



**Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

**Nean Locatelli Dalacosta**

**COMPATIBILIDADE DE *Trichoderma harzianum* ASSOCIADO AO  
CONTROLE QUÍMICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

**Dissertação de Mestrado**

**Pato Branco**

**2019**

NEAN LOCATELLI DALACOSTA

**COMPATIBILIDADE DE *Trichoderma harzianum* ASSOCIADO AO  
CONTROLE QUÍMICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco, como requisito para à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro

PATO BRANCO

2019

D136c Dalacosta, Nean Locatelli.  
Compatibilidade de *Trichoderma harzianum* associado ao controle químico no tratamento de sementes de soja / Nean Locatelli Dalacosta. -- 2019.  
53 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2019.  
Bibliografia: f. 48 -53.

1. Soja - Doenças e pragas. 2. Fitopatologia. 3. Soja - Semente. 4. Produtos químicos agrícolas. I. Mazaro, Sergio Miguel, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Dissertação nº XXX**

### **COMPATIBILIDADE DE *Trichoderma harzianum* ASSOCIADO AO CONTROLE QUÍMICO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

por

**NEAN LOCATELLI DALACOSTA**

Dissertação apresentada às 8 horas 30 min. do dia 25 de fevereiro de 2019 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Prof. Dr. Gilmar Franzener**  
UFFS

---

**Prof. Dr. Maristela Rey Borin**  
UTFPR

---

**Prof. Dr. Alfredo de Gouvêa**  
UFPR

---

**Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro**  
UTFPR  
Orientador

---

**Prof. Dr. Giovani Benin**  
Coordenador do PPGA

“O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do Programa”

## DEDICATÓRIA

“Ao meu pai, minha mãe e minha irmã que são a base de tudo na minha vida,  
sempre me apoiaram para vencer os desafios”

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente quero agradecer a Deus e Nossa Senhora Aparecida por ter me dado forças e iluminado em todos os dias de realização desse trabalho.

A minha mãe Marisa, meu pai Valmor e minha Irmã Naiara, que com toda a certeza são à base de tudo pra mim e mesmo estando longe eu sabia que podia contar com eles, pois estavam me apoiando e rezando para eu conseguisse alcançar meus objetivos, sem vocês nada teria acontecido. Agradeço a todos os meus familiares, amo vocês.

A minha namorada Camila Ghedin que me ajudou na condução dos experimentos e na correção de todo o trabalho, muito obrigado, amo você.

Ao o Professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro meu grande amigo, fonte de inspiração, fico muito grato por ter me orientado, pelas considerações, conversas, conselhos, pela grande parceria de sempre.

Aos meus amigos Steffani Lucca, Mycheli Preuss, Ivan Carlos Zorzzi que ajudaram e me apoiaram na condução e avaliação dos experimentos, pelas conversas e risadas passadas, contribuições para execução do trabalho. Fica o meu muito obrigado.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná por todo o auxílio e aporte na realização do trabalho.

À empresa Ballagro por disponibilizar os produtos para condução dos experimentos

A todos os meus amigos e demais que de uma forma ou outra, sempre estiveram comigo no dia a dia e contribuíram para conclusão desse trabalho e mais essa etapa fosse vencida.

## EPÍGRAFE

“Você cria o seu próprio universo a medida que avança” (Winston Churchill)

## RESUMO

DALACOSTA, Nean Locatelli. Compatibilidade de agentes de *Trichoderma harzianum* ao controle químico no tratamento de sementes de soja. 56 f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

A utilização de agentes de controle biológico (ACB) para o manejo de doenças encontra-se em ascensão no cenário agrícola, e com ela a necessidade de informações que possam favorecer o sistema de produção, como a integração de práticas de controle. O objetivo do trabalho foi determinar a compatibilidade de duas formulações biológicas, a base de *Trichoderma harzianum*, com produtos químicos utilizados no tratamento convencional de sementes de soja. Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Fitopatologia/Fitossanidade e a campo na UTFPR – campus Dois Vizinhos/PR. Foram utilizados quatro tratamentos químicos sendo: tratamento 1 (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil); tratamento 2 (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe); Tratamento 3 (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) e tratamento 4 (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam), nas doses recomendadas pelos fabricantes, associado com dois formulados, pó molhável (WP) e suspensão concentrada (SC) de *T. harzianum*. Foram avaliadas: compatibilidade *in vitro*, Concentração Mínima Inibitória, viabilidade de agente biológico na semente, promoção de crescimento e redução de doenças. Foi possível observar que a formulação SL foi mais sensível aos ingredientes ativos utilizados; Os tratamentos 1 (Piraclostrobina/ Tiofanato Metílico/ Fipronil) e 3 (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) possuem compatibilidade com o *Trichoderma* na formulação WP mesmo após 18 horas do tratamento das sementes, sendo uma opção para o uso combinado no campo; O ACB foi capaz de competir por espaço e nutrientes, reduzindo o crescimento dos patógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O *T. harzianum* demonstra potencial de utilização no tratamento de sementes e no sulco de plantio associado com os produtos químicos, e sua compatibilidade varia com a formulação do produto e os ingredientes ativos de cada produto químico.

**Palavras-chave:** *Trichoderma harzianum*. Manejo de doenças, *Glycine max*.



## ABSTRACT

DALACOSTA, Nean Locatelli. Compatibility of *Trichoderma harzianum* agents to chemical control in the treatment of soybean seeds. 56 f. Dissertation - Postgraduate Program in Agronomy (Concentration area: Vegetables Production), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2019.

The use of biological control agents (ACB) for disease management is on the rise in the agricultural scenario, and with the same source of information that can favor the production system, such as the integration of control practices. The objective of this work was to determine the compatibility of two biological formulations, the base of *Trichoderma harzianum*, with chemicals used in the conventional treatment of soybean seeds. The experiments were conducted in Phytopathology / Phytosanitary laboratories and at UTFPR – Dois Vizinhos campus / PR. Four chemical treatments were used: treatment 1 (Piraclostrobin / Methyl thiophanate / Fipronil); treatment 2 (Tiram / Carbendazin / Imidacloprid / Thiodicarb); Treatment 3 (Methyl Thiophanate / Fluazinam / Bifenthrin / Imidacloprid) and treatment 4 (Metalaxyl-M / Fludioxonil / Thiamethoxam), at the doses recommended by the manufacturers, associated with two formulations, wettable powder (WP) and concentrated suspension (SC) of *T. harzianum*. Were evaluated: *in vitro* compatibility, Minimum Inhibitory Concentration, biological agent viability in the seed, growth promotion and disease reduction. It was possible to observe that the SL formulation was more sensitive to the active ingredients used; Treatments 1 (Piraclostrobin / Methyl Thiophanate / Fipronil) and 3 (Methyl Thiophanate / Fluazinam / Bifenthrin / Imidacloprid) are compatible with *Trichoderma* in the WP formulation even after 18 hours of seed treatment, being an option for the combined use in the field; The ACB was able to compete for space and nutrients, reducing the growth of pathogens. *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *T. harzianum* demonstrates potential for use in seed treatment and planting furrow associated with chemical products, and their compatibility varies with the product formulation and the active ingredients of each chemical.

Keywords: *Trichoderma harzianum*. Disease management. *Glycine max*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Sulco de semeadura com seis centímetros de profundidade (A).  
Infestação do solo com os fitopatógenos (B). .....30
- Figura 2** - Crescimento micelial de *Trichoderma* na semente, *T. harzianum*  
formulação WP sem a presença do tratamento químico (testemunha) (A). *T.*  
*harzianum* em formulação WP + (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil)  
(B). *T. harzianum* formulação SC sem a presença do tratamento químico  
(testemunha) (C). *T. harzianum* em formulação SC + (Tiram/ Carbendazin/  
Imidacloprido/ Tiodicarbe) (D).....35
- Figura 3** - Sintomas de *R. solani* causando *damping off* em pré emergência (A) e  
pós emergência na soja (B). .....45

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Marca e ingredientes ativos utilizados no tratamento de sementes de soja e associações com formulações de *Trichoderma harzianum*, UTFPR Campus - Pato Branco, 2018. ....25
- Tabela 2** - Caracterização inicial do lote de sementes, cultivar Nideira 5909 RG. Incidência de patógenos (%), Germinação (%), Peso de mil sementes (PMS), Peneira e Classe. UTFPR Campus - Pato Branco, 2018. ....27
- Tabela 3** - Confrontos entre *T. harzianum* e os fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*. UTFPR Campus - Pato Branco, 2018. ...28
- Tabela 4** - Crescimento micelial em centímetros (cm) das duas formulações de *Trichoderma* em meio de cultura modificado com os produtos químicos na dose de bula, após 72 horas em DBO a 25±2°C. UTFPR, campus Pato Branco, 2018. ....32
- Tabela 5** - Concentração inibitória mínima dos diferentes produtos químicos e princípios ativos sobre os ACB em relação a dose de bula, avaliados após 48 horas de incubação a 25 ±2°C. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....34
- Tabela 6** - Crescimento em centímetros (cm) dos ACB em diferentes tempos (0, 6, 12 e 18 horas) após o tratamento com os produtos químicos, avaliados 108 horas após o tratamento. Redução percentual em relação ao controle (% R). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....36
- Tabela 7** - Crescimento micelial em centímetros de *Sclerotinia sclerotiorum* em confronto direto com micélio de *Trichoderma harzianum* em diferentes formulações (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018. ....37
- Tabela 8** - Crescimento micelial em centímetros do escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum* em confronto direto com as diferentes formulações de *Trichoderma harzianum* (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018. ....38
- Tabela 9** - Crescimento micelial em centímetros de *Rhizoctonia solani* em confronto direto micélio de *Trichoderma harzianum* em diferentes formulações (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....39
- Tabela 10** - Crescimento micelial em centímetros de *Rhizoctonia solani* em confronto direto com as diferentes formulações de *Trichoderma harzianum* (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....39
- Tabela 11** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo sem infestação de fitopatógenos, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....40
- Tabela 12** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo sem infestação de fitopatógenos, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....41
- Tabela 13** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *S. sclerotiorum*, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018. ...42
- Tabela 14** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *S.*

<i>sclerotiorum</i> , avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018 .....	43
<b>Tabela 15</b> - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com <i>Rhizoctonia solani</i> , avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....	44
<b>Tabela 16</b> - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com <i>Rhizoctonia solani</i> , avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.....	45

## LISTA DE SIGLAS

Embrapa  
Conab

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Companhia Nacional de Abastecimento

