.

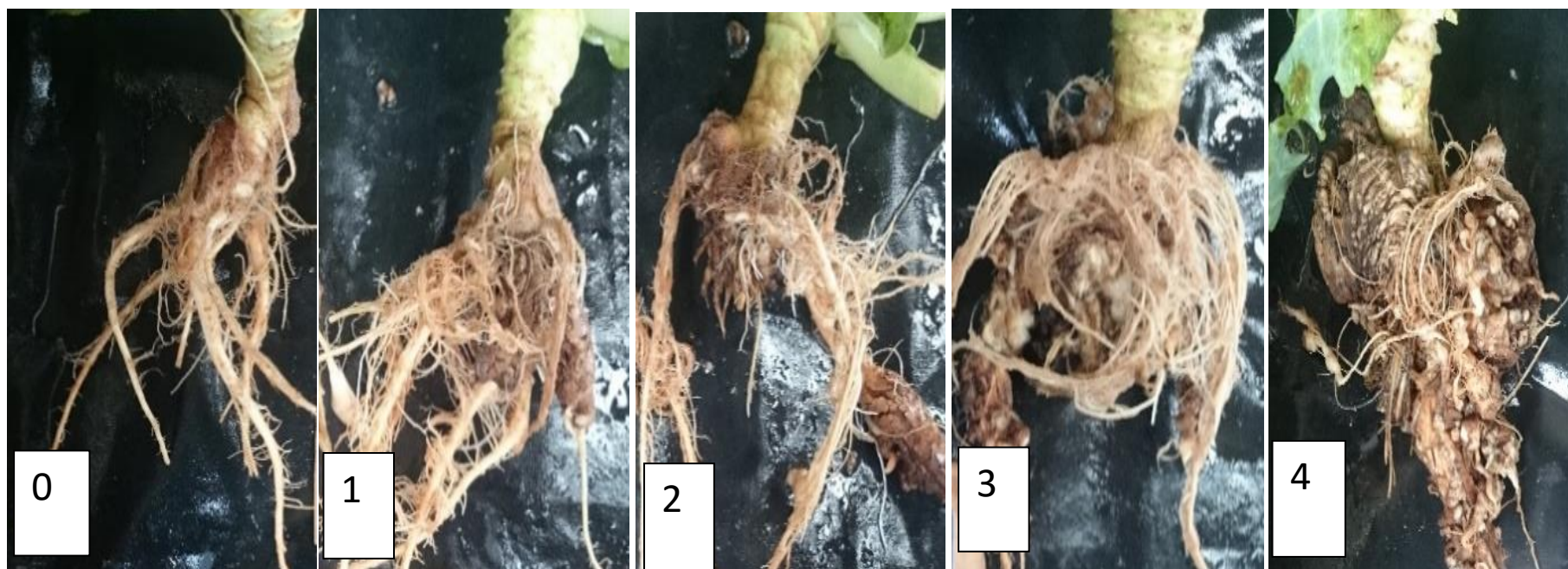


Figura 4: Escala de nota de severidade de hérnia das crucíferas em raíz de repolho. Adaptado de Takahashi (1994). Foto: L. F. G. Baldini

5.4 Experimento II: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes no controle de hérnia e alterações bioquímicas

A partir dos resultados obtidos no primeiro experimento, instalou-se o segundo para avaliar o desempenho dos melhores tratamentos obtidos anteriormente, sendo que, neste foi avaliado quinzenalmente a evolução da doença através de coletas destrutivas de plantas aferindo a severidade no sistema radicular (escala de notas adaptada de Takahashi (1994)) e coletadas folhas e raízes para análises bioquímicas.

5.4.1 Implantação

A semeadura foi realizada 18 de setembro de 2014. Quando as plântulas atingiram quatro a cinco folhas definitivas de desenvolvimento, efetuou-se as aplicações dos tratamentos (Tabela 3) nas bandejas (uma bandeja para cada tratamento) e cinco dias após (com 32 dias), as mesmas foram transplantadas no campo em canteiros com largura de 1,8m na base, e 1,3m no topo e altura aproximada de 0,20 m e adubados com NPK (8-28-16) a 150 g.m⁻¹. Cada parcela experimental tinha 5,4m de comprimento e 1,3m de largura do canteiro, contendo 57 plantas espaçadas de 0,35 m entre si. Foram consideradas como área útil as seis plantas centrais para a avaliação final.

5.4.2 Inoculação

No dia do transplante, as mudas foram regadas (0,8L/bandeja) com suspensão de raízes doentes e solo infestado conforme escrito no item 5.3.2.

5.4.3 Aplicação dos Tratamentos e delineamento experimental

Alguns dos tratamentos (Tabela 3) foram realizados nas bandejas com objetivo de se ter mudas já tratadas no transplante. A aplicação foi feita através de rega das bandejas com volume de 0,8L de calda. As pulverizações realizadas a campo, foram realizadas para que houvesse completo molhamento foliar das plantas.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 7 tratamentos e 6 repetições e encontram-se descritos na Tabela 3.



Figura 5: Vista geraldo experimento II aos 35 dias após o transplante. Sítio Janeiro, Pardinho, SP, 2014. Foto: L. F. G. Baldini.

TABELA3: Arranjo dos tratamentos com doses e épocas respectivas de aplicação no experimento II. UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014.

Tratamento	Épocas de aplicação	Dosagens
1. Testemunha	--	Não inoculada
2. Testemunha	--	inoculada
3.Ranman(ciazofamida)	Aplicação em bandeja	2mL do pc* (0,8mL i a**) por bandeja
Raizal (NPK 9-45-11)	pré-transplante	2g do pc por bandeja
Biozyme TF(micronutrientes)		3mL do pc por bandeja
4.Ranman (ciazofamida)	Aplicação em bandeja	2mL do pc(0,8mL ia) por bandeja e 2,0L ha ⁻¹
	pré-transplante	¹ (0,8 L ha ⁻¹)
Raizal (NPK 9-45-11)	Aplicação no campo – 5 dias após o transplante e	2g do p c por bandeja /2,0kg ha ⁻¹
Biozyme TF(micronutrientes)	aos 25 dias após o transplante	3mL do pc por bandeja / 3,0Lha ⁻¹
5.Ranman (ciazofamida)	Aplicação no campo – 5 dias após o transplante e	2,0L ha ⁻¹ (0,8 L ha ⁻¹)
Raizal NPK 9-45-11)	aos 25 dias após o transplante	2,0kg ha ⁻¹
Biozyme TF(micronutrientes)		3,0Lha ⁻¹
6.CabrioTop	Aplicação pré-transplante	3gL ⁻¹ (1,5 gL ⁻¹ i a)
(piraclostrobina + metiran)		
7.CabrioTop	Aplicação pré-transplante	3gL ⁻¹ (1,5 gL ⁻¹ i.a)
(piraclostrobina + metiran)	Aplicações quinzenais após o transplante até a colheita	

*p c: produto comercial

** i a: ingrediente ativo

5.4.4. Características agronômicas e doenças avaliadas

Acolheita foi realizada aos 84 dias após o transplante e avaliadas quatro plantas centrais da parcela experimental. Os parâmetros avaliados foram: número de folhas da saia, massa fresca da cabeça (g), diâmetro da cabeça (cm), altura do coração (cm) e altura total da cabeça (cm).

Durante o ciclo da cultura foram feitas oito coletas destrutivas de 3 plantas por parcela para avaliações bioquímicas e severidade da doença conforme escala visual de notas adaptada de Takahashi (1994). No final das oito avaliações, foi calculado a área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) segundo Queiroz et al (2011) em que um único valor sintetiza a severidade da doença na cultura ao longo do ciclo.

Com os valores obtidos nas avaliações da severidade procedeu-se o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença conforme (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

5.4.5. Análises bioquímicas

As coletas das amostras para as análises bioquímicas foram realizadas das 7:00 às 9:00 horas da manhã, totalizando 8 coletas de folhas e raízes aos 26 (5 dias pré transplante), 32 (no dia do transplante), 42, 56, 70, 84 e 98 dias após a semeadura e no momento da colheita (119 dias após semeadura). As raízes foram coletadas inteiras e as folhas coletadas na parte mediana da planta, colocadas em sacos plásticos e embrulhadas em papel alumínio. Em seguida, transportadas para o laboratório e retiradas amostras que foram congeladas em nitrogênio líquido, para paralisação das reações e imediatamente trituradas e armazenadas em freezer a -80 °C. As análises bioquímicas realizadas foram: atividade enzimática da polifenoloxidase (POF), peroxidase (POD), fenilalanina-amonioliasa (PAL), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e do teor de compostos fenólicos totais.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada pelo método de Beauchamp e Fridovich (1973), observando a capacidade da enzima presente em 0,500g (de folhas e raízes, separadamente) em inibir a foto-redução do azul de nitro-tetrazólio (NBT) em um meio de reação composto por metionina 5 mmol L⁻¹, EDTA 0,66

mmol L⁻¹, NBT 33 µmol L⁻¹ e riboflavina 0,00165 mmol L⁻¹, em 3,0 mL de fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8). A produção de formazana azul, resultante da fotorredução do NBT foi determinada pela absorção a 560 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. A atividade enzimática foi expressa em U g⁻¹ de proteína.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada por adaptação do método de Kar e Mishra (1976) observando a capacidade da enzima presente em 0,500g (de folhas e raízes, separadamente) em degradar peróxidos. O ensaio foi composto de 150 µL de amostra, que foi extraída em tampão fosfato de potássio + EDTA + DTT + PVPP 100 mmol L⁻¹ pH 7,8. Utilizou-se de 1.950 µL de tampão fosfato de potássio 100 mmol L⁻¹ (pH 7,8) como tampão de determinação e 750 de µL solução de peróxido de hidrogênio 50 mM como substrato enzimático. As leituras foram em espectrofotômetro a 240 nm. A atividade enzimática foi expressa em µmol H₂O₂ min⁻¹ µg⁻¹ de proteína.

A atividade de polifenoloxidase (PFO) foi determinada seguindo o método descrito por Kar e Mishra (1976) contendo algumas modificações. Utilizou-se aproximadamente 0,100 g (folhas e raízes, separadamente) de amostra fresca congelada e pulverizada em nitrogênio líquido, adicionaremos 5 mL de tampão fosfato 0,05M pH 6,0, homogeneizaremos em turrax por 30 segundos e centrifugados por 10 minutos a 10.000 rpm. Adicionou-se 0,3 mL do extrato bruto, 1,85 catecol 0,1M em tampão fosfato 0,05M pH 6,0. Em seguida, as amostras permanecerem em banho maria por 30 minutos a 30°C. A reação foi interrompida com a adição de 0,8mL de ácido perclórico a 5%. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 395nm. A atividade enzimática foi expressa em µmol catecol transformado min⁻¹g⁻¹ de massa fresca.

A análise da atividade da peroxidase (POD) foi realizada de acordo com método descrito por Lima et al.(1999). Utilizou-se para as amostras de folhas, 0,100 g de massa fresca e de raízes, 0,025g de massa fresca. Posteriormente as amostras foram homogeneizadas (separadamente) em 3mL de tampão fosfato de potássio 0,2M e pH 6,7. Em seguida, centrifugadas a 10.000 rpm, por 10 minutos a 4 °C. Para a reação foram utilizados 1,0 mL do extrato, 0,5 mL de solução de H₂O₂ a 30% e 0,5 mL de solução de diclorofenol e aminoantipirina. Os tubos permaneceram em banho-maria a 30 °C por 5 minutos e após este período a reação foi paralisada com a adição de 2 mL de etanol absoluto. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 505 nm, e os resultados expressos em µmol de H₂O₂ decomposto min⁻¹ g⁻¹ proteína.

