

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ISABELA SCHMOLLER

**BIOCONTROLE com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum*
NA CULTURA DA SOJA**

DOIS VIZINHOS

2021

ISABELA SCHMOLLER

**BIOCONTROLE com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* NA
CULTURA DA SOJA
BIOCONTROL WITH *Trichoderma* and *Bacillus* to *Sclerotinia sclerotiorum* in SOY-
BEAN CROP**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias - Área de Concentração: Manejo e Conservação de Agroecossistemas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)
Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro
Coorientador: Prof. Dr. Paulo César Conceição

DOIS VIZINHOS

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos**



ISABELA SCHMOLLER

BIOCONTROLE COM TRICHODERMA E BACILLUS À SCLEROTINIA SCLEROTIORUM NA CULTURA DA SOJA

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Agroecossistemas.

Data de aprovação: 02 de Junho de 2021

Prof Sergio Miguel Mazaro, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Claudia Manteli, Doutorado - União de Ensino do Sudoeste do Paraná (Unisep)

Prof Edson Bertoldo, Doutorado - União de Ensino do Sudoeste do Paraná (Unisep)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 02/06/2021.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus que me protejeu nos inúmeros dias de deslocamento da minha cidade até a instituição e sempre com segurança.

A minha família, em especial meus pais Elizandra Lagos Schmoller, Vilmar Schmoller e irmão Emmanoel Schmoller pelo incentivo e compreensão.

Agradeço também a equipe de professores e coordenação da instituição, por transmitirem seus conhecimentos e nunca medir esforços para auxiliar nas aulas e condução de experimentos, em especial ao meu orientador Sérgio Miguel Mazaro e Co-orientador Paulo César Conceição, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho e muitas vezes incentivando a buscar os melhores resultados.

Aos meus amigos, colegas, e o grupo de pesquisa BIOFITO, pelo companheirismo, afeto e incentivo os quais foram responsáveis por facilitar na adaptação ao ambiente de pesquisa.

Agradecer a UTFPR e ao Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas (PPGSIS) pelo oportunidade de realizar o mestrado, com tão elevada qualidade de ensino. Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento de bolsa de iniciação científica do aluno Bruno dos Santos Backes através do Edital Universal 01/2016, processo 426750/2016-0, o qual auxiliou no desenvolvimento dessa pesquisa.

**“Mil poderão cair ao teu lado, e dez mil à tua direita; mas tu não serás atingido”
(Salmos 91:7)**

RESUMO

A soja é o principal produto da agricultura brasileira, fortalecendo a posição do país como uma das *commodities* mais importantes do comércio agrícola mundial. Mas são inúmeros os fatores que afetam sua qualidade e produtividade, dentre elas a incidência de doenças. O mofo-branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, também conhecido como podridão-de-esclerotínia, tem se destacado como uma das mais severas para a cultura. Não existe cultivares de soja resistente a *S. sclerotiorum*, e o controle químico do mofo-branco possui limitações, em razão dos custos, perda de eficiência dos fungicidas e das dificuldades de se obter proteção total da planta durante as pulverizações. Portanto, práticas como o controle cultural com formação da palhada para o sistema de plantio direto (SPD) e o controle biológico com antagonistas como *Trichoderma* e *Bacillus* vem sendo utilizados no manejo da doença. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia dos agentes de biocontrole na colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, sob cultivo de soja. Foram desenvolvidos dois experimentos nos anos agrícolas de 2019/2020 e 2020/2021 na estação experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Dois Vizinhos sendo os tratamentos *Trichoderma harzianum*, isolado IBLF 006 (0,1kg/ha); *Bacillus subtilis* linhagem QST 713(3litros/ha); e associação *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901(0,1Kg/ha). A cobertura vegetal que antecedeu a cultura da soja foi a Aveia Preta BRS 139, semeadas à campo e quando atingiu o estágio fenológico de pleno florescimento, foi rolada, com auxílio de rolo faca, e semeado soja cultivar BRS 282. No estágio fenológico V2 (duas folhas verdadeiras), amostras contendo 50 escleródios foram colocadas em sacos de tela de náilon com malha de 1,5 mm e dispostas na entre linha da cultura, sendo acomodados de forma que metade de sua altura ficasse abaixo da superfície do solo. Foram realizadas duas aplicações dos agentes de biocontrole nos estádios V2 e V4 da cultura, respectivamente. As pulverizações foram realizadas com pulverizadores pressurizados com CO₂ com vazões de 200 L ha⁻¹. Após 20 dias da última aplicação dos biocontroles, os escleródios foram retirados do campo e foi realizada a avaliação carpogênica em laboratório. Os escleródios foram acondicionados em caixa gerbox contendo 200 g de solo auto-clavado, e então incubados à temperatura de 18°C (±2°C) e fotoperíodo (12horas) por 20 dias. Na avaliação carpogênica foram quantificando o número de escleródios germinados, número de estirpes e apotécios por escleródios, escleródios colonizados, escleródios degradados ou podres e percentual de controle. Os resultados demonstraram que nos dois anos de avaliações *Trichoderma harzianum* isolado URM 8119 e *Bacillus subtilis* linhagem QST 713 tiveram efeito de biocontrole sobre *S. sclerotiorum*, com médias de controle de 36,4%, não diferindo entre si quanto a eficiência de controle, no entanto, quando utilizou-se a associação de *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901 demonstrou maior eficiência de controle de *S. sclerotiorum*, com média de 52,8%, comprovando que houve sinergismo entre agentes biológicos.