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACB	Agente de controle biológico
BD	Meio de cultura Batata Destroxe
BDA	Meio de cultura Batata Destroxe ágar
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
FAL	Fenilalanina amônia liase
g.i.a. ha <sup>-1</sup>	Gramas de ingrediente ativo por hectare
kg. ha <sup>-1</sup>	Quilogramas por hectare
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standarte
SC	Suspensão concentrada
WP	Pó molhável

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
%	Porcentagem
β	Letra grega Beta
°C	Temperatura em graus celsius
μL	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA .....	18
2.2 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	19
2.3 <i>Rhizoctonia solani</i> .....	21
2.4 CONTROLE BIOLÓGICO E USO DO <i>Trichoderma</i> .....	22
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
3.1 COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS E <i>T. harzianum in vitro</i> .....	26
3.2 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA .....	26
3.3 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO ACB NA SEMENTES <i>in vitro</i> .....	27
3.4 CONFRONTO DIRETO COM PATÓGENOS <i>in vitro</i> .....	28
3.5 CONFRONTO COM PATÓGENOS A CAMPO .....	29
3.5.1 Produção do inóculo dos fitopatógenos .....	30
3.5.2 Infestação do solo com inóculo .....	30
3.5.3 Processo de semeadura da soja .....	31
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
4.1 COMPATIBILIDADE <i>in vitro</i> .....	32
4.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA .....	33
4.3 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO ACB NA SEMENTES <i>in vitro</i> .....	35
4.4 CONFRONTRO DIRETO COM PATÓGENOS <i>in vitro</i> . .....	37
4.5 DESENVOLVIMENTO DE PLANTULAS E CONTROLE DE DOENÇAS .....	40
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	47
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	48



## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de sementes favorece o desenvolvimento inicial das plantas, protege contra fitopatógenos e, ainda, pode induzir outros mecanismos de defesa vegetal. A integração no tratamento de sementes, de produtos químicos com agentes de controle biológico (ACB), fornece proteção contra os potenciais inóculos transmitidos pelo solo ou pelas próprias sementes (DUBEY; PATEL, 2001).

Essa associação busca, principalmente, obter efeitos aditivos ou sinérgicos no manejo das doenças causados por fitopatógenos de solo (LOCKE, 1985). Para isso, a compreensão dos efeitos dos produtos agroquímicos aos ACB *in vitro*, se torna importante para a seleção de agentes resistentes, que possam ser utilizados em associações no controle de doenças (WEDAJO, 2015).

Muitas espécies de *Trichoderma* possuem resistência a total ou parcial a muitos fungicidas, porém, essa informação ainda não está bem clara e pode variar de acordo com o fungicida, bem como sua formulação (KHAN; SHAHZAD, 2007).

O emprego de *Trichoderma* no tratamento de sementes de soja, pode evitar o desenvolvimento de resistência dos patógenos aos produtos químicos (DROBY et al. 2009), e ainda, aumentar o controle de doenças de solo, induzir resistência no hospedeiro (HWANG; BENSON, 2002), bem como, promover crescimento das plantas (HARMAN, et al., 2004).

O uso associado, do controle químico ao controle biológico, mostra uma interação positiva, quando comparados aos métodos isolados (SRINIVAS; RAMAKRISHNAN, 2002). A combinação torna-se promissora no manejo de doenças de plantas, devido ao acréscimo de mecanismos de ação, proporcionado pelo componente biológico, além de seu menor impacto causado ao ambiente.

Formulações à base de *Trichoderma*, seja em pó molhável ou em solução líquida, podem demonstrar diferenças em sua eficiência de controle e compatibilidade aos agroquímicos; e, ainda, quando em solução líquida, é provável a presença de metabólitos, podendo demonstrar resultados distintos.

As informações sobre a compatibilidade de ACB com produtos químicos, na literatura, são restritas. Devido à crescente demanda dos produtos biológicos, torna-se imprescindível o conhecimento do resultado dessa interação, observando seus efeitos sobre as plantas e no controle das doenças, dando suporte às recomendações agrônômicas e ao posicionamento de produtos no campo.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi determinar a compatibilidade de duas formulações biológicas, a base de *Thichoderma harzianum*, com produtos químicos utilizados no tratamento convencional de sementes de soja.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA

O cultivo da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é altamente significativo à economia brasileira, sendo a principal cultura vegetal do país, além da grande participação nas exportações e por atuar diretamente nas mais diversas classes econômicas, que dependem sobretudo dos empregos gerados pelo complexo produtivo da cultura (EMBRAPA, 2007). Vários produtos e subprodutos são obtidos do seu processamento, a semente oleaginosa apresenta elevado teor proteico, sendo utilizada na alimentação humana e principalmente na formulação de ração animal como farelo de soja (GURGEL, 2007).

As exportações originadas pelo complexo da soja chegaram a quase US\$ 25,7 bilhões, com 68,1 milhões de toneladas em 2016/2017, representando cerca de 30% das vendas externas do agronegócio nacional (BRASIL, 2018) e é a grande responsável por manter a balança comercial em saldo positivo e o superávit.

Segundo o levantamento da Companhia Nacional do Abastecimento – CONAB (2018), na safra 2017/2018 a produção de soja foi recorde de 119,28 milhões de toneladas, em uma área total de 35.149,3 mil hectares. As condições climáticas foram favoráveis para, praticamente, todas as regiões, o que favoreceu o desenvolvimento da oleaginosa e o aumento da produtividade para 3.392 kg.ha<sup>-1</sup>.

A produtividade média brasileira da cultura pode avançar, pelas potencialidades apresentadas pelas cultivares, o uso de tecnologias e as adequações nos manejos da cultura. Contudo, alguns fatores podem contribuir baixos índices: a ocorrência de fungos, vírus, bactérias e nematoides, que geram perdas anuais estimadas em 15 a 20% por safra (ALMEIDA et al., 2005).

Mais de 40 doenças são relatadas, pela literatura, na cultura da soja no Brasil (ALMEIDA et al., 2005), sendo a maioria ocasionada por fungos e disseminadas via semente (GOULART, 2005), como a antracnose (*Colletotrichum truncatum*); seca da haste e da vagem (*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*); crestamento (*Cercospora kikuchii*); mancha parda (*Septoria glycines*); e o podridão branco da haste e da vagem (*Sclerotinia sclerotiorum*) (GOULART, 1998).

Patógenos também podem ser encontrados em restos culturais e no solo. De acordo com Espíndola (2015), os fungos com maiores relevância e agressividade à cultura da soja no Brasil, em relação a estabelecimento inicial de plântulas, são *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum truncatum* e *Macrophomina phaseolina*, sendo que seus efeitos negativos podem ser minimizados com uso de práticas adequadas de manejo, dentre elas tratamento de sementes.

O uso do tratamento de sementes é uma prática difundida na cultura da soja, visto a importância e benefícios ocasionados por sua adoção. O processo consiste na aplicação de substâncias químicas, físicas ou biológicas que preservem e melhorem o desempenho das sementes, promovendo proteção nas fases iniciais e eliminando patógenos presentes nas sementes (MENTEN; MORAES, 2010). A aplicação de fungicidas além de atuar diretamente sobre os patógenos das sementes, pode auxiliar no controle de patógenos habitantes de solo (MACHADO, 2000).

A integração no tratamento químico de sementes com utilização de agentes de controle biológico (ACB) fornece proteção contra os inóculos transmitidos pelo solo e também pela semente (DUBEY; PATEL, 2001), aumentando a eficiência de controle.

## 2.2 *Sclerotinia sclerotiorum*

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é o agente causador da doença conhecida como mofo branco, podridão de esclerotinia ou podridão da haste, que possui ainda outras denominações. O fitopatógeno pertence ao Filo Ascomycota, Classe Ascomicetos, Subclasse Discomycetos, Ordem Helotiales e à Família Sclerotiniaceae (JACCOUD FILHO et al., 2017).

Como característica da ordem Helotiales, formam escleródios também conhecidos por esclerócios, de coloração escura, resultado da agregação de hifas somáticas, os quais possuem formato irregular, com 2 a 20 mm de diâmetro e comprimento. Os apotécios têm forma de taça, com a parte superior côncava, de coloração marrom amarelada, onde são produzidas as ascas com até 8 ascósporos hialinos e asseptados (LUZ, 2011; JACCOUD FILHO et al., 2017).

Os escleródios são estruturas de resistência que garantem a sobrevivência do fungo em condições desfavoráveis, podendo permanecer viáveis por até 12 anos em temperatura de 4°C (STEADMAN; NICERSON, 1975), na superfície do solo por, cerca

de, 14 meses e, quando enterrados, por até 36 meses (REIS; TOMAZINI, 2005), esse período de viabilidade é variável em função das condições de umidade, temperatura e atividade biológica do solo. Os mesmos podem germinar de duas maneiras: carpogenicamente e miceliogenicamente (BOLTON; THOMMA; BERLIN, 2006).

A germinação carpogênica constitui a fase sexuado do patógeno, e necessita de condições de alta umidade relativa do ar por 10 a 20 dias, temperaturas amenas entre 10 e 21 °C e luminosidade suficiente para os escleródios germinarem, formar o estipe e o apotécio (PHILLIPS, 1987; JACCOUD FILHO et al., 2017). A principal forma de infecção nas plantas de soja é pelos ascósporos produzidos nas ascas no apotécio, tendo como preferência as pétalas das flores da cultura, os quais servem como substrato para o início do processo de infecção nas hastes e nos pecíolos (GRAU; HARTAMAN, 2015).

Cada apotécio pode produzir até dois milhões de ascósporos, com liberação contínua por 2 a 17 dias, e cada escleródio pode originar entre 15 e 20 apotécios. Isso demonstra o grande potencial reprodutivo do patógeno e o risco de disseminação da doença, sendo os ascósporos considerados fonte de inoculo primário para infectar a parte aérea das plantas (JULIATTI; GARCIA, 2008; STEADMAN, 1983).

Na germinação miceliogênica, ocorre a formação de um micélio hialino, fino e septado (MASSALA JÚNIOR; RUGNER, 2011), que necessita de temperaturas em torno de 20 °C e umidade relativa do ar acima de 90%. Esse tipo de infecção por meio do micélio, tem potencial epidêmico bem reduzido quando comparado com os ascósporos (HUANG; CHANG, 2003; PHILLIPS, 1987).