A atividade da enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL) (EC 4.3.1.24) foi mensurada de acordo com o método adaptado por Peixoto (1999). Utilizou-se 0,500 g de amostra macerada em nitrogênio líquido (para folhas e raízes separadamente), adicionou-se 10 mL de tampão borato 0,1M as amostras e posteriormente estas foram centrifugadas por 20 minutos a 4°C em 12.000 rpm. Para a leitura da reação, foi utilizado o branco geral (1 mL de tampão borato 0,1M + 1 mL de tampão borato 0,2M) e o branco da amostra (1 mL de extrato + 2 mL de tampão borato 0,2M). Os tubos contendo as reações permaneceram em banho-maria a 36°C por 5 minutos. Ao final desse período foi adicionado 1 mL de fenilalanina e mantidas em banho-Maria por mais 1 hora. Posteriormente foi acrescentado 0,1 mL de HCl 6N para parar a reação. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 290nm e os resultados expressos em moles min^{-1} .

O teor de fenóis totais foi determinado de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965). Foi realizada dupla extração que consistiu na adição, à amostra (0,500 g de folhas e raízes, separadamente), de 5 mL de acetona 50% (v/v), seguido de 20 minutos em banho ultrassom e centrifugação a 5000 rpm por 20 minutos. Os sobrenadantes obtidos foram armazenados em recipientes de vidro âmbar. Para a determinação do teor de fenóis totais, uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi colocada em tubo de ensaio, sendo adicionados 0,5 mL de água deionizada, 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 2,5 mL de solução de carbonato de sódio a 20 % (m/v). Os reagentes foram homogeneizados em Vortex e os tubos deixados em repouso à temperatura ambiente protegidos da luz por 1 hora. A absorbância a 725 nm foi determinada em espectrofotômetro (BEL Photonics®, SP 2000 UV/vis) e o conteúdo de fenóis totais calculado por meio de curva-padrão de ácido gálico (10 a 50 μg). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente 100 g^{-1} de massa fresca (mg AGE. 100 g^{-1} mf.).

5.5 Experimento III: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes aplicados nas mudas para o controle preventivo da hérnia das brássicas

O terceiro experimento foi realizado após os resultados obtidos no primeiro e segundo experimentos, avaliando cada um dos produtos testados no Experimento II separados e combinados dois a dois, três a três e os quatro juntos, em uma única aplicação nas mudas.

5.5.1 Implantação

A semeadura foi realizada 16 de dezembro de 2014. Quando as plântulas atingiram quatro a cinco folhas definitivas de desenvolvimento, efetuou-se as aplicações dos tratamentos (Tabela 4) nas bandejas (uma bandeja para cada tratamento) e cinco dias após (32 dias), as mesmas foram transplantadas no campo em canteiros com largura de 1,8m na base, e 1,3m no topo e altura aproximada de 0,20 m e adubados com NPK (8-28-16) a 150 g.m^{-1} . A parcela experimental tinha 2,8m de comprimento e 1,3m de largura no canteiro com 24 plantas espaçadas de 0,35 m entre si. Foram consideradas como área útil as seis plantas centrais.

5.5.2 Aplicação dos tratamentos

A aplicação dos tratamentos (Tabela 4) foram realizados nas bandejas com objetivo de se ter mudas já tratadas no transplante. A aplicação foi feita através de rega das bandejas com volume de 0,8L de calda por bandeja.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 6 repetições e os tratamentos encontram-se descritos na Tabela 4.

TABELA4: Arranjo dos tratamentos isolados e combinados no experimento 3. UNESP-FCA, Botucatu, SP, 2014.

Tratamento	Dosagem
1 – Testemunha-----	--
2 –Raizal (NPK 9-45-11)-----	2gr do p c*/bandeja
3- Biozime (micronutrientes)-----	3mL do p c /bandeja
4 –Cabrio Top (piraclostrobina + metiran)-----	3gr do p c (1,5g i a**)/bandeja
5 –Ranman (ciazofamida)-----	2mL do p c (0,8mL i a)/bandeja
6- Raizal + Biozime	
7- Raizal + Cabrio Top	
8- Raizal + Ranman	
9- Biozime + Cabrio Top	
10- Biozime + Ranman	
11- Cabrio Top + Ranman	
12- Raizal + Biozime + Cabrio Top	
13- Raizal + Biozime + Ranman	
14- Biozime + Cabrio Top + Ranman	
15- Raizal + Biozime + Cabrio Top + Ranman	

*p c: produto comercial

**i a: ingrediente ativo

5.5.3Características agronômicas avaliadas

A colheita, foi realizada aos 80 dias após o transplante e avaliadas 4 plantas centrais da parcela experimental. Os parâmetros avaliados foram: número de folhas da saia, massa fresca da cabeça (g), diâmetro da cabeça (cm), altura do coração (cm), altura total da cabeça (cm)e severidade da doença segundo escala visual de notas adaptado de Takahashi(1994).

5.6 Análise estatística dos dados

Após tabulados, os dados obtidos para os três experimentos, as médias foram submetidas a análise estatística multivariada, na qual inicialmente obteve-se a matriz de dissimilaridade através das distâncias de Mahalanobis. Após gerar essa matriz aplicou-se o método de Tocher sequencial proposto por Vasconcelos et al. (2007) com o auxílio do programa estatístico Genes v.5.1 (CRUZ, 2006).

Para as características massa de cabeça e severidade foi aplicado o método de Krigagem Ordinária com o auxílio do programa geoestatístico GS+ v. 7.0. Os mapas foram elaborados pela técnica da geoestatística, com ajuste dos variogramas e posterior confecção dos mapas interpolados por krigagem ordinária, de acordo com técnicas de Isaaks e Srivastava (1989).

6.RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Experimento I:Eficácia de produtos químicos, biológicos e nutrientes em épocas de aplicação no manejo de hérnia.

O experimento I foi semeado no final de verão e conduzido no campo durante todo outono de 2014, tendo condições climáticas favoráveis à cultura e medianas ao desenvolvimento da doença, no entanto, as plantas do experimento receberam infestação nas bandejas e foram transplantadas em solo já com histórico de hérnia em cultivos anteriores.

Estudos em *Brassica rapa* subsp. *chinensis*, relatam aumento da severidade de *Plasmodiophora* sp. em plantas inoculadas e cultivadas sob temperaturas entre 20 e 30°C e redução da severidade da doença em temperaturas abaixo de 20°C com atraso ou ausência de infecção em temperaturas abaixo de 15°C(ROSA, BASSETO e FURTADO, 2010; SHARMA, GOSSEN e MCDONALD, 2011).

Foram feitas duas colheitas no experimento I, sendo as plantas que receberam os tratamentos ciazofamida (a) e piraclostrobina (a) tiveram produção precoce aos 90 dias (Tabela 5) e os tratamentos ciazofamida (b), piraclostrobina (d) e piraclostrobina+fluxapiroxade (d) tiveram maior produção aos 104 dias (Tabela 6).

As plantas que receberam os tratamentos ciazofamida (a) e piraclostrobina (a) tiveram maior massa fresca de cabeça aos 90 dias (Tabela 5), no entanto, somente a ciazofamida (a) diferiu dos demais tratamentos pelo conjunto de características avaliadas. Mesmo assim, ambos tratamentos receberam o mesmo tipo de aplicação (nas

mudas, 5 dias pré transplante) e mostraram-se precoces comparados aos outros tratamentos.

Aos 104 dias (Tabela 6) quando foi feita a segunda colheita, o tratamento ciazofamida (b) destacou-se dos demais tratamentos em todas as características avaliadas. O tratamento piraclostrobina+fluxapiróxade (d) não teve produção aos 90 dias, concentrando tudo aos 104 dias. O inverso aconteceu com o tratamento piraclostrobina (a) que concentrou toda produção aos 90 dias.

Comparando os tratamentos pelo tipo de aplicação que cada um recebeu, observa-se que os tratamentos que receberam aplicações múltiplas como a ciazofamida (b), piraclostrobina (d) e piraclostrobina + fluxapiróxade (d) tiveram o ciclo das plantas aumentado, possivelmente por alterações fisiológicas nas plantas pelo incremento de nutrientes e da proteção com o fungicida no caso da ciazofamida (b).

TABELA5.Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento I,na primeira colheita, aos 90 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.

Tratamento	Aplicação	Número de	Massa fresca	Diâmetro	Altura	Altura	TS*
		folhas da saia	de cabeça	de cabeça	coração	cabeça	
			--g--	-----cm-----			
Testemunha	Sem aplicação	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--**
Ciazofamida (a)	5 dias pré transplante	6,83	1155,75	12,77	5,52	10,17	A
Ciazofamida (b)	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	2,25	269,67	3,08	1,27	2,63	B
Ciazofamida (c)	5 dias após + 25dias após transplante	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--
Piraclostrobina (a)	5 dias pré transplante	7,42	877,58	11,17	5,56	9,29	B
Piraclostrobina (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	1,88	160,58	2,67	1,27	2,25	B
Piraclostrobina. + Fluxapiroxade (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--
Trichoderma (a)	5 dias pré transplante	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

** Dados não submetidos à análise estatística.

TABELA6.Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento I,na segunda colheita, aos 104 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.

Tratamentos	Aplicação	Número	Massa fresca	Diâmetro	Altura	de Altura	de	TS*
		de folhas	de cabeça	de cabeça	coração	cabeça		
		da saia	--g--		-----cm-----			
Testemunha	Sem aplicação	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		--**
Ciazofamida (a)	5 dias pré transplante	3,86	562,08	5,90	2,76	5,01		B
Ciazofamida (b)	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	7,83	853,17	14,06	7,17	12,08		A
Ciazofamida (c)	5 dias após + 25dias após transplante	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		--
Piraclostrobina (a)	5 dias pré transplante	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		--
Piraclostrobina (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	3,88	533,00	6,03	2,71	4,85		B
Piraclostrobina + Fluxapiroxade (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	4,29	546,17	6,18	2,58	4,96		B
Trichoderma (a)	5 dias pré transplante	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		--

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

** Dados não submetidos à análise estatística.

Ao comparar as colheitas (Tabela 7), a precocidade observada nos tratamentos ciazofamida (a) e piraclostrobina (a), pode ser considerada relevante em cultivos de campo, possivelmente pelo efeito da aplicação somente nas mudas pré transplante, visto pela produção de ambos aos 90 dias, reduzindo o ciclo em 14 dias. Essa precocidade apresentada pelo tratamento reduzirá custos de produção como irrigação, tratamentos com inseticidas ou mesmo o risco com possíveis chuvas de granizo que venham a prejudicar o produto próximo ao ponto de colheita, além de reforçar a hipótese do tratamento preventivo nas mudas auxiliar no menor estresse das plantas sob ataque de patógeno.

Observando-se a produção acumulada, os tratamentos com ciazofamida mostram maiores valores comparados aos demais tratamentos. Este fungicida já registrado para o controle dessa doença, mesmo sob outras formas de aplicação além de ser utilizado em outros países com aplicação no solo para controle dos esporos de resistência e diretamente no colo das plântulas, inibindo a infecção das radículas (MITANI, SUGIMOTO, *et al.*, 2003). A aplicação das piraclostrobins não foi tão eficiente no controle da hêmia, por ser um fungicida de registro para doenças foliares, de parte aérea.

TABELA 7. Produção média (kg/parcela) por tratamento em cada colheita e acumulada de repolho do experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.