Palavras-chave: controle biológico; controle alternativo; mofo branco.

ABSTRACT

Soy is the main product of Brazilian agriculture, strengthening the country's position as one of the most important commodities in world agricultural trade. But there are numerous factors that affect its quality and productivity, including the incidence of diseases. White mold caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, also known as sclerotinia rot, has been highlighted as one of the most severe for the crop. There are no soybean cultivars resistant to *S. sclerotiorum*, and chemical control of white mold has limitations due to costs, loss of fungicide efficiency and difficulties in obtaining total plant protection during spraying. Therefore, practices such as cultural control with straw formation for the direct planting system and biological control with antagonists such as *Trichoderma* and *Bacillus* have been used in the management of the disease. The objective was to evaluate the effectiveness of biocontrol agents in the colonization of *S. sclerotiorum* sclerotia in the soil, under soybean cultivation. Two experiments were carried out in the agricultural years of 2019/2020 and 2020/2021 at the experimental station of the Federal Technological University of Paraná - UTFPR - Dois Vizinhos, the treatments being *Trichoderma harzianum*, isolate IBLF 006 (0.1kg/ha); *Bacillus subtilis* lineage QST 713(3liters/ha); and association *Trichoderma harzianum*, isolate URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolate URM 8120 and *Bacillus amyloliquefaciens*, isolate CCT 7901(0.1Kg/ha). The plant cover that preceded the soybean crop was Black Oat BRS 139, sown in the field and when it reached the phenological stage of full flowering, it was rolled, with the aid of a knife roller, and sowed soybean cultivar BRS 282. In the phenological stage V2 (two leaves true), samples containing 50 sclerotia were placed in 1.5 mm mesh nylon mesh bags and placed between the crop rows, being accommodated so that half of their height was below the soil surface. Two applications of biocontrol agents were carried out at stages V2 and V4 of the culture, respectively. The sprays were carried out with pressurized sprayers with CO₂ with flow rates of 200 L ha⁻¹. Twenty days after the last application of the biocontrols, the sclerotia were removed from the field and the carpogenic evaluation was carried out in the laboratory. The sclerotia were placed in a gerbox containing 200 g of autoclave, and then incubated at a temperature of 18°C (±2°C) and photoperiod (12 hours) for 20 days. In the carpogenic evaluation, the number of germinated sclerotia, number of apothecia per sclerotia, colonized sclerotia, degraded or rotten sclerotia and control levels were quantified. The results showed that in the two years of evaluations *T. harzianum* isolate URM 8119 and *B. subtilis* lineage QST 713 had a biocontrol effect on *S. sclerotiorum*, with control means of 36.4%, not differing from each other in terms of control efficiency. However, when the association of *T. harzianum*, isolate URM 8119, *T. asperellum*, isolate URM 8120 and *B. amyloliquefaciens*, isolate CCT 7901 was used, it showed greater efficiency in controlling *S. sclerotiorum*, with an average of 52.8%, proving that there was a synergism between biological agents.

Keywords: biological control; alternate control; white mold.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fotografia 1 - Etapa de implantação do experimento.....	26
Fotografia 2 - Etapa de aplicação dos biofungicidas.....	27
Fotografia 3 - Escleródios dispostos em gerbox (A) Início da germinação dos escleródios (B)	28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Tratamentos com biofungicidas, doses dos produtos comerciais e concentração de ativos.....24
- Tabela 2 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....29
- Tabela 3 – Médias da porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....30
- Tabela 4 – Médias da porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....32
- Tabela 5 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....33
- Tabela 6 – Médias da porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia*

sclerotiorum na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....34

Tabela 7 – Médias da porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.....35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	A Cultura da Soja	16
3.1.1	Descrição Botânica da Soja	17
3.2	Doenças da Cultura da Soja	18
3.2.1	Mofa Branco na Soja (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>).	19
3.3	Controle Biológico de Doenças da Soja	20
3.4	<i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i>	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Condução do Experimento a Campo	25
4.2	Delineamento Experimental	25
4.3	Condução do Experimento a Campo	25
4.4	Análise Estatística	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

À medida que as civilizações entram no século 21 e a população do mundo continua a aumentar, é óbvia a importância de um contínuo aumento na produção de alimentos (LOPES; GUILHERME, 2007).