O fungo é capaz de infectar qualquer parte da planta de soja. Porém, as infecções se iniciam com maior frequência nas axilas das folhas e dos ramos laterais e principalmente nas inflorescências (ALMEIDA et al., 2005). Os sintomas são caracterizados por manchas aquosas, evoluindo para coloração castanho clara, seguido da formação de um micélio denso, de coloração branca e aspecto cotonoso. Em poucos dias, ocorre agregação do micélio e a formação dos escleródios, com coloração negra e rigidez (ALMEIDA, et al., 2005; HENNING et al., 2014).

O patógeno pode estar associado a semente por meio do micélio dormente ou pelos escleródios, reduzindo significativamente a germinação, o vigor e a emergência de plântulas (HENNEBERG et al., 2012). Silva et al. (2017), em teste de emergência em areia, observou comportamento muito agressivo de *S. sclerotiorum* quando micélio associado a semente, com reduções de 100% na emergência de plântulas.

A ocorrência de *S. sclerotiorum* tem sido reportada em praticamente todo o mundo, e nas mais diversas espécies de plantas (JACCOUD FILHO et al., 2017), são mais de 400 espécies hospedeiras parasitadas por *S. sclerotiorum* (BOLLAND; HALL, 1994).

No Brasil diversas culturas de importância econômica são susceptíveis ao ataque do patógeno, como a soja, o feijão, o girassol, a canola e o amendoim. Além dessas espécies de oleaginosas, são hospedeiras: algumas hortaliças, frutíferas, forrageiras e plantas daninhas (JACCOUD FILHO et al., 2017).

Na cultura da soja, a ocorrência de *Sclerotinia sclerotiorum* tem aumentado significativamente em todas as regiões produtoras e chega a uma área de 7,7 milhões de hectares, correspondendo a 23 % da área de produção da oleaginosa, em alguns casos em que as condições são favoráveis e o manejo não é realizado de forma adequada, há redução de produtividade de até 70 % (MEYER et al., 2017).

### 2.3 *Rhizoctonia solani*

O gênero *Rhizoctonia* foi descrito pela primeira vez em 1815, como um fungo não esporulante que ataca, principalmente, raízes e produz filamentos de hifas a partir de escleródios (SNEH et al., 1991).

O fungo *R. solani* tem como seu teleomorfo (sexual) *Thanatephorus cucumeris* Frank que pertence ao Reino Fungi, Filo Basidiomycota, Classe Basidiomycetes, Ordem Ceratobasidiales, Família Ceratobasidiaceae (HAWKSWORTH et al., 1995). Na fase anamórfica (assexual), *Rhizoctonia solani* Kunh, tem sido conhecida mundialmente por atacar uma gama variada de plantas cultivadas (SNEH et al., 1991).

O micélio é caracterizado pela ramificação em ângulo reto com septação imediatamente e após o ramo, constrição na base da ramificação e septo doliporo (CASTRO, 2007), sendo bem característico a formação de ângulos de 90°.

É um fungo com atividade saprófita, presentes nos solos na forma de micélio ou escleródios, os quais são de fácil identificação no solo. Devido a dependência de oxigênio, essas estruturas se encontram nas camadas mais superficiais dos solos, principalmente nos primeiros 10 centímetros (CARDOSO, 1994).

Mundialmente, o grupo de anastomose AG-4 de *R. solani* é citado como o

principal agente causador da podridão de raízes na soja (EL-ABDEAN et al., 2013). A doença pode afetar as sementes, causando podridão, porém o sintoma mais comum é o *damping-off* ou tombamento de plântulas em pós emergência. O sintoma se inicia com estrias castanho avermelhados na raiz; logo nos primeiros centímetros abaixo do solo, as estrias se expandem, coalescem, causando podridão seca. Frequentemente, ocorre estrangulamento abaixo do nível do solo, resultando em murcha e tombamento da planta aos 30 a 35 dias após emergência (ALMEIDA et al., 2005; HENNING et al., 2014).

Em pequenas áreas, o patógeno tem capacidade de reduzir até 48 % da produtividade da cultura (TACHIABANA et al., 1971), o que é facilitado com condições favoráveis de desenvolvimento da doença como alta umidade e temperatura (HENNING et al., 2014).

Como forma de manejo da doença, destaca-se a adoção do tratamento químico de sementes com fungicidas, rotação de culturas com gramíneas, melhoria da infiltração de água para evitar encharcamento (ALMEIDA et al., 2005; HENNING et al., 2014).

Segundo França Neto et al. (2016) produtos à base de captan, carboxin + thiram, fludioxonil e piraclostrobina tem demonstrado eficiência no controle de no controle de *Rhizoctonia* e podem ser uma opção utilização no tratamento de sementes.

#### 2.4 CONTROLE BIOLÓGICO E USO DO *Trichoderma*

Nos últimos anos o controle biológico ganhou importância como uma alternativa ou de forma complementar ao uso de produtos químicos sintéticos (VOS, 2015), ou ainda como uma parte de manejo integrado de doenças, visando reduzir o uso de produtos químicos (GLARE, et al., 2012).

Segundo Baker & Cook (1974) o controle biológico é a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocados por um patógeno ou parasita, nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou por meio da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonista.

A utilização de agentes de controle biológico (ACB) tem baixa ou nenhuma toxicidade para polinizadores e ainda são compatíveis com outros inimigos naturais, como parasitoides. Outra vantagem de sua adoção, é a possibilidade de uso integrado com outros produtos químicos o que pode retardar a ocorrência de resistência, pois, há quebra de pressão por um único modo de ação ou ainda essa combinação fornece efeitos aditivos, se não sinérgicos para o controle de doenças (XU et al., 2011).

Fungos amplamente distribuídos no solo e na decomposição de madeiras, o *Trichoderma* spp. possui crescimento rápido, apresentando conídios verdes brilhantes e com formação de conidióforos repetidamente ramificados (ADAV & SZE, 2014).

Segundo Bettiol et al. (2012) o gênero *Trichoderma* é o mais importante no controle biológico de doenças de plantas, representando quase metade dos agentes biológicos encontrados no mundo. Isso se deve a sua alta versatilidade em modos de ação (parasitismo, antibiose, competição), produção de sideróforos e ainda induzem resistência ao hospedeiro. São encontrados em diversos ambientes, apresentam rápido crescimento em diversos meios o que facilita a produção massal. Além disso, os pertencentes desse gênero são capazes de atuar como bioestimulantes, promovendo crescimento vegetal pela liberação de fitohormônios e solubilização de nutrientes (MACHADO et al., 2012).

As espécies de *Trichoderma* têm sido muito estudadas e pesquisadas nos últimos anos como agente de controle biológico, devido sua efetividade a uma grande gama de patógenos causadores de doenças em plantas (ZHANG et al., 2016).

O uso de *Trichoderma* isolado no tratamento de sementes controlou *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão, e ainda reduziu da incidência de *Fusarium* spp. e *Rhizoctonia solani*. Na cultura da batata, foi observado redução de rizoctoniose e sarna da batata (*Streptomyces scabies*). Muito tem se usado *Trichoderma* nas culturas de soja, feijão e algodão visando o manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* (POMELLA; RIBEIRO, 2009). Trabalhando com isolados de *Trichoderma* no tratamento de sementes de soja, Begum et al. (2010), observou redução significativa na ocorrência de *damping off*, causada por *Colletotrichum truncatum* em pré e pós emergência, resultado semelhante ao encontrado com o tratamento químico com o produto Benlate®.

Várias espécies do gênero *Trichoderma* são relatadas com portadoras de uma resistência inata e/ou induzidas a muitos fungicidas, no entanto, essa resistência é diferente em função do fungicida utilizado (KHAN, SHAHZAD, 2007). Sarkar et al.



(2008), testando fungicidas e inseticidas em condições *in vitro* sobre *Trichoderma harzianum*, observaram que a redução do crescimento micelial é dependente de cada produto utilizado, bem como da dosagem.

Dessa forma, faz-se necessário o entendimento da compatibilidade de ACB e produtos químicos visando o manejo de doenças em plantas (RANGANATHSWAMY et al., 2012).

O objetivo, em longo prazo, é desenvolver uma estratégia integrada no manejo de doenças, utilizando combinações de ACB e produtos químicos, evitando o processo de resistência de patógenos, uso indevido de químicos e favorecendo o aumento da população de *Trichoderma* no solo (TAPWAL et al., 2012), para isso, é imprescindível avaliações dessas combinações em condições de casa de vegetação e a campo (SARKAR et al., 2008).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, no Laboratório de Fitopatologia/Fitossanidade e em condições de campo. Os tratamentos utilizados foram: tratamento 1 (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil); tratamento 2 (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe); Tratamento 3 (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) e tratamento 4 (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam), nas doses recomendadas pelos fabricantes, associados com um agente de controle biológico (ACB) a base de *Trichoderma harzianum* em duas diferentes formulações, pó molhável (WP) e suspensão concentrada (SC), conforme a Tabela 1.

**Tabela 1** – Marca e ingredientes ativos utilizados no tratamento de sementes de soja e associações com formulações de *Trichoderma harzianum*, UTFPR Campus - Pato Branco, 2018.

Tratamento	Ingrediente ativo	Dose (g.i.a.ha <sup>-1</sup> )*	Formulação do ACB
1	Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil	2,5/ 22,5/ 25	
2	Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe	15/ 35/ 15/ 45	WP**
3	Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido	35/ 5,25/ 23,62/ 28,87	
4	Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam	0,5/ 12,5/ 35	
5	Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil	2,5/ 22,5/ 25	
6	Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe	15/ 35/ 15/ 45	SC***
7	Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido	35/ 5.25/ 23,62/ 28,87	
8	Metalaxil-M/ Fludioxonil/ Tiametoxam	0,5/ 12,5/ 35	
9	Trichoderma	9 (1x 10 <sup>10</sup> UFC****)	WP
10	Trichoderma	5 (2x10 <sup>8</sup> UFC.ml <sup>-1</sup> )	SC

\* Dose calculada com base na recomendação de 50 kg de sementes de soja por hectare.

\*\*WP = *Trichoderma harzianum* em pó molhável.

\*\*\*SC = *Trichoderma harzianum* em suspensão concentrada.

\*\*\*\*UFC = Unidade formadora de colônia.

Fonte: O Autor, 2018.

### 3.1 COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS E *T. harzianum* *in vitro*

A avaliação da compatibilidade *in vitro*, seguiu a metodologia de ADAM; WONG (1991), onde a dose de bula recomenda de cada padrão químico (Tabela 1) foi misturada ao meio de cultura Batata Dextrose ágar (BDA) fundente (45°C). O cálculo da dose foi realizado pelo volume da semente, com dose de cada produto comercial em  $\text{ml.kg}^{-1}$ , considerando que 1 kg de sementes equivaleu a  $1460 \text{ cm}^3$ .