Tratamento	Aplicação	Produção/parcela	Produção/parcela	Produção	TS*
		90 dias	104 dias	acumulada	
		-----kg/parcela-----			
Testemunha	Sem aplicação	0,00	0,00	0,00	C
Ciazofamida (a)	5 dias pré transplante	24,30	11,80	36,1	A
Ciazofamida (b)	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	5,70	17,90	23,6	B
Ciazofamida (c)	5 dias após + 25dias após transplante	0,00	0,00	0,00	C
Piraclostrobina (a)	5 dias pré transplante	18,40	0,00	18,40	B
Piraclostrobina (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	3,4	11,2	14,60	B
Piraclostrobina + Fluxapiroxade(d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	0,00	11,5	11,5	B
Trichoderma (a)	5 dias pré transplante	0,00	0,00	0,00	C

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

As plantas que receberam os tratamentos ciazofamida (c), *trichoderma*(a) e a testemunha não foram avaliadas por apresentarem incidência e severidade muito alta da doença (Tabela 8), e não terem concluído o ciclo de desenvolvimento.

Ao comparar a produção total de cada tratamento com a severidade da hérnia no final do ciclo da cultura, nota-se uma relação entre baixa severidade e a maior produção. Nos tratamentos ciazofamida (c), *trichoderma* (a) e testemunha, a severidade da doença foi quatro, correspondendo a 100% do sistema radicular comprometido e não houve produção. Os tratamentos ciazofamida (b), piraclostrobina (a), piraclostrobina (d) e piraclostrobina+fluxapiroxade (d) tiveram severidade mediana da doença, enquanto as plantas que receberam o tratamento ciazofamida (a), mesmo com severidade mediana da doença, destacou-se dos demais tratamentos pela produção superior.

O tratamento ciazofamida (c) apresentou tal comportamento devido a pressão da doença na infestação pré-transplante e a aplicação do tratamento ter ocorrido somente cinco dias depois do transplante, com o sistema radicular já colonizado pelo patógeno. Já no tratamento *Trichoderma* (a), as plantas não conseguiram se desenvolver, pois a aplicação do tratamento foi muito próxima ao período de infestação e transplante, deixando o *Trichoderma* sp. em desvantagem na colonização do substrato, solo e sistema radicular para desempenhar seu papel no controle da *Plasmodiophora* sp.

TABELA8. Comparação das médias de severidade e produção por parcelano experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014.

Tratamento	Aplicação	SEVERIDADE	Produção/parcela kg	TS*
Testemunha	Sem aplicação	4	0,0	C
Ciazofamida (a)	5 dias pré transplante	2	36,10	A
Ciazofamida (b)	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	1,67	23,6	B
Ciazofamida (c)	5 dias após + 25dias após transplante	4	0,0	C
Piraclostrobina (a)	5 dias pré transplante	3,17	18,4	B
Piraclostrobina (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	3,5	14,6	B
Piraclostrobina + Fluxapiroxade(d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	3,67	11,5	B
Trichoderma (a)	5 dias pré transplante	4	0,0	C

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

O experimento I foi implantado em área com histórico de hérnia em cultivos anteriores (Figura 6), inclusive no cultivo que antecedeu o experimento. Com o auxílio da geoestatística referenciada, pelo método da krigagem ordinária, foi possível mostrar como as plantas que compunham as parcelas experimentais estavam desenvolvendo-se no campo diante dos tratamentos aplicados e a severidade da doença. A espacialização da severidade (Figura 6 B) demonstra em diferentes tons de azul ao verde a severidade da doença na área experimental diante do histórico da área, complementado com a infestação da doença nas mudas antes do transplante. Comparando as Figuras A e B (Figura 6) observou-se as diferenças de massa de cabeças dentro da área experimental sendo justificada pela mancha da severidade mais intensa (Figura 6 B) que incidiu nos quadrantes (parcelas) centrais da área.

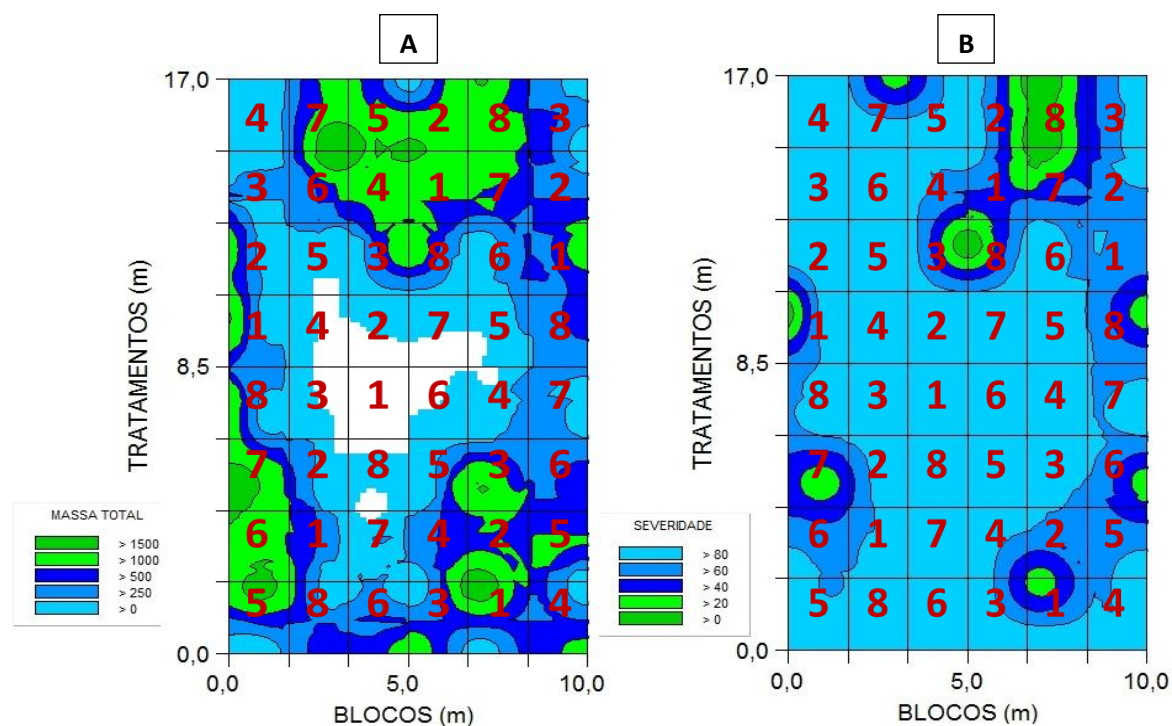


Figura 6: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: **A** - Massa média de cabeças (g) colhidas no experimento I; **B** - Severidade da hérnia das crucíferas (%) na área experimento I. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2014

6.2 Experimento II: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes no controle de hérnia e alterações bioquímicas

O experimento II foi conduzido durante a primavera de 2014 e início de verão de 2015, apresentou condições climáticas diferentes do experimento I, alternando os períodos favoráveis ao desenvolvimento da doença e da cultura.

As plantas que receberam o tratamento ciazofamida (b) destacaram-se pelo conjunto de características comparado aos demais tratamentos (Tabela 9). Comparando-a a ciazofamida (a) observa-se que a diferença entre os tratamentos está relacionada ao número de aplicações a mais que a ciazofamida (b) recebeu, com complemento do efeito dos nutrientes e efeito fungicida agregando proteção ao desenvolvimento das plantas diante da ação da doença sobre a cultura.

Comparando o tratamento ciazofamida (b), ciazofamida (a), piraclostrobina (d) e piraclostrobina (a), observa-se que o efeito das aplicações após o transplante foi relevante neste experimento II, diferente do experimento I em que os tratamentos aplicados nas mudas tiveram maior produção. Esse desempenho distinto entre os tratamentos nos dois experimentos está relacionado ao período do ano que ambos foram instalados, mudando o comportamento da doença e da cultura em relação aos tratamentos.

A testemunha inoculada e as plantas que receberam o tratamento ciazofamida (c) tiveram desempenho semelhante nos experimentos I e II, não completando o ciclo de desenvolvimento pela alta pressão da doença ao receber a infestação nas mudas pré-transplante.

TABELA9.Características observadas em plantas de repolho conduzidas no experimento II aos 84 dias após transplante. FCA/UNESP, Botucatu,SP, 2015.

Tratamento	Métodos de Aplicação	Número de folhas da saia	Massa fresca de cabeça	Diâmetro de cabeça	Altura de coração	Altura de cabeça	TS*
			--g--		-----cm-----		
Testemunha não inoculada	Sem aplicação	6,8	1316,20	12,5	4,8	9,8	B
Testemunha inoculada	Sem aplicação	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	--**
Ciazofamida(a)	5 dias pré transplante	5,1	886,38	9,6	3,8	7,5	B
Ciazofamida(b)	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	6,7	1134,77	13,5	5,1	9,8	A
Ciazofamida (c)	5 dias pós + 25dias pós transplante	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	--
Piraclostrobina (a)	5 dias pré transplante	3,6	603,33	5,7	2,2	4,6	B
Piraclostrobina (d)	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	5,5	744,44	11,2	4,5	8,9	B

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

** Dados não submetidos à análise estatística.

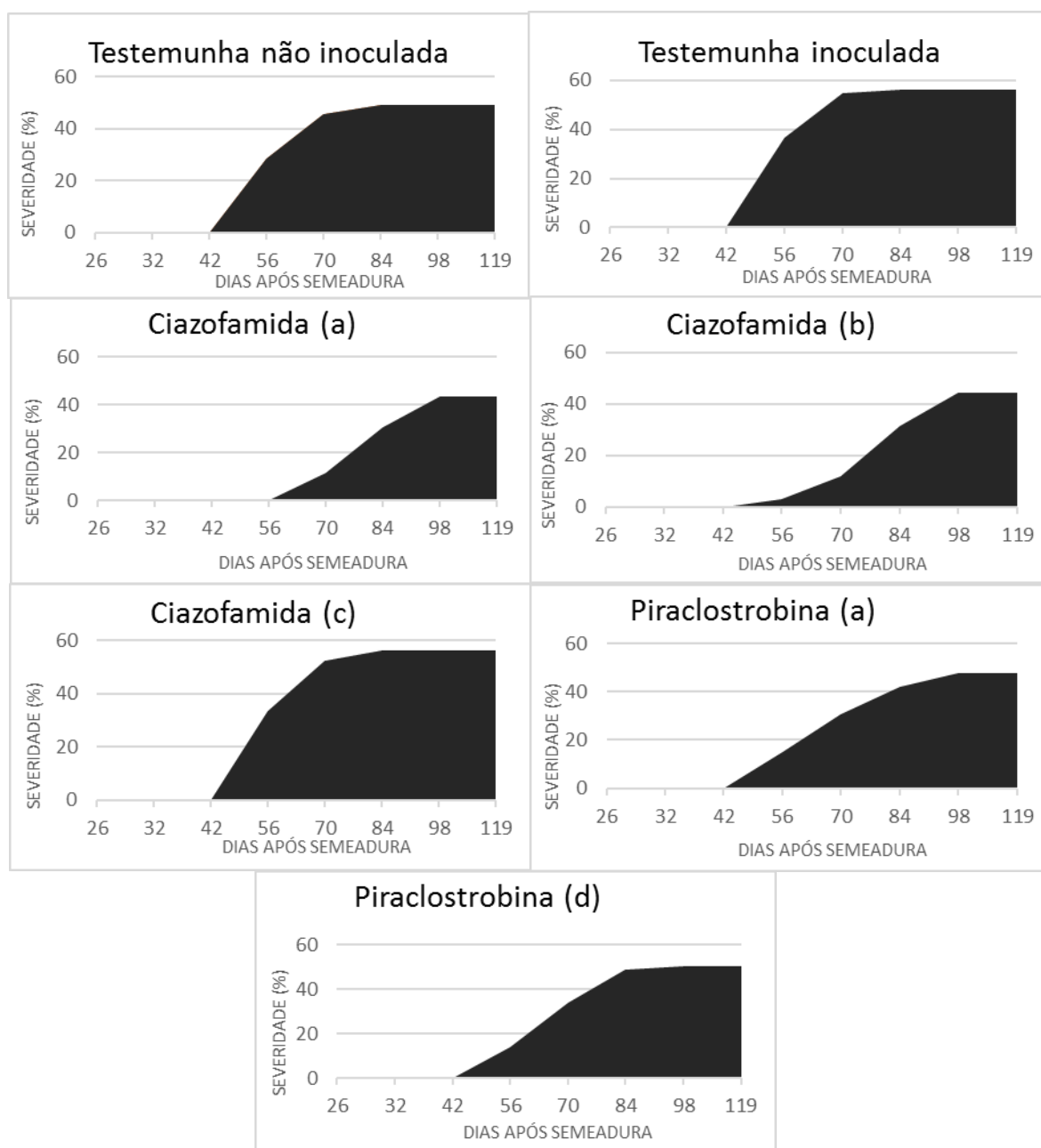


Figura 7 Evolução da doença ao longo do ciclo da cultura, ilustrado através dos gráficos com área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) no experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.