A soja é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas, em que o aumento da produtividade está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo e eficiência dos produtores (MAPA, 2016).

Atualmente o expressivo aumento da cadeia produtiva da soja se justifica em função da relevante importância dessa cultura, que, atingindo novas fronteiras agrícolas e sendo um dos mais importantes produtos do setor primário, se firma como uma *commodity* amplamente requerida (NEIS, 2018). Na safra 2020/2021 foram produzidas 135.540,3 mil t de grãos de soja, aumento de 8,6% em relação a safra anterior. Também houve crescimento de 4,1%, em comparação à safra anterior, na área plantada, atingindo 38,5 milhões de hectares com produtividade média de 3.523 kg ha⁻¹ (CONAB, 2021).

Entre as doenças que incidem sobre a soja, o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary), também conhecido como podridão-de-esclerotínia, tem se destacado como uma das mais graves. O patógeno sobrevive no solo por meio de estruturas de resistência chamadas de escleródios e pode atacar mais de 400 espécies hospedeiras, entre elas plantas de importância econômica como soja, feijão, algodão e girassol (BOLTON *et al.*, 2006). O micélio pode permanecer viável em flores infectadas por até 144 horas em condições desfavoráveis e retoma o desenvolvimento quando as condições favoráveis retornam (HARIKRISHNAN; DEL RÍO, 2006). Não existem cultivares de soja resistentes a *S. sclerotiorum*, e o controle químico do mofo-branco possui limitações, em razão dos custos, perda de eficiência dos fungicidas e das dificuldades de se obter uma proteção total da planta durante as pulverizações. Entre as recomendações para manejo do mofo-branco, podem ser destacadas práticas como o controle cultural com formação da palhada para o sistema de plantio direto (SPD) e o controle biológico com antagonistas (GÖRGEN *et al.*, 2009).

Porto (2017) relata então que métodos alternativos como o controle biológico com aplicações de micro-organismos antagonistas e a nutrição das plantas são opções de menor impacto ao meio ambiente. Um elemento-chave para um melhor parasitismo dos escleródios é a aplicação do produto biológico sob condições ambientais ideais para o desenvolvimento rápido do antagonista.

No Brasil o *Trichoderma* é o principal agente de biocontrole, sendo que as formas de ação de *Trichoderma* envolvem competição, antibiose, micoparasitismo, promoção de crescimento, solubilização de nutrientes, indução de resistência e ação endofítica (MONTE, *et al.*, 2019; WOO *et al.*, 2014). Parte da eficiência de isolados de *Trichoderma spp.* no controle biológico depende também da sua capacidade de adaptação ao agroecossistema, do qual não são originários (LOBO JÚNIOR, 2009).

Outros agentes biológicos destacam-se, como do gênero *Bacillus* onde se encontra em constante estudo devido à sua capacidade antagonista, demonstrando ação efetiva na prevenção e controle de doenças causadas por várias espécies de patógenos (FERREIRA *et al.*, 1991). Estas bactérias podem atuar em vários mecanismos, como antibiose, competição, indução de resistência, mineralização de fosfatos, fixação de nitrogênio e reguladores de crescimento, além de serem capazes de inibir o crescimento de outros organismos no solo (ROMEIRO, 2005).

A associação de agentes de biocontrole, com uso de *Trichodermas* e *Bacillus* tem demonstrado maior espectro de ação dos microorganismos, e com isso vem melhorado a eficiência no controle de *S. sclerotiorum*. O estudo tem como objetivo avaliar a eficiência dos agentes de biocontrole *Trichoderma* e *Bacillus* na colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, sob cultivo de soja.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência dos agentes de biocontrole *Trichoderma* e *Bacillus* na colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, sob cultivo de soja.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial dos agentes de biocontrole de forma isolada.
- Avaliar se há potencial dos agentes de biocontrole quando utilizados em associação.
- Comparar o efeito de diferentes agentes de biocontrole à base de *Bacillus subtilis* linhagem QST 713, *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119; e associação de *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120, e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901 sobre *S. Sclerotiorum*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A Cultura da Soja

Segundo Costa Neto e Rossi (2000) a soja (*Glycine max* L.) é uma das mais importantes culturas na economia mundial, tendo em vista que seus grãos são muito utilizados pela agroindústria, indústria química, de alimentos, além de estar se destacando como fonte alternativa de biocombustível.

No Brasil, a soja foi introduzida na Bahia em 1882 e levada para São Paulo em 1892. No Rio Grande do Sul foi cultivada pela primeira vez em 1900 e em 1936 ocorre o início da expansão desta cultura no estado (COSTA, 1996). Na década de 1980 foi introduzida na região dos Cerrados, tornando-se a cultura anual de maior área plantada no país.