O meio modificado foi transferido para uma placa de Petri® de nove centímetros (cm) de diâmetro e, depois de solidificado no centro da placa, foi transferido com auxílio de uma lâmina de vidro, formando uma risca, as diferentes formulações de *T. harzianum*.

As placas foram incubadas em DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e após 72 horas, determinado com régua graduada o diâmetro de colônia dos ACB, sendo os resultados expressos em centímetros (cm). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por tratamento, sendo cada placa compondo uma repetição.

### 3.2 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

A avaliação da concentração mínima inibitória foi realizada a partir do método de microdiluição em caldo, conforme o protocolo padronizado pela NCCLS (2002), com adaptações. Prepararam-se as soluções dos produtos químicos utilizando dosagem de oito vezes as recomendadas pelo fabricante para o tratamento de sementes, conforme descrito na Tabela 1.

Em uma microplaca estéril de 96 poços, adicionou-se 200  $\mu\text{L}$  de caldo Batata - Dextrose (BD) em cada poço. Nos primeiros poços, adicionou-se 200  $\mu\text{L}$  dos produtos químicos, iniciando dessa forma com a concentração de quatro vezes a dosagem de bula, a partir deste, realizou-se a diluição seriada da amostra até o último poço (12 diluições). Adicionou-se então em cada poço, 10  $\mu\text{L}$  dos produtos das diferentes soluções de *T. harzianum*, conforme a recomendação de bula (Tabela 1).

As microplacas foram incubadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48h. Após a incubação, a viabilidade das colônias foi observada pelo método do espelho, com auxílio de um

estereomicroscópio (lupa), observando a turbidez do poço e a presença de hifas, o que indica desenvolvimento do ACB. O experimento foi realizado em triplicata (três linhas) e a concentração inibitória mínima (CIM) foi obtida, considerando-se o valor encontrado na diluição anterior a primeira coluna da placa em que houve viabilidade celular.

### 3.3 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO ACB NA SEMENTES *in vitro*

Foram utilizadas sementes de soja comercial da cultivar Nidera 5909 RG, devido sua alta representatividade de plantio no Brasil. As sementes foram previamente desinfetadas em solução, utilizando o produto comercial Qboa® com concentração de 3%, durante um minuto e deixado secar em papel filtro autoclavado (RAS, 2009), e então realizada caracterização inicial do lote, pelo *Blotter test*, teste de germinação e peneiras, conforme apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2** - Caracterização inicial do lote de sementes, cultivar Nideira 5909 RG. Incidência de patógenos (%), Germinação (%), Peso de mil sementes (PMS), Peneira e Classe. UTFPR Campus - Pato Branco, 2018.

% Incidência de patógenos						
<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	Bactérias
13,5 %	33,5 %	2 %	1 %	2 %	1 %	1 %
% Incidência de patógenos			Parâmetros			
			% Germinação	PMS (g)	Peneira (mm)	
			85	150,05	6,5	

Fonte: O Autor, 2018.

O tratamento das sementes de soja foi realizado em sacos de polipropileno até homogeneização das mesmas, utilizando dosagem recomendada por cada fabricante (Tabela 1) e com volume de calda final de sete (7) mL.Kg. semente<sup>-1</sup>.

Após 35 dias do tratamento químico das sementes, e simulando um processo de adição do produto biológico no momento da semeadura, as formulações dos ACB foram adicionadas conforme as dosagens recomendadas pelo fabricante (Tabela 1) e utilizando volume de calda final sete (7) mL.Kg. semente<sup>-1</sup>, sendo agitadas em sacos de polipropileno até homogeneização.

Depois deste processo, foi disposta uma semente por placa de Petri® contendo meio BDA, contemplando dessa forma o tempo zero, realizando com quatro repetições.

Avaliou-se o crescimento micelial dos ACB em função de diferentes tempos (0, 6, 12, 18 horas) depois de realizado o tratamento com os ACB, simulando uma condição onde os ACB foram inseridos na semente, porém não realizado a semeadura imediatamente.

As sementes ficaram armazenadas em temperatura ambiente a sombra e após dispostas nas placas, foram incubadas em DBO a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ . A avaliação final foi realizada após 108 horas do tratamento, com o auxílio de uma régua graduada, medindo o diâmetro da colônia, sendo os resultados obtidos em centímetros.

### 3.4 CONFRONTO DIRETO COM PATÓGENOS *in vitro*

Utilizou-se o confronto direto (dupla cultura) entre *T. harzianum* e os fungos fitopatogênicos *S. sclerotiorum* e *R. solani*, conforme a metodologia de Pakdaman et al., 2013, com modificações. Foram avaliadas diferentes estruturas dos ACB e dos patógenos, considerando os produtos formulados ou apenas o micélio, conforme a Tabela 3: Os isolados dos patógenos foram obtidos da coleção do laboratório de Fitopatologia da UTFPR campus Dois Vizinhos.

**Tabela 3** - Confrontos entre *T. harzianum* e os fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*. UTFPR Campus - Pato Branco, 2018.

<b>CONFRONTO</b>					
<u><i>T. harzianum</i></u>	<u>vs</u>	<u><i>S. sclerotiorum</i></u>	<u><i>T. harzianum</i></u>	<u>vs</u>	<u><i>R. solani</i></u>
<u>Estrutura</u>			<u>Estrutura</u>		
Micélio		Micélio	Micélio		Micélio
Esporo		Escleródio	Esporo		Micélio

Fonte: O Autor, 2018.

No confronto entre micélio vs micélio dois discos com seis milímetros (mm) de diâmetro de uma cultura pura com sete dias de idade, um disco dos agentes de controle (*T. harzianum*) e outro de um dos fitopatogênicos (*S. sclerotiorum* ou *R. solani*), foram colocados a dois centímetros da periferia das placas de Petri® contendo meio BDA, ficando distante cinco centímetros entre os discos, como controle foi mantido

um disco apenas com o fitopatígeno.

Para os confrontos de dupla cultura utilizando esporo, as diferentes formulações de *T. harzianum* foram transferidas com auxílio de uma lâmina de vidro, formando uma risca. Quando em teste dos esporos com o agente fitopatogênico *S. sclerotiorum* foi utilizada a estrutura de resistência (escleródio), simulando uma situação de campo. Já para *R. solani*, foi utilizado disco de micélio de cultura pura.

O experimento foi conduzido em esquema bifatorial com duas temperaturas de incubação,  $18\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e diferentes estruturas do ACB e dos patógenos em DBO e quatro repetições. As avaliações do crescimento foram realizadas com régua graduada 120 horas após a instalação do experimento, e o resultado obtido em centímetros, medindo o raio de desenvolvimento das hifas de cada microrganismo.

A porcentagem de inibição do crescimento dos fitopatógenos (I) foi calculada utilizando a fórmula (1) dada abaixo:

$$[I (\%) = (1 - T / C) \times 100] \quad (1)$$

Onde:

I = Porcentagem de inibição do crescimento pelos ACB.

T = Crescimento micelial no tratamento.

C = Crescimento micelial no controle.

### 3.5 CONFRONTO COM PATÓGENOS A CAMPO

O experimento foi realizado em canteiros com dimensões de 1,1 m largura por 18 m de comprimento, no campo em Latossolo Vermelho Distroférico (EMBRAPA, 2013) na UTFPR, campus Dois Vizinhos.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema bifatorial com quatro repetições. Foram testadas duas diferentes formas de aplicação dos ACB (no tratamento de sementes e sulco de semeadura), contra dois diferentes agentes fitopatogênicos (*R. solani* e *S. sclerotiorum*) e a testemunha, sem fitopatógenos. Cada unidade experimental foi composta por 15 plantas, espaçadas 3 cm entre si e 15 cm entre linhas.

### 3.5.1 Produção do inóculo dos fitopatógenos

Realizou-se conforme a metodologia proposta por Michereff Filho et al. (1996), com modificações. Placas com sete dias de idade, crescidas em meio DBA, foram utilizadas como fonte de inóculo. Dez discos de 6 mm foram transferidos, em câmara de fluxo para sacos plásticos de polipropileno, contendo 300 g de arroz previamente cozido e autoclavado a 120°C, durante 20 minutos e pressão de 1 atm, por duas vezes, num intervalo de 24 horas.

Os sacos foram incubados em DBO a 25±2°C por sete dias. Após os grãos colonizados, o inóculo foi triturado em multiprocessador e armazenado em saco plástico a 4°C. Antes do ensaio, o inóculo de cada fitopatógenos foi semeado em placa BDA para atestar sua viabilidade, através do crescimento micelial.

### 3.5.2 Infestação do solo com inóculo

Nos canteiros, foram abertos sulcos de semeadura com profundidade de 6 cm, depositado o inoculo de cada patógeno e logo depois coberto novamente com solo, que apresentava umidade de capacidade de campo. Esse processo foi realizado 48 horas antes da semeadura, utilizando 12 g de inóculo por metro linear, conforme Figura 1.



**Figura 1** - Sulco de semeadura com seis centímetros de profundidade (A). Infestação do solo com os fitopatógenos (B). (Fonte: O autor, 2018)

### 3.5.3 Processo de semeadura da soja

A semeadura foi realizada de forma manual, após abertura de um sulco com profundidade de três centímetros. Dessa forma, a semente permaneceu três centímetros distante do fitopatógenos, favorecendo o contato com as raízes após o processo de germinação, bem como a atuação dos ACB e os produtos químicos.

As sementes foram tratadas com os produtos químicos (Tabela 1) conforme já descrito no item 3.3. No tratamento contendo os diferentes formulados dos ACB nas sementes, logo após o tratamento em sacos de polipropileno, foram depositadas no sulco de semeadura e cobertas com solo.

Para o tratamento com adição dos ACB no sulco, foi realizado a disposição das sementes, apenas com os tratamentos químicos e logo em seguida, realizado a aplicação dos ACB, conforme recomendação (Tabela 1) e utilizando pulverizador de CO<sub>2</sub>, com bico Jacto ADI 110 02 e volume de calda de 120 L.ha<sup>-1</sup>. Os canteiros foram cobertos com palhada e a irrigação realizada sempre que necessário.

As plantas foram avaliadas aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura (DAS), contabilizando o número de plantas emergidas, considerando como padrão os cotilédones acima do solo. Os resultados foram expressos em porcentagem.