As plantas da testemunha (não inoculada) só entraram em contato com o patógeno após o transplante quando o sistema radicular começou a se desenvolver, com desenvolvimento tardio da doença, quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 10) e por isso que, mesmo com uma severidade elevada as plantas produziram cabeças com mais de 1,3kg. No entanto ciazofamida (b) mesmo com a inoculação do patógeno, mostrou-se semelhante com produtividade elevada exercendo controle da doença visto que a severidade foi menor. O tratamento ciazofamida (a) mostrou controle da doença comparado aos demais tratamentos, mas a produtividade foi menor comparado a ciazofamida (b) e à testemunha não inoculada.

TABELA10. Comparação das médias para as características produção e área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD) no experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.

Tratamento	Aplicação	Produção/parcela	AACPD	TS*
		kg		
Testemunha não inoculada	Sem aplicação	43,43	167,33	A
Testemunha inoculada	Sem aplicação	0,0	203,25	D
Ciazofamida a	5 dias pré transplante	29,25	85,16	B
Ciazofamida b	5 dias pré + 5 dias pós + 25dias pós transplante	37,45	90,66	A
Ciazofamida c	5 dias pós + 25dias pós transplante	0,0	197,75	D
Piraclostrobina a	5 dias pré transplante	19,91	134,00	B
Piraclostrobina d	5 dias pré transplante + aplicações quinzenais até a colheita	24,97	147,25	C

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

O segundo experimento foi instalado na mesma área experimental (Figura 8) do experimento I, no entanto, foi necessário aumentar o tamanho das parcelas pela necessidade de maior número de plantas para as coletas destrutivas e posteriores análises enzimáticas. Desta maneira observando a espacialização da massa média de cabeça (Figura 8A) e severidade da doença (Figura 8B) nota-se que a partir dos 18 m tem-se uma maior massa média das cabeças e uma menor severidade da doença na área experimental.

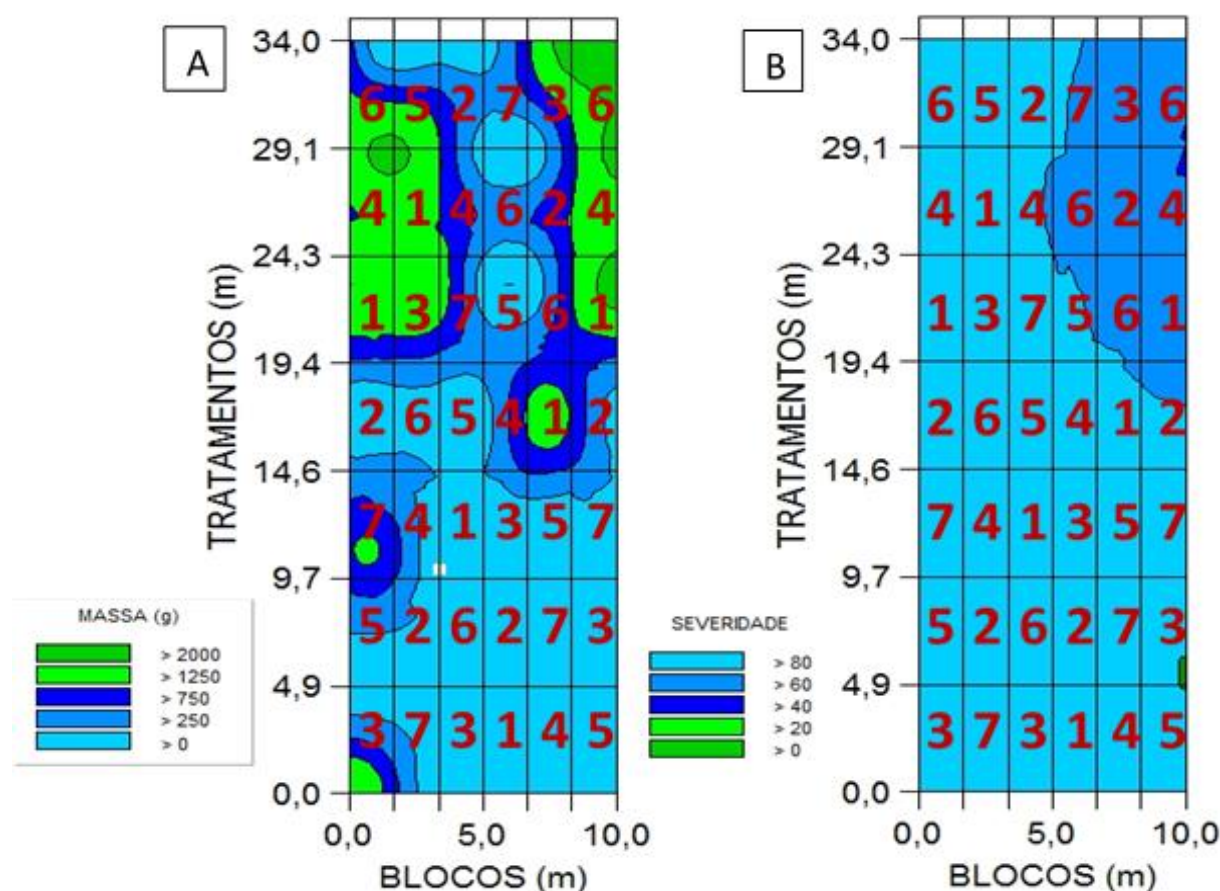


Figura 8: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: **A** - Massa média de cabeça (g) produzidas no experimento II; **B** - Severidade de hérnia das crucíferas (%) na área do experimento II. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015

No experimento II foram realizadas oito coletas durante o desenvolvimento das plantas para análise bioquímica das plantas sob os diferentes tratamentos analisando a atividade enzimática superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina-amonioliasa (PAL) e o teor de compostos fenólicos totais em folhas (parte aérea) e raízes.

A superóxido dismutase (SOD) apresentou maior atividade em folhas (Figura 9-A ao E) do que em raízes (Figura 9 –F ao J). Ao longo do experimento houve redução da atividade em folhas e aumento em raízes. Em raízes de plantas inoculadas ocorreu maior atividade da SOD em relação à testemunha (não inoculada) a partir do 42º dia, demonstrando que possivelmente estaria ocorrendo produção de radicais superóxidos em função da doença.

A aplicação de ciazofamidas (a, b e c) as folhas apresentaram atividade menor em relação a testemunha inoculada (Figura 9 B). Resultado semelhante pode ser encontrado na aplicação de piraclostrobina (Figura 9C). Ocorreu um pico na atividade das ciazofamidas (a) e (b) aos 70 dias nas raízes (Figura 9-G), no entanto, as plantas responderam a aplicação de ciazofamida (c) semelhante a aplicação de piraclostrobina (d) (Figura 9-J). O mesmo comportamento é observado na Figura 9-I em que a ciazofamida (a) tem aumento na atividade aos 70 dias e a piraclostrobina (a) manteve atividade mais baixa no mesmo período.

Comparando os tratamentos pelo número de aplicações (Figuras 9-D e 9-E) em folhas, nota-se que a piraclostrobina induz menor atividade que a ciazofamida até os 56 dias, após os 70 dias ocorre inversão na atividade entre estes tratamentos. Nas raízes (Figura 9-I e 9-J), ocorre comportamento semelhante com alternância da maior atividade entre os dois produtos ao longo do tempo, independentemente do número e época de aplicação, mostrando que os tratamentos não influenciaram na atividade da SOD ao longo do ciclo da cultura. No geral, em folhas, a aplicação desses produtos promoveu menor atividade da SOD, quando comparada com as folhas de plantas inoculadas sem tratamento.

A atividade da catalase (CAT) (Figura 10) foi maior em raízes (Figura 10-F ao J) do que em folhas (Figura 10-A ao E), semelhante ao encontrado para a atividade da POD (Figura 11), enzima que também degrada peróxidos e da PFO (Figura 12), enzima que oxida compostos fenólicos. Como a hérnia das crucíferas ataca

diretamente as raízes, induzindo um aumento de radicais livres, estas enzimas teriam sua atividade aumentada como uma forma de diminuir a ação danosa destas moléculas.

Analisando os tratamentos quanto ao tipo de aplicação (Figuras 10-D, 10-E, 10-I e 10-J), as piraclostrobina (a) e (d) promovem maior atividade da catalase quando comparada com a aplicação de ciazofamidas (a), (b) e (c), tanto em folhas quanto em raízes, mostrando que a piraclostrobina exerce maior influência na atividade da CAT do que a ciazofamida.

Observando a atividade da peroxidase (POD)(Figura 11), nota-se comportamento inverso entre folhas e raízes com redução da atividade em folhas aos 56 dias e aumento da atividade em raízes no mesmo período. No entanto, a atividade nas raízes é muito maior que em folhas, o que mostra uma relação direta da atividade dessa enzima com o estresse oxidativo provocado pelo desenvolvimento do patógeno.

Analisando os tratamentos (Figuras 11-D e 11-E), observa-se que tanto as plantas tratadas com ciazofamida quanto as tratadas com piraclostrobina tem maior atividade da POD nas raízes que a testemunha inoculada e a não inoculada, ou seja, ambos produtos auxiliam no aumento da atividade da POD para proteção contra o ataque do patógeno.

A atividade da POD nas folhas em todos os tratamentos foi igual ou menor às testemunhas inoculadas e não inoculadas, independentemente do número de aplicações ou do tratamento.

Os resultados observados na atividade das polifenoloxidase(PFO) (Figura 12), são semelhantes aos observados na catalase, tanto em folhas quanto em raízes, em que se nota aumento da atividade das enzimas com a evolução no ciclo da cultura e a maior atividade nas raízes do que nas folhas.

Analisando a atividade da PFO em folhas (Figuras 12-D e 12-E), a partir dos 56 dias os tratamentos com piraclostrobina têm aumento significativo em relação aos demais tratamentos e aos 84 dias, os tratamentos com ciazofamida se equiparam às piraclostrobina. Verificando a Figura 7 e comparando à Figura 12-D e 12-E, observa-se nos tratamentos com piraclostrobina, que ocorre aumento da severidade a partir dos 56 dias, portanto pode ser feita analogia dos sintomas reflexos de murcha das folhas provocando aumento da atividade da PFO na parte aérea das plantas.

O aumento da atividade da PFO promovido pelas ciazofamidas (a) e (b) a partir dos 84 dias também pode ser explicado da mesma maneira que nas

piraclostrobina (a) e (d), no entanto, em período diferente pela maior fitotoxicidade do fungicida, atrasando o desenvolvimento da hérnia comparado às piraclostrobina e à testemunha inoculada.

A fenilalanina-amoníaco-liase (PAL) mostrou aumento gradativo da atividade ao longo do tempo semelhante a PFO e a CAT, porém com variações mais acentuadas em folhas (Figuras 13-A ao 13-E) do que em raízes (Figuras 13-F ao 13-J).