## 3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados dos experimentos foram submetidos ao teste de homogeneidade da variância de Bartlett, teste de normalidade de Lilliefors, e, quando não atenderam esses pressupostos, foram transformados utilizando a equação  $\sqrt{x + 1}$ . Posteriormente, foram submetidos a análise de variância (Anova) e quando significativo, agrupados pelo teste de médias de Scott-Knott, utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2003).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 COMPATIBILIDADE *in vitro*

Todos os tratamentos químicos utilizados reduziram de forma significativa o desenvolvimento dos ACB, demonstrando diferenças estatísticas, conforme pode ser observado na Tabela 4. Os tratamentos identificados como 2, 3, 6 e 7, tiveram efeito fungicida, não permitindo nenhum desenvolvimento do ACB. Os tratamentos 1 e 5 apresentaram efeito fungistático sobre os ACB, reduzindo 86,87% e 87,59%, respectivamente, o seu crescimento, não diferindo entre si, apenas da testemunha. O T8 reduziu 61,26 %, enquanto o T4 38,88% do crescimento micelial, apresentando maior grau de compatibilidade e diferindo dos demais.

**Tabela 4** - Crescimento micelial em centímetros (cm) das duas formulações de *Trichoderma* em meio de cultura modificado com os produtos químicos na dose de bula, após 72 horas em DBO a 25±2°C. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Padrão utilizado**	Formulação do Agente de controle	Crescimento micelial (cm)	% inibição
1	Trichoderma WP	1,11 d*	87,59
2		0,00 e	100
3		0,00 e	100
4		5,47 b	38,88
5	Trichoderma SC	1,15 d	86,97
6		0,00 e	100
7		0,00 e	100
8		3,42 c	61,26
9	Trichoderma WP	8,95 a	-
10	Trichoderma SC	8,83 a	-
<b>Média Geral</b>		<b>2,89</b>	<b>67,47</b>
<b>CV (%)</b>		<b>10,33</b>	

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott (P<0,05). \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL. **(Fonte: Autor, 2018).**

Werle (2017), obteve resultados semelhantes quando utilizou Piraclostrobina/Tiofanato metílico/Fipronil e Metalaxil-M, esses produtos reduziram

mais de 70% o crescimento do produto a base de *T. harzianum*. Já Batista et al., (2002), observou que os fungicidas a base de Tiofanato Metílico, Prochloraz e Carbendazim inibiram completamente o crescimento micelial de *T. harzianum*.

May e Kimati (1999), utilizando os fungicidas a base de Metalaxil, Carboxin, Tiram e Chlorothalonil não interferiram no desenvolvimento do *Trichoderma*.

Resultado semelhante foi encontrado por Lima (2010), onde duas linhagens de *Trichoderma harzianum* não foram afetadas quando submetidas á metade, a dose e ao dobro da dose recomendado para os fungicidas metalaxil-M + mancozebe, propinebe + iprovalicarbe, fenamidona, cloridrato de propamocarbe + fluopicolide, azoxistrobina, óxido cuproso, e iprodiona.

Esses resultados reforçam a hipótese de compatibilidade do *Trichoderma* com alguns fungicidas, porém isso é dependente de cada ingrediente ativo, dos inertes presente, da formulação do produto, da dose e do isolado que está sendo utilizado.

#### 4.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

A CIM teve resultado semelhante ao observado com a metodologia anterior (3.1), porém, com valores precisos de doses que afetam o desenvolvimento dos ACB. Para os T1 e T4 a aplicação de 2 x a dose de bula, causa efeito fungicida, conforme observado na Tabela 5, ou seja, o limite de dosagem a ser utilizado para esses produtos é o recomendado pelo fabricante (Tabela 5).

Para o tratamento 2 e 3, quando se utiliza a dosagem de bula, causa efeito fúngicida em ambas as formulações, o que já era esperado, devido ao resultado apresentado no experimento anterior.

De acordo com esse resultado, não é viável a aplicação do ACB com o T2 e T3 no tratamento de sementes, pois causa inibição do desenvolvimento do ACB. Uma alternativa, seria reduzir a dosagem dos produtos químicos para facilitar o desenvolvimento do ACB, porém, isso pode reduzir eficiência dos produtos e trazer outros problemas, como seleção de espécies resistentes devido a sub dosagens.

**Tabela 5** - Concentração inibitória mínima dos diferentes produtos químicos e princípios ativos sobre os ACB em relação a dose de bula, avaliados após 48 horas de incubação a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Padrão utilizado	Formulação do Agente de controle	
	<i>Trichoderma</i> WP	<i>Trichoderma</i> SC
1 - Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil	2 x*	2 x
2 - Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe	1 x	½ x
3 - Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido	1 x	¼ x
4 - Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam	2 x	2 x

Princípios ativos	Dose inibitória equivalente (g.i.a.ha <sup>-1</sup> )	
1 - Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil	5/45/50	5/45/50
2 - Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe	15/ 35/ 15/ 45	7,5/17,5/7,5/22,5
3 - Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido	35/5,25/23,6/28,8	8,75/1,3/5,9/7,2
4 - Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam	1/25/70	1/25/70

\*Concentração de inibição mínima dos ACB em relação a dosagem de bula dos produtos. (Fonte: Autor, 2018)

Pode-se observar que a formulação dos ACB se comportou de maneira diferente, principalmente no T2 e T3, onde as formulações SC sofreu maior influência.

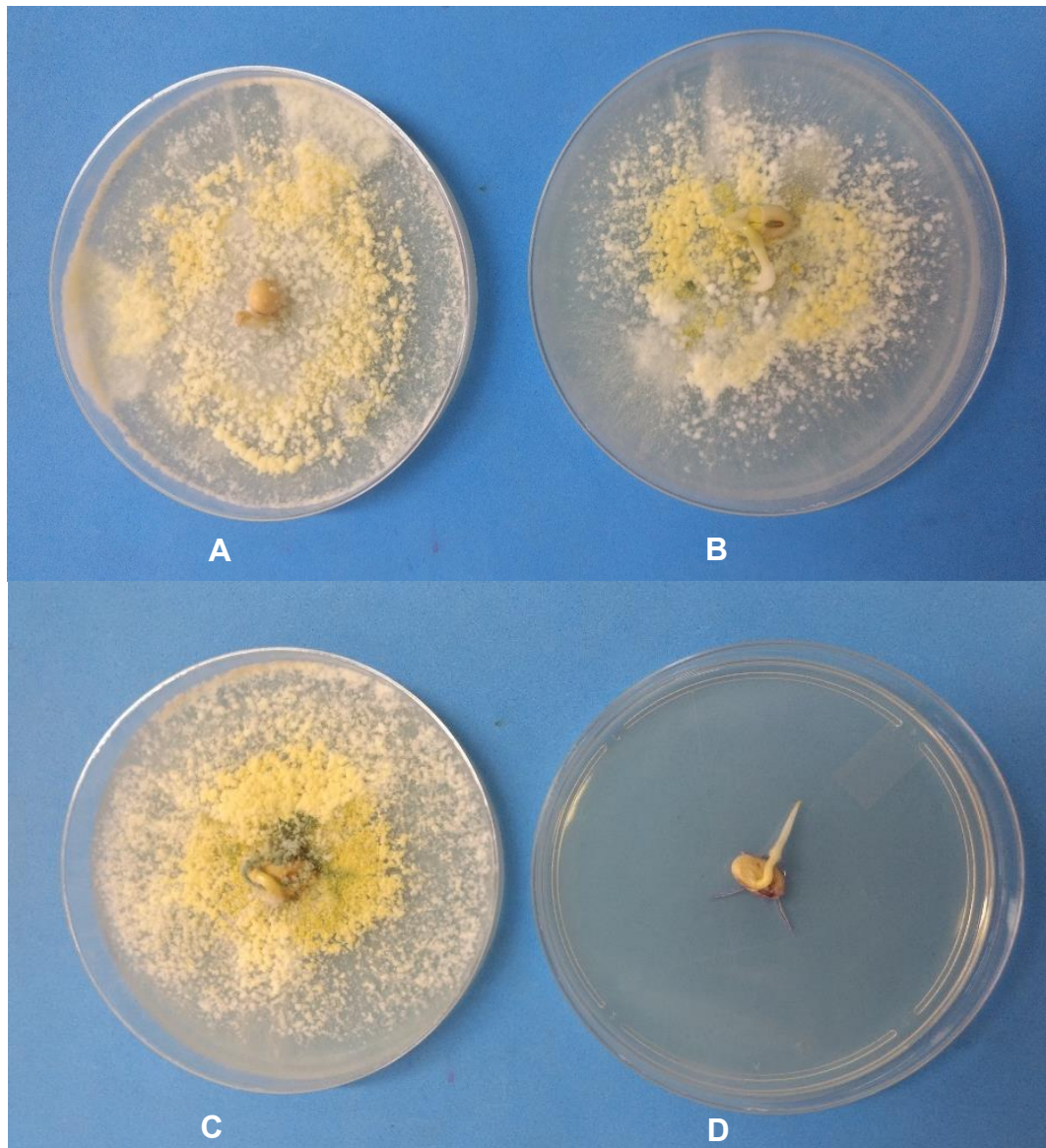
Este fato pode estar associado a maior hidratação dos esporos na solução, e embora estejam estáveis, sua parede celular está mais fragilizada, o que permite a maior entrada de ingrediente ativo, diferente do encontrado na formulação WP, onde o esporo está intacto e à necessidade de um volume de calda maior para que ocorra hidratação e conseqüentemente entrada de ingredientes ativos.

O tratamento 1 tem em sua composição o princípio ativo Tiofanato metílico, e foi compatível em ambas as formulações, diferente do tratamento 3 que inibiu o desenvolvimento total do ACB. Isso pode estar associado a concentração do ingrediente em cada produto, que foi constatado no experimento, onde dose de Tiofanato metílico acima de  $22,5 \text{ g.i.a.ha}^{-1}$ , causou inibição de *Trichoderma*.

Para o tratamento 4 contendo Metalaxil-M/Fludioxonil trabalhos já evidenciam a compatibilidade de *Trichoderma* com esses fungicidas (MAY, KIMATI, 1999; LIMA, 2010), o que também foi observado nesse trabalho, e mesmo associado com o inseticida tiametoxam não interferiu no desenvolvimento do *Trichoderma* (DIAS NETO, 2014), se tornando uma opção para utilização junto com ACB.

### 4.3 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO ACB NA SEMENTES *in vitro*

Os resultados mostraram que os tratamentos químicos interferiram significativamente no crescimento do *Trichoderma* e variou em função da formulação do ACB, do ingrediente ativo de cada produto e do tempo de exposição (Figura 2).