Nas Figuras 13-D e 13-E observa-se que a PAL também apresenta aumento da atividade semelhante ao que ocorre com a PFO em folhas, decorrente do estresse provocado pelo aumento da severidade da doença, observados na Figura 7.

O teor dos fenóis totais em todos os tratamentos correspondeu a atividade das enzimas estudadas, diminuindo quando as enzimas aumentaram. Nas figuras 14-A a 14-E, nota-se que as plantas em todos os tratamentos tinham maior teor de fenóis no início do ciclo, correspondendo a mecanismos de defesa pela mudança de ambiente, manuseio durante o transplante, aplicação inicial dos tratamentos, tanto em folhas quanto em raízes.

As Figuras 14-B, 14-D e 14-E, mostram que as ciazofamidas exercem influência na síntese de fenóis na parte aérea das plantas, visto aos 42 dias na figura 14-B que os tratamentos ciazofamida (a) e (b) tem menor teor que a testemunha inoculada e que a piraclostrobina (a) e (d) (Figuras 14-D e 14-E).

Nas raízes (Figuras 14-F a 14-J), observa-se que a partir dos 42 dias, os tratamentos ciazofamida (b) e (c) e as piraclostrobina (a) e (d), tem redução no teor de fenóis. A ciazofamida (a) semelhante às testemunhas, induz redução do teor nas raízes a partir dos 56 dias. Tal comportamento pode ter ocorrido em resposta a ciazofamida (a) pelo número de aplicações que este tratamento recebeu, ou seja, os tratamentos ciazofamida (b) e (c) (Figura 14-G) receberam aplicação após os 32 dias, mostrando menor teor aos 42 e 56 dias comparados à ciazofamida (a). A partir dos 70 dias todos os tratamentos mostraram desempenho semelhante à testemunha não inoculada para o teor de fenóis totais em raízes e repolho.

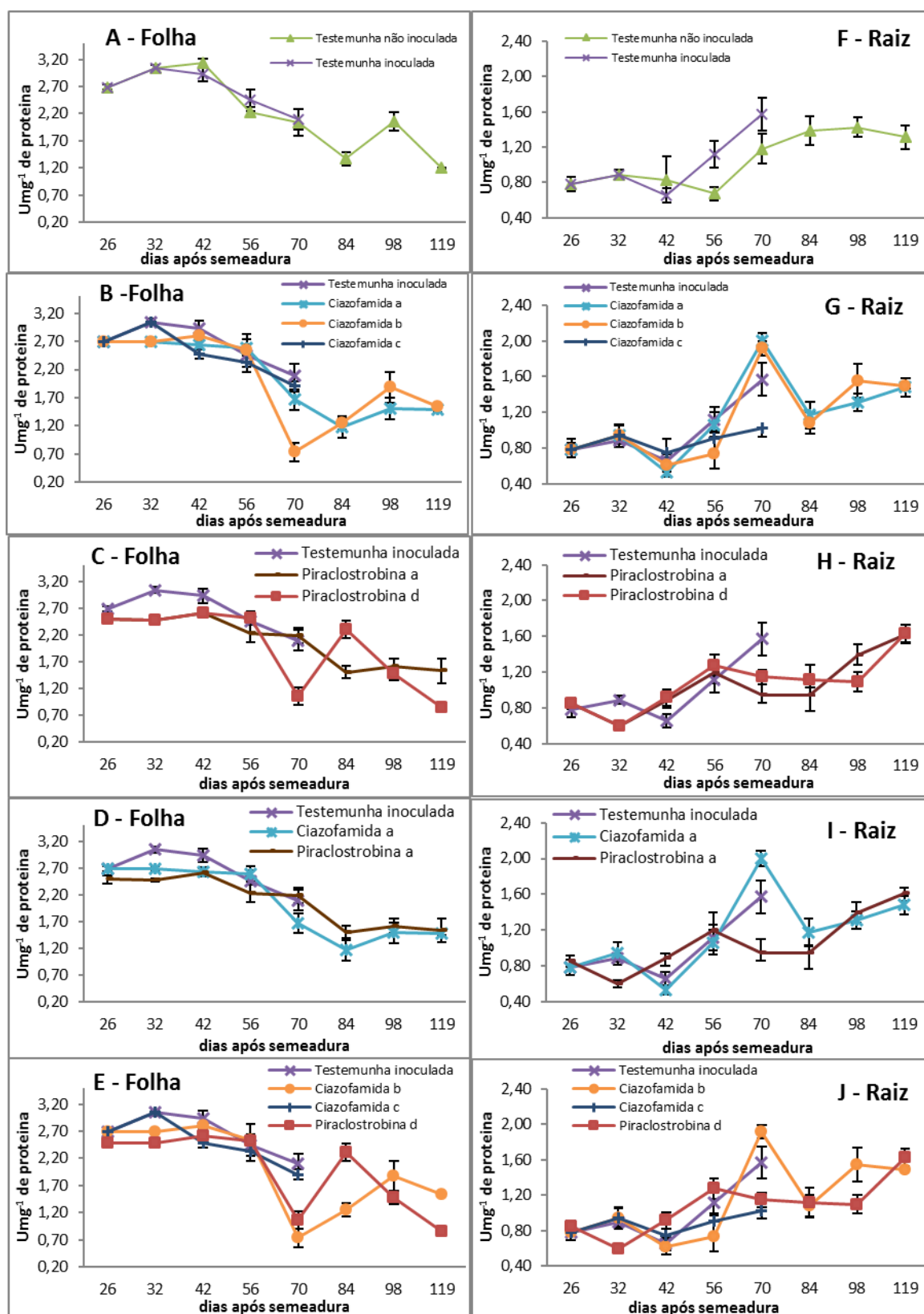


Figura 9: A ao E – Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, Umg^{-1} de proteína) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, Umg^{-1} de proteína) em raízes de repolho. FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015.

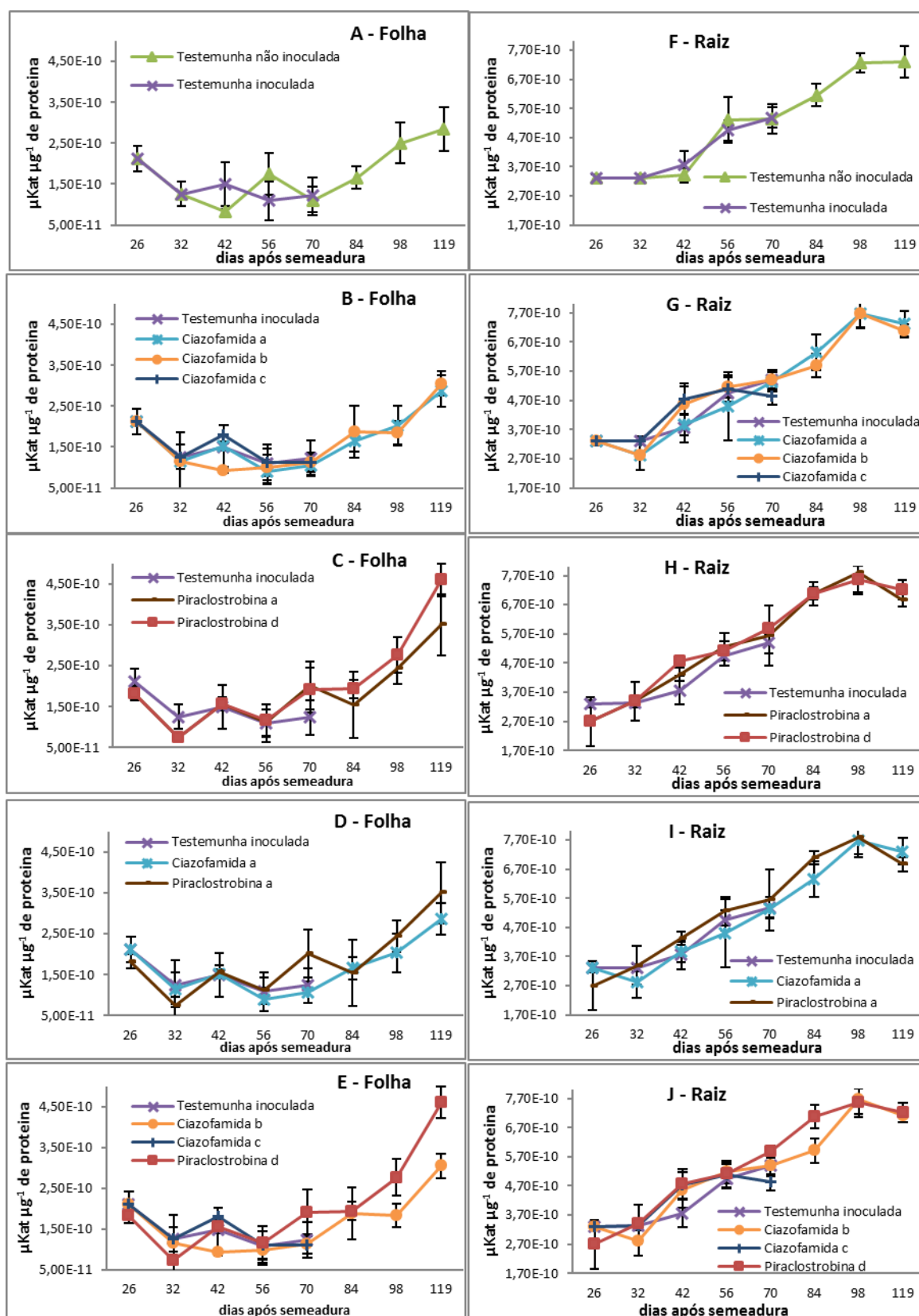


Figura 10: A ao E – Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em raízes de repolho. FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015.