**Figura 2** - Crescimento micelial de *Trichoderma* na semente, *T. harzianum* formulação WP sem a presença do tratamento químico (testemunha) (A). *T. harzianum* em formulação WP + (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) (B). *T. harzianum* formulação SC sem a presença do tratamento químico (testemunha) (C). *T. harzianum* em formulação SC + (Tiram/ Carbendazim/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) (D). (Fonte: O autor, 2018).

A medida que o tempo de armazenagem aumentou, houve redução de crescimento do ACB quando comparado com a testemunha, fato que era esperado,

visto ao maior tempo de contato entre o produto biológico e o tratamento químico (Tabela 6).

**Tabela 6** - Crescimento em centímetros (cm) dos ACB em diferentes tempos (0, 6, 12 e 18 horas) após o tratamento com os produtos químicos, avaliados 108 horas após o tratamento. Redução percentual em relação ao controle (% R). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Tratamento**	0 h	% R	6 h	% R	12 h	% R	18 h	% R
1	7,05 a*	11,87	7,65 a	4,37	7,75 a	3,12	7,35 a	8,12
2	3,00 c	62,5	4,70 c	41,25	4,85 b	39,37	3,85 c	51,87
3	7,10 a	11,25	7,30 a	8,75	7,85 a	1,87	7,55 a	5,62
4	7,45 a	6,87	6,95 a	13,12	6,65 a	16,87	6,25 b	21,87
5	5,55 b	30,62	6,10 b	23,75	4,65 b	41,87	5,05 b	36,87
6	0,00 d	100	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100
7	4,5 b	40,62	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100
8	5,70 b	28,75	3,45 d	56,87	2,35 c	70,62	2,65 c	66,87
9	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-
10	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-
<b>CV (%)</b>	<b>14,89</b>		<b>14,19</b>		<b>15,97</b>		<b>18,40</b>	

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL, 11. (Fonte: Autor, 2018).

É possível observar que, os produtos a base dos ingredientes ativos Tiram/ Carbendazin + Imidacloprido/ Tiodicarbe e Tiofanato Metílico/ Fluazinam + Bifentrina/Imidacloprido, não possibilitaram o crescimento do *Trichoderma* nos experimentos anteriores (Tabela 4 e 5), permitiram o seu desenvolvimento, porém apenas na formulação WP (T2 e T3) e na formulação SC no tempo 0 h (T 7).

No tempo 0 h, os tratamentos 1, 3 e 4 apresentaram o melhor desempenho, não diferindo da testemunha, assim como nos tempos 6 e 12h após o tratamento, com redução de crescimento abaixo de 20%. Após 18 h do tratamento, os melhores tratamentos foram o 1 e 3, que não diferiram da testemunha.

Esse resultado torna-se importante, pois essa metodologia é mais próxima do que ocorre no campo, diferente dos resultados encontrados nas metodologias anteriores, pois há interação dos produtos químicos com a sementes e com *Trichoderma*, formando um novo ambiente, embora em condições controladas.

Isso pode ser observado nos resultados, onde o tratamento 3 que nos experimentos anteriores inibiam o desenvolvimento do *Trichoderma* na dose de bula

(Tabela 4 e 5), neste, reduziu menos de 15% ao longo do tempo. Porém, isso ocorreu apenas para a formulação WP, reforçando a hipótese discutida anteriormente sobre estabilidade da parede celular do *Trichoderma*.

Uma das estratégias para reduzir o efeito negativo dos tratamentos contendo os ingredientes ativos Tiram/ Carbendazin + Imidacloprido/ Tiodicarbe e Tiofanato Metílico/ Fluazinam + Bifentrina/Imidacloprido, quando utilizados com a formulação SC, seria a aplicação deste no sulco de plantio.

#### 4.4 CONFRONTO DIRETO COM PATÓGENOS *in vitro*.

Houve interação significativa entre os fatores avaliados, quando comparados com a testemunha (temperatura x diferentes estruturas dos ACB e patógenos). Para os experimentos com *S. sclerotiorum* o aumento da temperatura favoreceu o desenvolvimento dos ACB, indiferente da formulação utilizada (Tabela 7 e 8).

No confronto entre micélio *Trichoderma* e micélio de *S. sclerotium* (Tabela 7), ambas se comportaram de maneira semelhante na redução de crescimento do patógeno, e tiveram interferência apenas da temperatura, sendo que a temperatura de 25°C, ocasionou maior redução de crescimento do patógeno.

**Tabela 7** - Crescimento micelial em centímetros de *Sclerotinia sclerotiorum* em confronto direto com micélio de *Trichoderma harzianum* em diferentes formulações (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Temperatura	Agente de controle				Testemunha
	Micélio Formulação WP		Micélio Formulação SC		
	Crescimento	%**	Crescimento	%**	
25°	2,17 bB*	68,47	2,00 bB	71,01	6,90 aA
18°	3,15 aB	54,47	3,22 aB	53,39	6,92 aA
<b>CV(%)</b>					<b>7,30</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott (P<0,05).

\*\* Redução de crescimento em relação a testemunha.

Fonte: Autor, 2018.

Considerando a estrutura o escleródio em confronto com o produto (confronto esporo x escleródio) nas diferentes formulações, a redução de crescimento da formulação WP foi superior a encontrada na formulação SC (Tabela 8), diferindo entre

si e da testemunha, em ambas as temperaturas.

**Tabela 8** - Crescimento micelial em centímetros do escleródio de *Sclerotinia sclerotiorum* em confronto direto com as diferentes formulações de *Trichoderma harzianum* (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Temperatura	Agente de controle				Testemunha
	Produto Formulação WP		Produto Formulação SC		
	Crescimento	%**	Crescimento	%**	
25°	0,925 bC*	86,33	1,70 aB	74,88	6,77 aA
18°	1,90 aC	63,46	2,50 aB	51,92	5,20 aA
<b>CV(%)</b>					<b>14,34</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott ( $P < 0,05$ ).

\*\* Redução de crescimento em relação a testemunha.

Fonte: Autor, 2018.

O desenvolvimento do patógeno a partir do escleródio foi muito mais lento, indiferente da temperatura no experimento, isso beneficiou o ACB pois aumentou sua ocupação por espaço e competição por nutrientes, sendo esse um dos mecanismos mais importantes de controle do *Trichoderma* (BENÍTEZ, 2004; HARMAN, 2000). Uma das hipóteses era que a menor temperatura seria favorável para o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*, porém mesmo nessa temperatura o ACB teve melhor desenvolvimento que o patógeno.

Os resultados dos experimentos com *R. solani*, não tiveram interação significativa, pois o crescimento do patógeno não foi afetado pela temperatura ou pela formulação do ACB (Tabela 9 e 10).

**Tabela 9** - Crescimento micelial em centímetros de *Rhizoctonia solani* em confronto direto micélio de *Trichoderma harzianum* em diferentes formulações (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Temperatura	Agente de controle				Testemunha
	Micélio Formulação WP		Micélio de Formulação SC		
	Crescimento	%**	Crescimento	%**	
25°	2,55 aB*	61,36	2,20 aB	66,66	6,60 aA
18°	2,90 aB	48,21	2,70 aB	51,78	5,60 aA
<b>CV(%)</b>					<b>10,29</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott (P<0,05).

\*\* Redução de crescimento em relação a testemunha.

Fonte: Autor, 2018.

No confronto considerando o produto (esporo x micélio) a redução de crescimento do patógeno embora não diferiu estatisticamente, foi menor, em ambas as temperaturas (Tabela 10), isso pode estar associado ao maior tempo para o estabelecimento do *Trichoderma* no meio, enquanto o patógeno já estava com o micélio ativo.

**Tabela 10** - Crescimento micelial em centímetros de *Rhizoctonia solani* em confronto direto com as diferentes formulações de *Trichoderma harzianum* (WP e SC), avaliados após 120 horas em diferentes temperaturas (25° C e 18° C). UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Temperatura	Agente de controle				Testemunha
	Produto Formulação WP		Produto Formulação SC		
	Crescimento	%**	Crescimento	%**	
25°	2,90 aB*	56,06	2,67 aB	55,30	6,90 aA
18°	2,67 aB	52,23	2,85 aB	49,10	5,60 aA
<b>CV(%)</b>					<b>5,18</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott (P<0,05).

\*\* Redução de crescimento em relação a testemunha.

Fonte: Autor, 2018.

De acordo com Peres e Melo (1995), a uma variação na taxa de crescimento máxima entre isolados de *Trichoderma*, entre 24 a 48 horas, influenciadas pela temperatura e luminosidade. Neste experimento, cabe ainda destacar o fator formulação dos produtos que pode ter afetado o estabelecimento do ACB, e, por isso o patógeno *R. solani* se mostrou mais competitivo, indiferente da temperatura.



#### 4.5 DESENVOLVIMENTO DE PLANTULAS E CONTROLE DE DOENÇAS

Não houve interação significativa entre os fatores avaliados no experimento (formas de aplicação x patógenos). Na ausência de infestação do solo com os fitopatógenos não houve diferença significativa entre os tratamentos e a forma de aplicação, durante o período avaliado (Tabela 11 e 12).

**Tabela 11** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo sem infestação de fitopatógenos, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

<b>Tratamento**</b>	<b>7 dias</b>	<b>10 dias</b>	<b>14 dias</b>	<b>21 dias</b>
1	80,00 <sup>ns</sup>	86,67 <sup>ns</sup>	88,33 <sup>ns</sup>	88,33 <sup>ns</sup>
2	71,67	71,67	83,33	83,33
3	58,33	58,33	73,33	73,33
4	78,33	85,00	90,00	90,00
5	75,00	85,00	83,33	83,33
6	76,67	86,67	86,67	86,67
7	53,33	71,67	81,67	81,67
8	73,33	76,67	73,33	73,33
9	73,33	76,67	76,67	76,67
10	68,33	83,33	80,00	80,00
11	78,33	81,67	83,33	83,33
<b>Média Geral</b>	<b>71,51</b>	<b>84,1</b>	<b>82,27</b>	<b>82,27</b>
<b>CV (%)</b>	<b>8,45</b>	<b>6,28</b>	<b>6,35</b>	<b>6,35</b>

\*<sup>ns</sup> Não significativo (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL ;11 - Testemunha. (**Fonte: Autor, 2018**).

Esses resultados indicam que a presença do *Trichoderma* não afetou o desenvolvimento inicial das plantas. Esta não influência, pode estar associado ao curto período de interação ou o baixo desenvolvimento do ACB no solo.