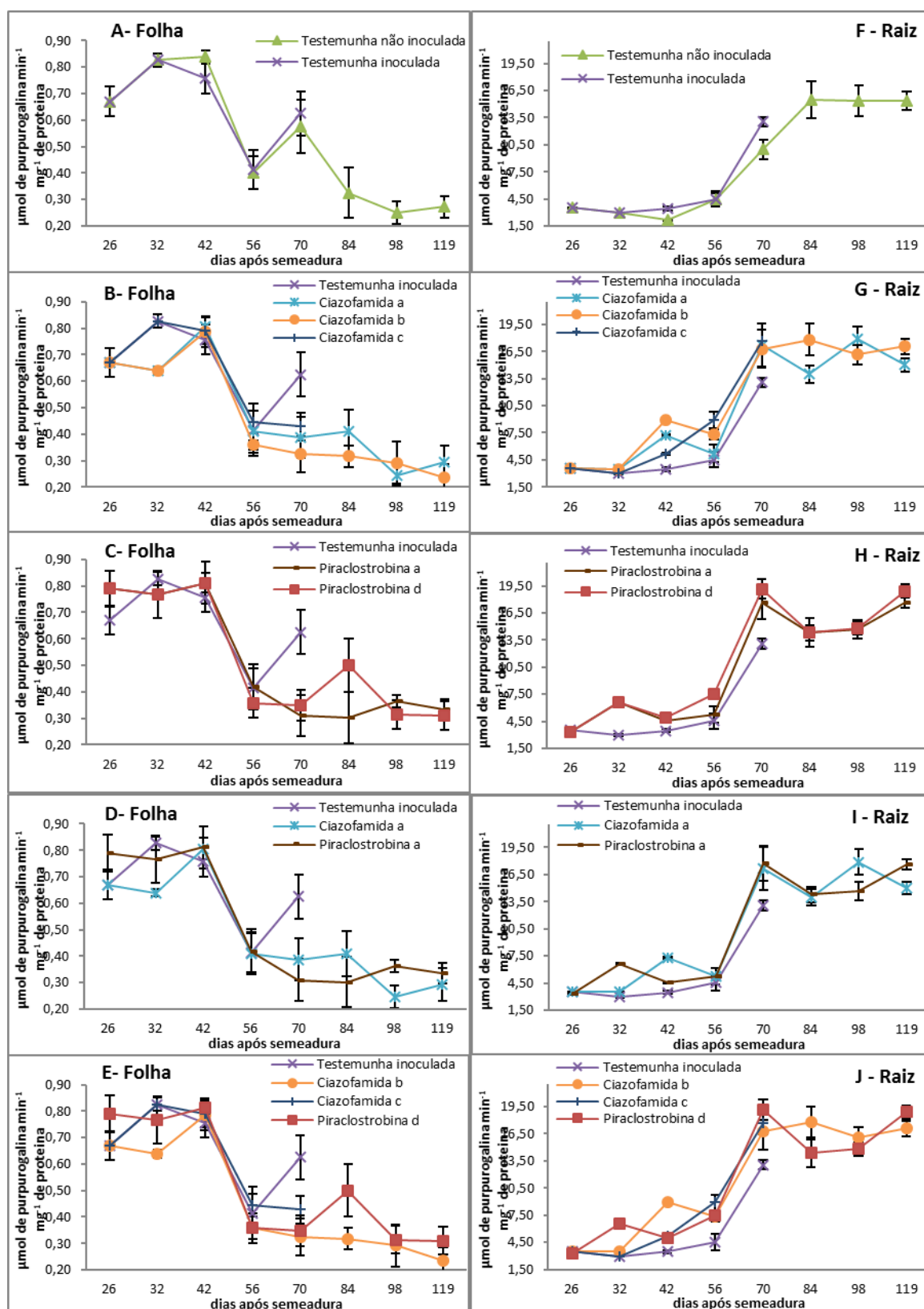


Figura 11: A ao E – Atividade da enzima peroxidase (POD, $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ de proteína}$) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da enzima peroxidase (POD, $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ de proteína}$) em raízes de repolho; FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015.

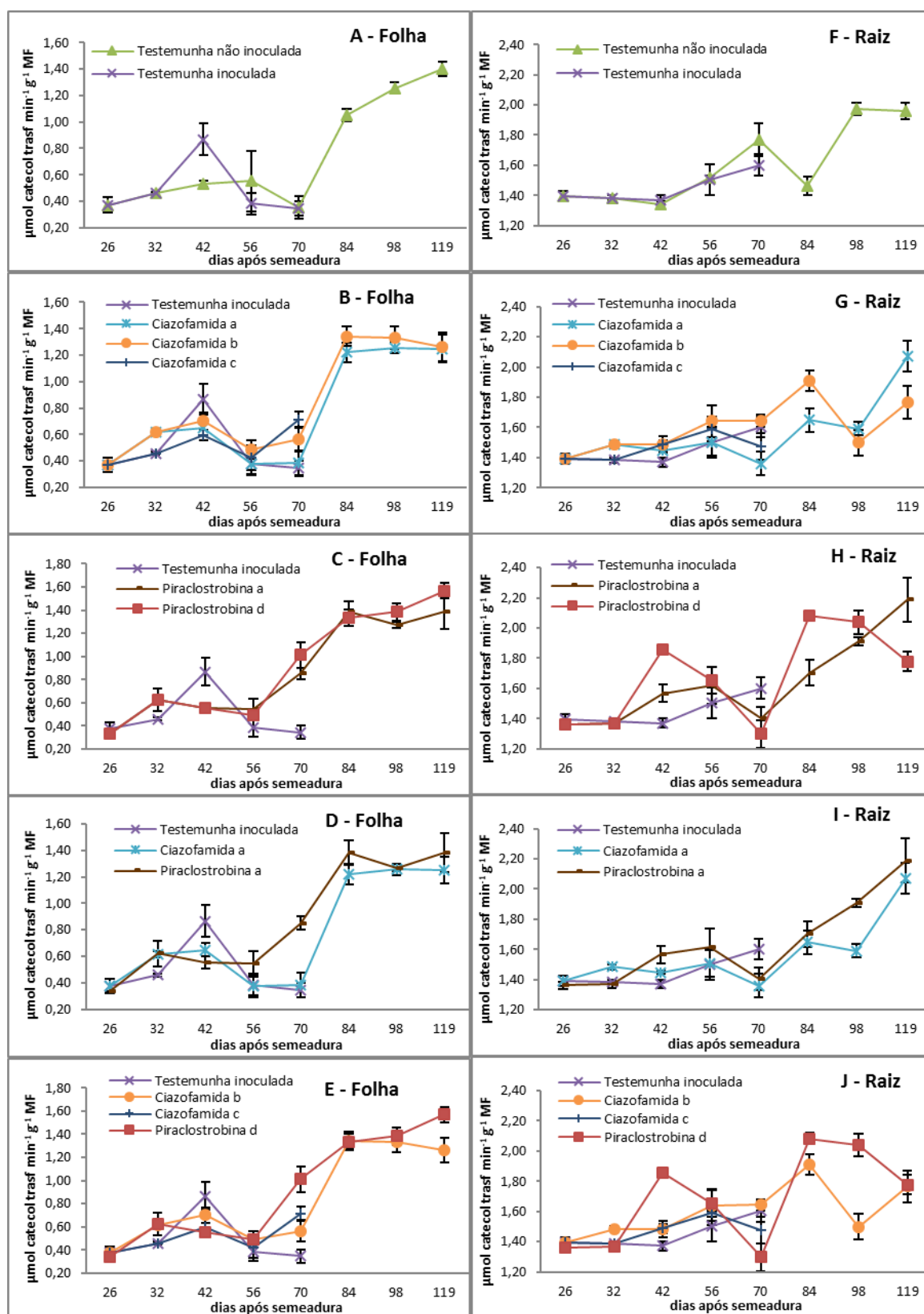


Figura 12: A ao E – Atividade da enzima polifenoloxidase (PPO, $\mu\text{mol catecol transf min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da enzima polifenoloxidase (PPO, $\mu\text{mol catecol transf min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em raízes de repolho; FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015.

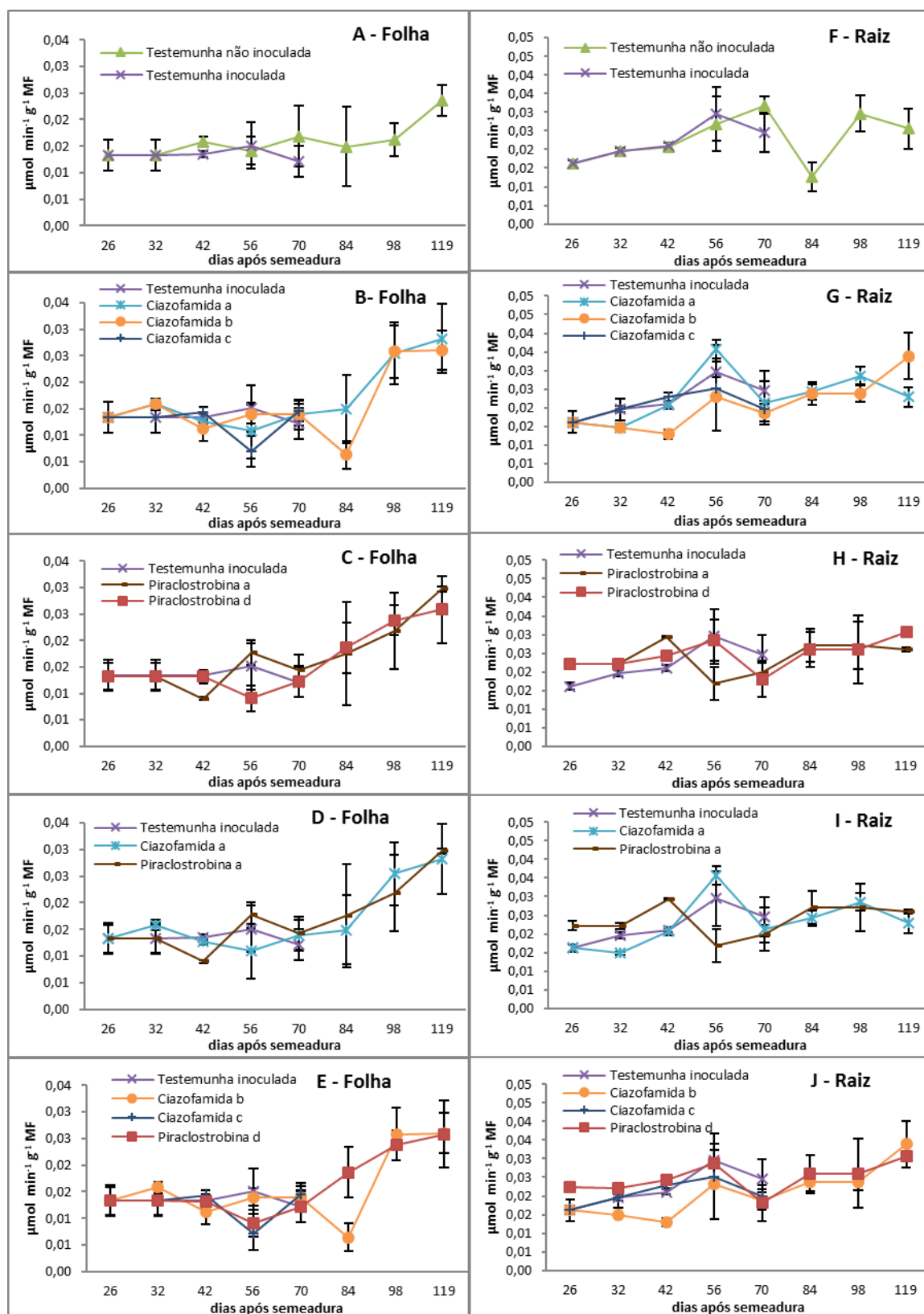


Figura 13: A ao E – Atividade da enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL, $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em folhas de repolho; F ao J – Atividade da enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL, $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em raízes de repolho; FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015

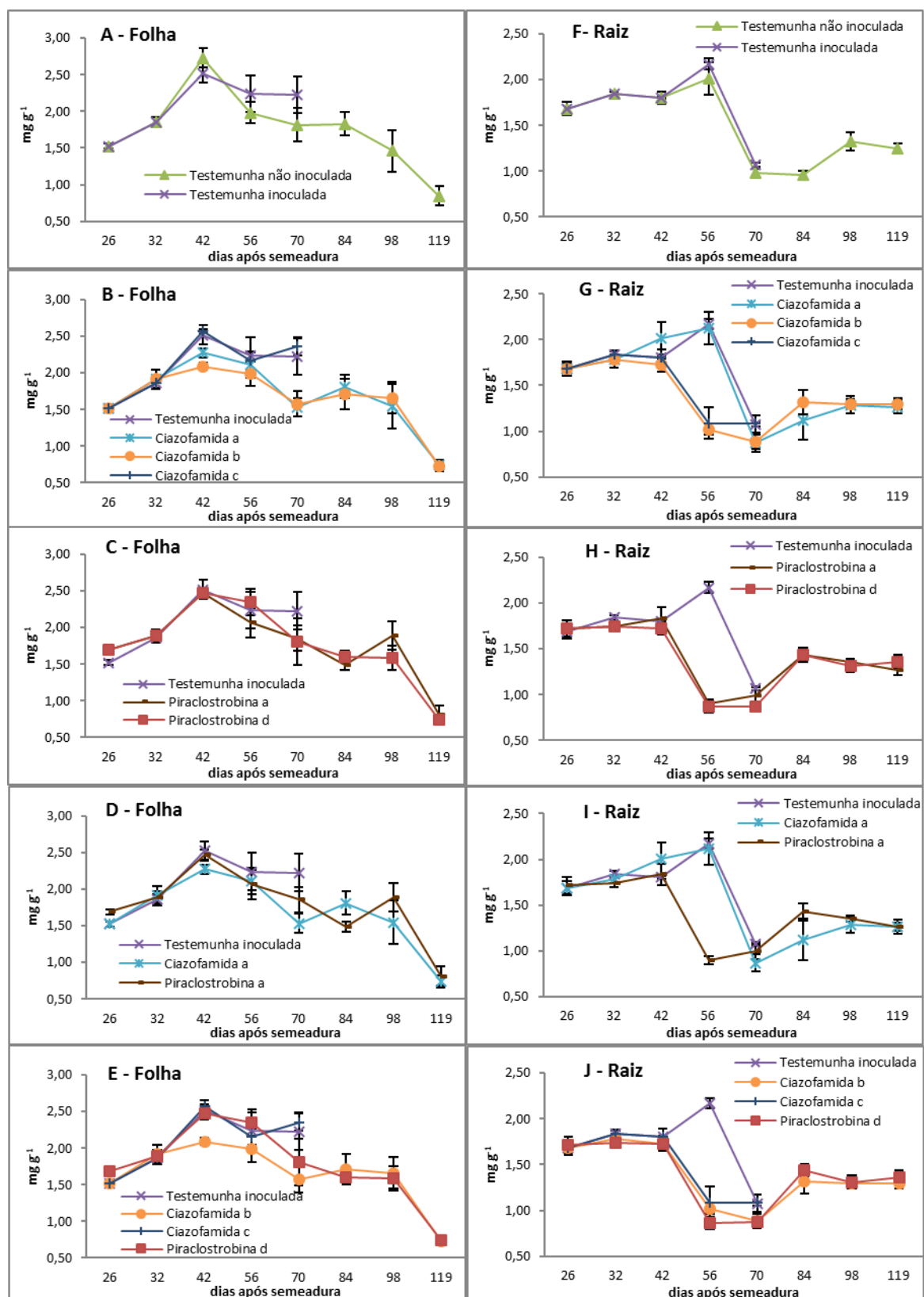


Figura 14: A ao E – Teor de fenóis totais (mg.g^{-1}) em folhas de repolho; F ao J – Teor de fenóis totais (mg.g^{-1}) em raízes de repolho. FCA/Unesp, Botucatu, SP, 2015.

6.3 Experimento III: Avaliação da eficiência de produtos químicos e nutrientes aplicados nas mudas para o controle preventivo da hérnia das brássicas.

O experimento III foi planejado e instalado durante todo o verão e parte do outono de 2015, sob condições climáticas diferentes dos experimentos I e II.

Analizando os resultados na Tabela 11, nota-se que nenhum dos tratamentos tem tamanho de cabeça comercializável para os produtores, no entanto, é importante ressaltar que o experimento foi conduzido em condições de verão no estado de São Paulo, sem a correção do pH do solo e após três cultivos sucessivos na mesma área experimental, desfavorecendo o desenvolvimento da cultura e favorecendo o desenvolvimento da hérnia.

A aplicação do tratamento NPK+ciazofamida mostrou-se mais produtivo diante dos demais tratamentos, sendo superior dentre as características avaliadas (Tabela 11). O tratamento 14-(micronutrientes + piraclostrobina/metiran + ciazofamida), teve massa fresca de cabeça apenas 20 gramas menor que o melhor tratamento, no entanto, foi diferente significativamente pelo conjunto de características avaliadas.

Mesmo sem ser um fungicida utilizado para controle de doenças no solo, o tratamento 4-(piraclostrobina/metiram) teve desempenho positivo se comparado aos demais tratamentos que foram aplicados isoladamente, com massa fresca de cabeça acima de 300g enquanto a ciazofamida aplicada isoladamente teve massa fresca de cabeça de 230g sendo diferente significativamente da piraclostrobina/metiram.

A aplicação dos tratamentos 3 (micronutrientes) e 6 (NPK+ micronutrientes) não foram eficientes sob as condições severas da condução do experimento, portanto não completaram o ciclo.

TABELA11.Características observadas em plantas de repolho produzidas no experimento III aos 80dias após o transplante. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.

Tratamento	Número de folhas da saia	Massa fresca de cabeça (g)	Diâmetro de cabeça	Altura de coração cm	Altura de cabeça	TS*
1-Testemunha	2,28	158,20	2,53	1,03	1,86	E
2-Raizal (NPK 9-45-11)	1,33	127,54	2,33	1,00	1,67	E
3-Biozyme (micronutrientes)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--**
4-Cabrio Top (piraclostrobina + metiran)	5,86	304,05	6,42	2,79	4,97	C
5-Ranman (ciazofamida)	5,17	230,66	6,35	3,24	5,44	D
6-NPK (9-45-11) +micronutrientes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--
7-NPK)9-45-11) + piraclostrobina/metiran	5,72	136,60	4,36	2,03	3,88	D
8-NPK + ciazofamida	9,96	613,46	12,78	6,11	10,20	A
9-Micronutrientes + piraclostrobina/metiran	3,08	198,99	4,04	1,88	3,40	D
10-Micronutrientes + ciazofamida	10,15	296,25	9,28	4,38	7,65	C
11-Piraclostrobina/metiran + ciazofamida	9,79	493,46	11,19	5,41	9,38	B
12-NPK + micronutrientes + piraclostrobina/metiran	2,00	64,33	1,92	0,67	1,58	E
13-NPK + micronutrientes + ciazofamida	10,49	438,40	10,31	4,64	8,37	B
14-Micronutrientes + piraclostrobina/metiran + ciazofamida	9,94	593,42	11,11	5,16	9,22	B
15-NPK + micronutrientes + piraclostrobina/metiran+ ciazofamida	6,33	394,35	7,54	3,56	6,27	C

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

** Dados não submetidos à análise estatística.

Correlacionando a produção e a severidade da doença (Tabela 12), nenhum dos tratamentos foi representativo economicamente e observando a severidade, nota-se que está alta em todos os tratamentos.

Mesmo sem produção representativa, observa-se uma distinção dos tratamentos NPK+ciazofamida, NPK+micronutrientes+ciazofamida e micronutrientes+piraclostrobina/metiran+ciazofamida, pois destacaram-se positivamente dos demais tratamentos aplicados.

TABELA 12: Comparação das médias para as características produção por parcela e severidade da doença no experimento III. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.

Tratamento	Produção/ parcela Kg/parcela	Severidade	TS*
1 – Testemunha	0,92	3,94	C
2 – Raizal (NPK 9-45-11)	0,74	4	C
3- Biozyme (micronutrientes)	0,00	4	C
4 – Cabrio Top (piraclostrobina + metiran)	1,76	3,94	C
5 – Ranman (ciazofamida)	1,34	4	C
6-NPK + micronutrientes	0,00	4	C
7-NPK + piraclostrobina/metiran	0,79	4	C
8-NPK + ciazofamida	3,56	3,69	A
9-Micronutrientes + piraclostrobina/metiran	1,15	4	C
10-Micronutrientes + ciazofamida	1,72	3,94	C
11-Piraclostrobina/metiran + ciazofamida	2,86	3,51	B
12-NPK + micronutrientes + piraclostrobina/metiran	0,37	4	C
13-NPK + micronutrientes + ciazofamida	2,54	3,88	A
14-Micronutrientes + piraclostrobina/metiran + ciazofamida	3,44	3,67	A
15-NPK + micronutrientes + piraclostrobina/metiran+ ciazofamida	2,29	3,33	B

* Dados submetidos a análise estatística pelo método de Tocher Sequencial

Os experimentos foram implantados sucessivamente na mesma área experimental, no entanto, o número de tratamentos aumentou em relação aos experimentos I e II. Observando o mapa da severidade (Figura 15 B) e de produtividade (Figura 15 A) nota-se que a severidade está acima de 90% em quase toda área experimental, e a menor severidade observada nos cinco quadrantes superiores do mapa, podem ser justificados pelo aumento do tamanho dos experimentos em áreas menos infestadas e sem o cultivo sucessivo de brássicas.

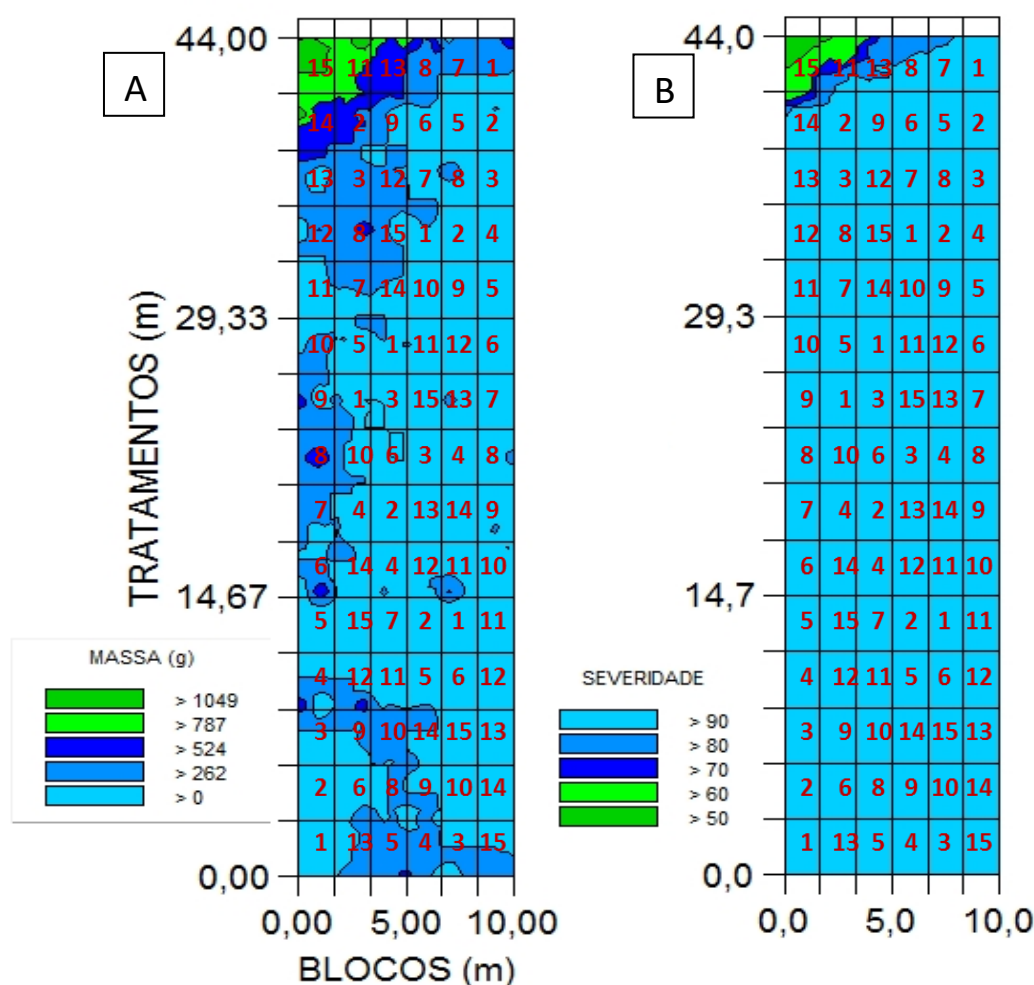


Figura 10: Distribuição das parcelas na área experimental sendo: **A** - Massa média de cabeça (g) **B** - Severidade (%) da hérnia na área do experimento III. FCA/UNESP, Botucatu, SP, 2015.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das necessidades de se aumentar a produção e diminuir os custos com a produção e agredir menos o ambiente com resíduos de agroquímicos, o tratamento de mudas pré-transplante é uma importante ferramenta para auxiliar na manutenção de produções de brássicas mesmo em áreas com histórico de hénia.