**Tabela 12** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo sem infestação de fitopatógenos, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Tratamento**	7 dias	10 dias	14 dias	21 dias
1	90,00 <sup>ns</sup>	95,00 <sup>ns</sup>	95,00 <sup>ns</sup>	95,00 <sup>ns</sup>
2	80,00	85,33	85,00	85,33
3	75,00	90,00	95,00	95,00
4	80,00	90,00	90,00	90,66
5	80,00	85,66	80,00	80,00
6	90,33	85,00	85,00	85,00
7	55,00	85,00	90,00	90,00
8	60,33	75,00	85,00	85,00
9	60,00	85,00	90,00	90,00
10	85,00	95,00	95,00	95,00
11	65,00	65,00	80,00	80,00
<b>Média Geral</b>	<b>74,60</b>	<b>85,09</b>	<b>88,18</b>	<b>88,24</b>
<b>CV (%)</b>	<b>13,30</b>	<b>9,70</b>	<b>9,25</b>	<b>9,25</b>

\*<sup>ns</sup> Não significativo (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL; 11 - Testemunha. (Fonte: Autor, 2018).

Segundo Baugh e Scobar (2007), a ação do *Trichoderma* como estimulador de crescimento é muito complexa e realizada por interações bioquímicas que geram enzimas e compostos benéficos para as plantas, como, fitohormônios ou maior eficiência no uso de nutrientes e maior disponibilidade e absorção pelas plantas (LUCON, 2009). Além disso, para um bom funcionamento do controle biológico, condições ambientais de sombreamento do solo; umidade adequada e temperatura amenas, favorecem o desenvolvimento do ACB (MEYER et al., 2016) e conseqüentemente sua ação sobre as plantas e controle de doenças.

Chagas et al. (2017), obteve aumento de 8,5 e 9,1% de produtividade de soja em duas safras, respectivamente, nos tratamentos contendo inoculação com *T. asperellum*, evidenciando seu potencial ao longo do ciclo da cultura, e os benefícios que o aumento da população do ACB no solo pode proporcionar, sendo uma opção para integrar no sistema produtivo.

Quando em solo infestado por *S. sclerotiorum* e o ACB aplicado na semente, os tratamentos 1, 5, 6, 9 e 11 foram superiores aos demais aos 7 dias após a semeadura, nos demais períodos avaliados, não foi observado diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 13).

**Tabela 13** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *S. sclerotiorum*, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Tratamento**	7 dias	10 dias	14 dias	21 dias
1	81,66 a	83,33 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>
2	73,33 b	83,33	86,67	86,66
3	63,33 b	76,66	75,00	75,00
4	75,00 b	78,33	80,00	80,00
5	80,00 a	83,33	88,33	88,33
6	86,66 a	90,00	91,66	91,66
7	68,33 b	75,00	75,00	75,00
8	71,66 b	73,33	75,00	75,00
9	88,33 a	86,66	83,33	83,33
10	76,66 b	78,33	83,33	83,33
11	83,33 a	83,33	85,00	85,00
<b>Média Geral</b>	<b>80,08</b>	<b>81,05</b>	<b>82,57</b>	<b>82,57</b>
<b>CV (%)</b>	<b>6,70</b>	<b>12,71</b>	<b>6,54</b>	<b>6,54</b>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott (P<0,05). \*\*<sup>ns</sup> Não significativo (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL; 11 - Testemunha. (Fonte: Autor, 2018).

O uso dos ACB feito no sulco de semeadura, não interferiu no desenvolvimento das plântulas de soja, quando em solo infestado com *S. sclerotiorum* nos períodos avaliados (Tabela 14).

**Tabela 14** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *S. sclerotiorum*, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018

Tratamento**	7 dias	10 dias	14 dias	21 dias
1	80,00 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>
2	80,00	85,00	83,33	83,33
3	73,33	83,33	88,33	88,33
4	81,66	81,66	86,66	86,66
5	80,00	81,73	88,33	88,33
6	78,33	90,00	90,00	90,00
7	68,33	81,66	81,66	81,66
8	86,66	81,66	83,33	83,33
9	76,66	83,33	85,00	85,00
10	73,33	76,66	81,66	81,66
11	76,66	76,66	75,00	75,00
<b>Média Geral</b>	<b>77,72</b>	<b>82,37</b>	<b>84,39</b>	<b>84,39</b>
<b>CV (%)</b>	<b>6,32</b>	<b>5,17</b>	<b>5,70</b>	<b>5,70</b>

\*<sup>ns</sup> Não significativo (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL; 11 - Testemunha. (Fonte: Autor, 2018).

O patógeno *S. sclerotiorum*, mostrou-se pouco agressivo para o desenvolvimento inicial das plantas, pois em ambos os testes, a testemunha obteve valores semelhantes aos demais, e não foram observados sintomas da doença (Tabelas 13 e 14).

Este resultado pode estar associado ao baixo potencial endêmico de infecção do fungo por meio do micélio (HUANG; CHANG, 2003; PHILLIPS, 1987), e ainda, embora seja capaz de infectar qualquer parte da planta, as infecções ocorrem com maior frequência nos ramos laterais, axilas das folhas e inflorescências (ALMEIDA et al., 2005).

Mesmo assim, a infestação do solo com agentes antagonistas, como o *Trichoderma*, torna-se muito importante para manejo *S. sclerotiorum* e juntamente com outras práticas como: formação de palhada de gramíneas (preferencialmente); utilização de sementes de qualidade e tratadas com fungicidas; controle químico por aplicações foliares (entre R1 e R4); escolha adequada de cultivares, com período curto de floração e arquitetura adequada; limpeza de máquinas e implementos (evitar disseminação), quando empregadas em conjunto, vão determinar o sucesso do controle da doença (MEYER et al., 2016).

Para o experimento com infestação do solo com o patógeno *R. solani*, houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados, e foi possível observar em ambos os modos de aplicação do ACB, a formação de dois grupos, onde os tratamentos associados com os produtos químicos obtiveram melhores resultados, indiferente do período avaliado (Tabelas 15 e 16).

**Tabela 15** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *Rhizoctonia solani*, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no tratamento de sementes. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

<b>Tratamento**</b>	<b>7 dias</b>	<b>10 dias</b>	<b>14 dias</b>	<b>21 dias</b>
1	68,33* a	73,33* a	73,33* a	73,33* a
2	53,33 a	70,00 a	68,33 a	65,00 a
3	51,67 a	66,67 a	70,00 a	70,00 a
4	60,00 a	61,67 a	66,67 a	63,33 a
5	76,67 a	81,67 a	81,67 a	81,33 a
6	61,67 a	70,00 a	68,33 a	68,33 a
7	51,67 a	78,33 a	58,33 a	63,33 a
8	65,00 a	70,00 a	68,33 a	65,33 a
9	43,33 b	43,33 b	43,33 b	41,66 b
10	21,67 b	23,33 b	23,33 b	25,00 b
11	23,33 b	23,33 b	20,00 b	20,00 b
<b>Média Geral</b>	<b>52,42</b>	<b>60,15</b>	<b>58,33</b>	<b>57,87</b>
<b>CV (%)</b>	<b>21,05</b>	<b>17,70</b>	<b>21,47</b>	<b>21,89</b>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott (P<0,05) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL; 11 - Testemunha. (Fonte: Autor, 2018).

O patógeno se demonstrou muito agressivo às plantas, com sintomas característicos da doença e alta redução de estande de plantas, sendo que apenas a adoção do manejo com o *Trichoderma*, não foi eficiente no controle, pois os resultados foram iguais ao da testemunha (T11).

**Tabela 16** - Percentual (%) de plântulas de soja emergidas em solo infestado com *Rhizoctonia solani*, avaliados aos 7, 10, 14 e 21 dias após a semeadura, aplicando o ACB no sulco de semeadura. UTFPR, campus Pato Branco, 2018.

Tratamento**	7 dias	10 dias	14 dias	21 dias
1	63,33* a	73,33 a	75,00 a	78,33 a
2	68,33 a	71,66 a	75,00 a	71,66 a
3	43,33 a	61,66 a	61,66 a	60,00 a
4	61,66 a	65,00 a	65,00 a	63,33 a
5	61,66 a	63,33 a	68,33 a	68,33 a
6	55,00 a	71,66 a	71,66 a	70,00 a
7	40,00 b	51,66 a	53,33 a	51,66 a
8	48,33 a	53,33 a	53,33 a	51,66 a
9	35,00 b	33,33 b	33,33 b	33,33 b
10	25,00 b	26,66 b	28,33 b	25,00 b
11	28,33 b	26,66 b	26,66 b	26,66 b
<b>Média Geral</b>	<b>50,87</b>	<b>54,38</b>	<b>55,60</b>	<b>54,54</b>
<b>CV (%)</b>	<b>18,54</b>	<b>18,54</b>	<b>18,33</b>	<b>18,23</b>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste Scott -Knott ( $P < 0,05$ ) \*\*1 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + WP; 2 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + WP; 3 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + WP; 4 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam) + WP; 5 - (Piraclostrobina /Tiofanato Metílico /Fipronil) + SL; 6 - (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe) + SL; 7 - (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprido) + SL; 8 - (Metalaxil-M/Fludioxonil/ Tiametoxam); 9 – WP e 10 – SL; 11 - Testemunha. (Fonte: Autor, 2018).

A agressividade do patógeno pode ser observado na Figura 3, causando *damping off* tanto em pré como pós emergência na soja.



**Figura 3** - Sintomas de *R. solani* causando *damping off* em pré emergência (A) e pós emergência na soja (B). (Fonte: O autor, 2018).

Nos tratamentos sem a utilização de produtos químicos, foi observado redução de estande de plantas maior que 58,44%, chegando em até 80% na testemunha (Tabela 16), o que reflete diretamente na produtividade da lavoura. Segundo Tachiabana et al. (1971), o patógeno em condições favoráveis e pequenas parcelas, tem capacidade de reduzir até 48 % da produtividade.

Lobo Junior (2005), observou que a aplicação no sulco de plantio de *T. harzianum* '1306' na dosagem de 0,8 a 1,0 L. ha<sup>-1</sup> juntamente com o tratamento químico padrão, houve redução populacional de 83,5 % e 55% respectivamente da população de *R. solani* no cultivo de feijão, até os 30 dias após o plantio.

Ainda neste experimento, foi constatado o aumento da população do ACB 30 dias após a aplicação, sendo isso uma provável explicação para o controle biológicos de habitantes do solo (LOBO JUNIOR, 2005). Este período de maior atividade dos ACB, torna-se importante, uma vez que os produtos sintéticos têm residual estimado de 10 a 15 dias, dessa forma, os ACB garantem uma proteção por um período maior onde os produtos químicos já deixaram de atuar no controle das doenças.