A aplicação de fungicidas nas mudas, além de auxiliar na economia do produto, pode ajudar na redução do estresse provocado com o transplante, promovendo precocidade semelhante ao observado no experimento I com redução de gastos com o cultivo ou mesmo reduzindo os riscos de perdas com intempéries (chuvas de granizo por exemplo) que provoquem perdas no final do ciclo.

Apesar da ineficiência do *Trichoderma* sp. no experimento I, outros estudos devem ser realizados quanto a maneira e épocas de aplicação com este e outros fungicidas biológicos para aumentar o número de opções no manejo da baixa população de *Plasmodiophora* sp. em áreas de cultivo de brássicas.

Mesmo com a ciazofamida exercendo controle da hénia das brássicas, ela não deve ser usada isoladamente no controle da doença nas áreas de produção, pois pode ocorrer a indução de resistência do patógeno a este princípio ativo. Portanto deve-se adotar várias outras práticas agrícolas que auxiliem na manutenção da baixa população do patógeno, prolongue a opção de uso do fungicida e mantenha as áreas produtivas viáveis ao plantio de brássicas.

8.CONCLUSÕES

- a)** A aplicação de ciazofamida em rega de mudas de repolho híbrido Shinsei, antes do transplante a campo, mostra potencialidade de controle da hérnia das brássicas e maior produção das plantas em áreas/solos com baixo a moderado inóculo da *P. brassicae*.
- b)** Não houve respostas das plantas de repolho híbrido Shinsei aos tratamentos empregados quanto a produção das enzimas (SOD, CAT, PAL, POD e PPO) e compostos fenólicos totais presentes na parte aérea e nas raízes.

9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. **Anuario da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, 2015.

AGROFIT. AGROFIT - MAPA. **Agrofit - Sistema de Agrotóxicos Fitisanitários**, 14 janeiro 2016. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>.

ARYSTA. Arysta lifescience. **Arista.com.br**, Janeiro 2015. Disponível em: <http://www.arystalifescience.com.br/arysta/upload/arysta/129797741505909120_BulaBiozymeTF.pdf>. Acesso em: 12 Janeiro 2015.

AUER, S.; LUDWIG-MÜLLER, J. Biological control of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) by the endophytic fungus *Acremonium alternatum*. **Journal of Endocytobiosis and Cell Research**, Dresden, Germany, 26, 2015. 43-49.

BABU, et al. Altered gene expression changes in Arabidopsis leaf tissues and protoplasts in response to Plum pox virus infection. **BMC Genomics**, July 2008. 1-21.

BASF. Agro BASF Brasil. **Agro Basf**, fevereiro 2015. Disponível em: <http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/function/conversions:/publish/content/APBrazil/solutions/fungicides/Bulas>.

BEAUCHAMP, C. O.; FRIDOVICH, I. Isoenzymes of superoxidase dismutase from wheat germ. **Biochim. Biophys. Acta**, 1973. 50-64.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. [S.l.]: Ceres, v. 1, 1995.

BLOKHINA, O.; VIRILAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress. **Annals of Botany**, 91, n. 2, 2003. 174-194.

BOTERO, et al. Liming with dolomite reduces the efficacy of the biocontrol fungus *Trichoderma koningiopsis* against cabbage clubroot. **Agronomía Colombiana**, Bogota, 1, n. 33, 30 March 2015. 49-57. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/278785991>>.

BUBICI, G. et al. Efficacy of acibenzolar-S-methyl and two strobilurins, azoxystrobin and trifloxystrobin, for the control of corky root of tomato and verticillium wilt of eggplant. **Crop Protection**, Bari, Italy, n. 25, 2006.

CAMPA, A. Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. In: EVERSE, ; EVERSE, K. E.; GRISHAM, M. B. **Peroxidases in chemistry and biology**. [S.l.]: [s.n.], 1991. p. 25-50.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990.

CHEAH, L.-H.; PAGE, J. TRICHODERMA SPP. FOR POTENTIAL BIOCONTROL OF CLUBROOT OF VEGETABLE BRASSICAS. **Biological Control**, Lewin, New Zealand, 50, 1997. 150-153. Disponível em: <https://www.nzpps.org/journal/50/nzpp_501500.pdf>.

COSTA, ; VENTURA, J. A. **Hernia das Crucíferas**. Incaper. Vitória -ES. 2004. (ISSN 1519-2059).

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: análise multivariada e simulação, 2006.

DIXON, G. R. The Occurrence and Economic Impact of *Plasmodiophora brassicae* and Clubroot Disease, 28, 2009. 194-202.

FAO. <http://www.fao.org/economic/ess/ess-wca/en/>, 2014. Acesso em: 12 junho 2014.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa: UFV, 2008.

FRIBERG, H. **Persistence of Plasmodiophora brassicae - Influence of Non-Host Plants, Soil Fauna and Organic Material**. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Uppsala. 2005. (ISSN 1652-6880).

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Funcional Plant Biology**, 2005. 481-494.

GULLINO, M. L. et al. Efficacy of azoxystrobin and other strobilurins against *Fusarium* wilts of carnation, cyclamen and Paris daisy. **Crop Protection**, Torino, Italy, n. 21, 2002.

HEMM, M. R. et al. Light induces phenylpropanoid metabolism in *Arabidopsis* roots. **The Plant Journal**, june 2004. pages 765-778.

HIRAGA, S. et al. An HR-Induced Tobacco Peroxidase Gene Is Responsive to Spermine, but Not to Salicylate, Methyl Jasmonate, and Ethephon. **Mol. PlantMicrobe Interact**, Tokio, Japan, 2000. 210–216.

HIRAGA, S. et al. A Large Family of Class III Plant Peroxidases. **Plant Cell Physiology**, Tokio, 2001. 462-468.

ISAAKS, E. H.; SRIVASTAVA, R. M. **An Introduction to applied Geostatics**. New York: Oxford University, 1989.

KAGEYAMA, K.; ASANO, T. Life Cycle of *Plasmodiophora brassicae*, 2009. 203-211.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, 1976. 315-319.

KOPPERT. Koppert Brasil. **Koppert Biological Systems**, janeiro 2016. Disponível em: <<http://koppert.com.br/assets/fichas/trichodermil.pdf>>.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, 1999. 21-25.

LUZ, F.; SABOYA, R.; PEREIRA, P. **O cultivo do repolho em Roraima, Circular tecnica 07**. Embrapa Roraima. Boa Vista. 2002.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: CERES Ltda, 2006.

MANITOBA AGRICULTURE. Clubroot Of Brassica Crops. **Agriculture, Food and Rural Development**, Manitoba, 2015. Disponível em: <<http://www.gov.mb.ca/agriculture/crops/plant-diseases/clubroot-brassica.html>>. Acesso em: dezembro 2015.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle Biológico de Doenças Radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de patógenos radiculares em solos Tropicais**. Recife- PE: Imprensa Universitaria, 2005.

MARINGONI, C. Doenças das Crucíferas. In: KIMATI, H., et al. **Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. Quarta. ed. [S.l.]: Editora Agronomica CERES Ltda, v. 2, 2005. p. 663.

MAY DE MIO, L. L.; KOWATA, L. S.; RUARO, L. Resistencia de Cutivares de Brássicas a Hernia das Crucíferas. **Scientia Agraria**, Curitiba, 9, n. 4, 2008.

MITANI, S. et al. Antifungal Activity of the Novel Fungicide Cyazofamid against Phytophthora infestans and Other Plant Pathogenic Fungi in Vitro. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Japan, n. 70, 2001.

MITANI, S. et al. Effects of cyazofamid against Plasmodiophora brassicae Woronin on Chinese cabbage. **Pest Management Science**, Japan, n. 59, 2003.

MOLLER, I. M. Plant mitochondrial and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 52, 2001. 561-591.

PANDHAIR, V.; SEKHON, B. S. Reactive oxygen species and antioxidants in plants. **Journal of Plant Biotechnology**, 15, 2006. 71-78.

PEIXOTO, E. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Rev. Bras. Fisiologia Vegetal**, 1999. 137-143.

PENALBER, A. T. T. **Controle Alternativo da Hernia das Crucíferas causada por Plasmodiophora brassicae em Brocolis através de compostos orgânicos**. Universidade de Brasília. Brasília, p. 158. 2009.

QUEIROZ, C. S. et al. **NUTRIÇÃO DA SOJA E SUA INFLUÊNCIA NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA PARA INFECÇÃO E SEVERIDADE DOS SINTOMAS DA FERRUGEM ASIÁTICA**. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG. Goiania, p. 5. 2011.

REIS, A. **Comunicado Técnico - Hernia das Crucíferas**. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF, p. 5. 2009. (ISSN 1414-9850).

REIS, A. **Comunicado Técnico - Hernia das Crucíferas**. [S.l.]. 2009.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas à patógenos. **Fitopatol. Bras.**, 28, n. 2, 2003. 123-130.

ROSA, D. D.; BASSETO, M. A.; FURTADO, E. L. Efeito da temperatura sobre a severidade de Plasmodiophora brassicae. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 2010. 240-243.

RUARO, L.; LIMA NETO, D. C.; JÚNIOR, J. R. Influência do boro, de fontes de nitrogênio e do pH do solo no controle de hérnia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae*. **Tropical Plant Pathology**, Curitiba, 34, n. 4, 2009.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Bras. J. Med. Biol. Res.**, 38, 2005. 995-1014.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 2ª. ed. London: CRC, 2002.

SHARMA, K.; GOSSEN, B. D.; MCDONALD, M. R. Effect of Temperature on Cortical Infection by *Plasmodiophora brassicae* and Clubroot Severity. **Ecology and Epidemiology**, 31 July 2011.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-hosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 1965. 144-158.

SOUZA, A. V. **Tratamento térmico na manutenção da qualidade de lichias armazenadas sob refrigeração**. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas. Botucatu, p. 67. 2009.

STRELKOV, S. E. et al. Progress towards the Sustainable Management of Clubroot [*Plasmodiophora brassicae*] of Canola on the Canadian Prairies. **Prairie Soils & Crops Journal**, 4, 2011.

STUMPL, W. L. et al. Strobilurin Fungicide Timing for *Rhizoctonia* Root and Crown Rot Suppression in Sugarbeet. **Journal of Sugar Beet Research**, 41, n. 1 e 2, 2004.

TAKAHASHI, K. Biological agents affecting the viability of resting spore of *Plasmodiophora brassicae* Wor. in soil without host roots. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, 1994. 667-674.

TIVELLI, S. W.; PURQUERIO, L. F. V. Repolho (*Brassica oleracea* L. var. capitata L.). **Associação brasileira de horticultura**, 2015. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/news/Default.asp?id=4198>>. Acesso em: dezembro 2015.

VANITHA, S. C.; NIRANJANA, S. R.; UMESHA, S. Role of Phenylalanine Ammonia Lyase and Polyphenol Oxidase in Host Resistance to Bacterial Wilt of Tomato. **Journal of Phytopathology**, September 2009. 552-557.

VASCONCELOS, E. S. D. et al. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesq. agropec. brasileira**, Brasília, 2007. 1421-1428.

VIDAL, . **Métodos tradicionais de controle da hérnia das crucíferas**. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF, p. 20. 2012. (ISSN 1415-2312).

VIECELLI, C. A. et al. **Nutrição Mineral e a Incidência de doenças em plantas**. Cascavel PR: Gráfica Assoeste e Editora Ltda, 2012.

YOSHIDA, et al. Molecular biology and application of plant peroxidase genes. **Microbiol Biotechnol**, 2003. 665–670.

ZAMBOLIM, ; COSTA, ; VALE, F. X. R. Nutrição Mineral e Patógenos Radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife-PE: [s.n.], 2005.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. C.; JUNIOR, L. A. Z. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: [s.n.], 2012.