O maior efeito observado quando associado com os produtos químicos está relacionado aos princípios ativos dos fungicidas, ter algum efeito sobre o patógeno *R. solani*, conforme a atividade específica e cada princípio ativo (FRANÇA NETO et al., 2016).

A utilização do *Trichoderma* foi positiva quando associado com os produtos químicos e sua adoção no sistema de cultivo da soja torna-se importante para o manejo de doenças de difícil controle, como as causadas por *S. sclerotiorum* e *R. solani*.

## 5 CONCLUSÕES

Os tratamentos 1 (Piraclostrobina/ Tiofanato Metílico/ Fipronil) e 3 (Tiofanato Metílico/ Fluazinam/ Bifentrina/Imidacloprid) tem compatibilidade com o *Trichoderma* na formulação WP mesmo após 18 horas do tratamento das sementes, sendo uma opção para o uso combinado no campo.

A formulação SC de *Trichoderma* se demonstrou mais sensível e não tem compatibilidade quando utilizada no tratamento de sementes com os ingredientes ativos Tiram/Carbendazin + Imidacloprido/ Tiodicarbe e Tiofanato Metílico/ Fluazinam + Bifentrina/Imidacloprido.

O ACB foi capaz de competir por espaço e nutrientes, reduzindo o crescimento dos patógenos *R. solani* e *S. sclerotiorum in vitro*.

O *Trichoderma* demonstra potencial de utilização no tratamento de sementes e no sulco de plantio associado com os produtos químicos, e sua compatibilidade varia com a formulação do produto e os ingredientes ativos de cada produto químico.



## REFERÊNCIAS

ADAMS, P. B.; WONG, JA-L. The effect of chemical pesticides on the infection of sclerotia of *Sclerotinia minor* by the biocontrol agent *Sporidesmium sclerotivorum*. **Phytopathology**, v. 81, n. 10, p. 1340-1343, 1991.

ADAV, S. S.; SZE, S. K. Trichoderma secretome: An overview. Biotechnology and Biology of *Trichoderma*. VK Gupta, M. Schmoll, A. Herrera-Estrella, RS Upadhyay, I. Druzhinina, and MG Tuohy, eds. **Elsevier BV**, Oxford, p. 103-114, 2014.

ALMEIDA, A. M. R, et al. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. Manual de fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2. cap. 64. P. 569-588.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. Biological control of plant pathogens. San Francisco: W. H. Freeman, 433p, 1974.

BATISTA, D. C. et al. Efeitos de fungicidas inibindo o crescimento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. passiflorae e interferência com *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n. 4, p. 305-310, 2002.

BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**, v. 1, n. 4, 2007.

BEGUM, M. M. et al. Field performance of bio-primed seeds to suppress *Colletotrichum truncatum* causing damping-off and seedling stand of soybean. **Biological control**, v. 53, n. 1, p. 18-23, 2010.

BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BETTIOL, W. et al. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente (Documento) 113p, 2012.

BOLTON, Melvin D.; THOMMA, Bart PHJ; NELSON, Berlin D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular plant pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.

BRASIL, Regras para análises de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS,2009, 399p.

CASTRO, CARLA VANESSA BORGES. Caracterização morfológica e molecular de isolados de *Rhizoctonia solani* Kuhn. 2007.

CARDOSO, J. E. Podridões radiculares, p.151- 64. In: SARTORATO, A.; RAVA, A. (Eds.). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: Embrapa-SPI. 1994, 300p.

CHAGAS, Lillian França Borges et al. Trichoderma asperellum efficiency in soybean yield components. **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 1, p. 165-169, 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira, Grãos. V. 5 - SAFRA 2017/18- N. 12 – Décimo segundo levantamento | SETEMBRO 2018. Disponível em: file:///C:/Users/User/Downloads/BoletimZGraosZsetembroZ2018.pdf> Acesso em: 25 de Nov. 2018.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p. 2006.

DIAS NETO, J. A. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematoides na cultura da soja**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, 2014.

DROBY, Samir et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm?. *Postharvest biology and technology*, v. 52, n. 2, p. 137-145, 2009.

DUBEY, S. C.; PATEL, B. Determination of tolerance in *Thanatephorus cucumeris*, *Trichoderma viride*, *Gliocladium virens* and *Rhizobium* sp. to fungicides. **Indian Phytopathology**, 2001.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Ecofisiologia da Soja*. Londrina: Embrapa Soja, 9 p., 2007. (EMBRAPA SOJA Circular Técnica ,48).

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

ESPÍNDOLA, Daniel L. P. **Tratamento de sementes com fosfito de manganês e enxofre: efeitos na soja e no desenvolvimento de fitopatógenos**. 2015. 50 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Grande Dourados, Dourados, 2015.

FRANÇA-NETO, J. B. et al. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. Londrina: EMBRAPA - SOJA , 2016. 83p. (Circular Técnica 380).

GLARE, Travis et al. Have biopesticides come of age?. Trends in biotechnology, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.

GOULART, Augusto César Pereira. Tratamento de sementes de soja com fungicidas: recomendações técnicas. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1998. 32p. (EMBRAPA-CPAO. Circular Técnica, 8).

GOULART, Augusto César Pereira. Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle. Embrapa Agropecuária Oeste-Livro técnico (INFOTECA-E), 2005.

GRAU, C.R.; HARTMAN, G.L. *Sclerotinia stem rot*. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. Compendium of soybean diseases and pests. 5. ed. St. Paul, MN: **American Phytopathological Society**, 2015. p. 59-62.

GURGEL, F. L. A Cultura Da Soja. 2007. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=383>>. Acesso em: 29 de jul de 2017.

HARMAN, G. E. et al. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 147-153, 2004.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HAWKSWORHT, D.L., KIRK, P.M., SUTTON, B.C., PEGLER, D.N. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8.ed. New York: CAB International, 1995. 616p.

HENNING, A. A. et al. Manual de identificação de doenças de soja. Embrapa Soja- Documentos (INFOTECA-E), 2014.

HUANG, Hung-Chang; CHANG, Chi. Effect of Relative Humidity on Myceliogenic Germination of *Sclerotia* of *Sclerotinia minor*. **Plant Pathology Bulletin**, v. 12, n. 1, p. 65-68, 2003.

HWANG, J.; BENSON, D. M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with *Burkholderia cepacia* and binucleate *Rhizoctonia*. *Plant disease*, v. 86, n. 1, p. 47-53, 2002.

KHAN, Muhammad Omer; SHAHZAD, Saleem. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. *Pak. J. Bot*, v. 39, n. 3, p. 945-951, 2007.

JACCOUD FILHO, David de Souza et al. Mofo Branco: Introdução, Histórico, Situação Atual e Perspectivas. In: JACCOUD FILHO, David de S.; HENNEBERG, Luciane; GRABICOSI, Edilaine M. G. Mofo Branco: *Sclerotinia sclerotiorum*. Ponta Grossa: Toda Palavra, 2017. Cap. 1. p. 29-77.

JULIATTI, F. C; GARCIA, R. A. Fitopatologia - Mofo Branco ou Podridão Branca da Haste: Um Desafio Para a Produção da Batateira (*Solanum tuberosum* L.). **Revista Batata Show**. Ano 8, edição 21, 2008.

LIMA, T. M. **Estudos in vitro e in vivo de alternativas químicas e biológicas para o manejo integrado de damping-off (*Pythium* spp.) em mudas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)**. 2010. 85 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LOBO JUNIOR, M. Controle de podridões radiculares no feijoeiro comum com o fungicida microbiano trichodermil. Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 2005.

LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp. São Paulo: Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, 2009.

LUZ, W. C. da. Classe leotiomycetes. In: LUZ, Wilmar Cório da; INÁCIO, Carlos Antonio. *Micologia Avanada: Taxonomia de Ascomicetos*. 2. ed. Passo Fundo: Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2011. Cap. 15. p. 240-261.

MAY, L. L.; KIMATI, H. Controle biológico de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros. **Fitopatologia brasileira**, v. 24, n. 1, p. 18-24, 1999.

MEYER, M. C. et al. Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Embrapa Soja-Circular Técnica. 2017.

MEYER, M. C. et al. Ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco na cultura da soja-safras 2012 a 2015. Londrina: Embrapa Soja, 2016.

MICHEREFF FILHO, M.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, E. B.; ANDRADE, D. . G. T.; ANTUNES SOBRINHO, S.; NORONHA, M. A.; MARIANO, R. L. R. Influência de tipos de solo do estado de Pernambuco na intensidade da doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 19-25, mar. 1996.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Cap. 2, p. 1-21. Londrina: ABRATES, 1999.

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos. Document **M38-A. V. 22**, n. 16. 50 p. 2002.

PAKDAMAN, B. S. et al. Toward the quantification of confrontation (Dual Culture) test: a case study on the biological control of *Pythium aphanidermatum* with *Trichoderma asperelloides*. **J Biofertil Biopestici**, v. 4, n. 137, p. 2, 2013

STEADMAN, James R.; NICKERSON, Kenneth W. Differential inhibition of sclerotial germination in *Whetzelinia sclerotiorum*. **Mycopathologia**, v. 57, n. 3, p. 165-170, 1975.

PERES, E.; DE MELO, I. S. Variabilidade entre isolados de *Trichoderma harzianum*. – I Aspectos citológicos. **Scientia Agrícola**, v. 52, n. 1, p. 56-59, 1995.

PHILLIPS, A. J. L. Carpogenetic germination of *sclerotinia sclerotiorum*: a review. *Phytophylactica*, **Pretoria**, v. 19, n. 2, p. 279-283, 1987

REIS, E. M.; TOMAZINI, S. L. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em duas profundidades no solo. **Summa phytopatologica**, v. 31, n. 1, p. 97-99, 2005.

STEADMAN, James R. White mold: serious yield limiting disease of bean. **Plant Disease**, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. Identification of *Rhizoctonia* species. Minnesota: USA. **APS Press**, 1991.

TACHIBANA, H.; JOWETT, D.; FEHR, W. R. Determination of losses in soybeans caused by *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, 1971.

WERLE, Marcos Roberto. **Compatibilidade in vitro de *Trichoderma* spp. frente a diferentes agrotóxicos**. 2017. 50 f. Trabalho de conclusão de curso – curso de Agrônoma. Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2017.

ZEIN EL-ABDEAN, Waleed et al. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* isolates the incitant of soybean root rot. *Archives of phytopathology and plant protection*, v. 46, n. 9, p. 1108-1117, 2013.