Do início do cultivo para a comercialização até a metade da década de 1980, que também se encerra o regime militar no Brasil, governo que inseriu a revolução verde no país, se consolida como a primeira fase de expansão da soja no país. Consolidando a região pioneira e tradicional no cultivo de soja. Essa denominada região estende-se pelos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e São Paulo e começa a migrar para a região Centro-Oeste do país na década de 1950 (BORGES, 2019).

Atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de grãos de soja, sendo responsável pela produção de 135.540,3 milhões de toneladas atingindo 38,5 milhões de hectares (CONAB, 2021). Havendo um aumento de 8,6% em relação a safra anterior. Também houve crescimento de 4,1%, em comparação à safra anterior, na área plantada, atingindo 38,5 milhões de hectares com produtividade média de 3.523 kg ha⁻¹ (CONAB, 2021).

As condições climáticas brasileiras viabilizam o cultivo da leguminosa, entretanto por tratar-se de um país com clima tropical há também alta pressão de pragas e doenças. Nesse cenário, a utilização de defensivos agrícolas faz-se necessária. Entretanto, estes possuem alto impacto no custo de produção e somado a isso existe a pressão da população para redução na utilização destes (BORGES, 2019).

O grão de soja é rico em proteínas, que pode ir de 30 à 53%; contudo, o teor médio das cultivares brasileiras é de 40%, em virtude da condição disso e do baixo

custo referente de seu cultivo, essa cultura destacou-se como respeitável fonte proteica para a complemento da dieta especialmente em regiões em desenvolvimento (SEDIYAMA *et al.*, 2015).

3.1.1 Descrição Botânica da Soja

Originária da costa leste da Ásia, a cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) faz parte da família *Fabaceae*, comumente denominada de família das leguminosas, que ocupam grande parte das terras cultiváveis do mundo (CARVALHO, 2002). As espécies pertencentes a esta família possuem grãos ricos em proteínas, podendo ser consumidos pelos homens e pelos animais (EMBRAPA, 2001).

A planta soja é uma leguminosa, com caule ramificado, esverdeado e piloso, as folhas são alternas, compostas por três folíolos (JOLY; LEITÃO FILHO, 1979). Pertence ao reino plantae, divisão magnoliophyta, classe magnoliopsida, ordem fabales, família fabaceae (leguminosaea), subfamília faboideae (papilionoideae), e a forma cultivada é a *Glycine max* Merrill (BARROS, 2009).

A soja é originária do continente asiático, mais especificamente na China e com o passar dos anos se espalhou sendo hoje cultivada pelo mundo. Nos seus primórdios, era uma planta rasteira, diferentemente da que foi descrita anteriormente (EMBRAPA, 2008).

A estatura das plantas varia, dependendo das condições do ambiente e da variedade (cultivar). A estatura ideal está entre 60 a 110 cm. Com relação à fenologia, percebe-se que a sequência de estádios de vegetação se dá pelo VE (emergência), VC (cotilédone), V2 (segundo nó), V4 (quarto nó) e VN (enésimo nó), passando então passa os estádios reprodutivos R1 (início do florescimento), R2 (florescimento pleno), R3 (início da formação do legume), R4 (legume completamente desenvolvido), R5 (enchimento de grão), R6 (grão cheio ou completo), R7 (início da maturação) e R8 (maturação plena) (FRANZONI, 2019).

3.2 Doenças da Cultura da Soja

Dentre os principais fatores que limitam a exploração máxima do potencial produtivo da cultura, estão as doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus. Segundo Henning (2005) são relatados em torno de 40 patógenos que podem se associar e causar prejuízos nessa cultura.

A ocorrência de doenças pode gerar consideráveis perdas da safra ao produtor. Em função da expansão de novas áreas para cultivo da soja e também devido à monocultura, os números de doenças no Brasil que afetam esta cultura tendem a aumentar, sendo que, atualmente, as doenças que mais ocorrem são ferrugem asiática, oídio, mancha alva, mofo branco, podridão de fitóftora e doenças de final de ciclo (HENNING, 2009).

Merecem destaque os patógenos necrotróficos que por sua vez têm a habilidade de extrair nutrientes de tecidos mortos do hospedeiro. São exemplos desse tipo de patógenos a mancha foliar olho-de-rã (*Cercospora sojina*), a mancha alva (*Corynespora cassiicola*), o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), a podridão da raiz e da base da haste (*Rhizoctonia solani*), seca da vagem (*Fusarium* spp.) entre outros (COSTAMILAN *et al.*, 1999).

Por outro lado, microorganismos biotróficos são parasitas que extraem seus nutrientes única e exclusivamente de tecidos vivos, ou seja, exercem o parasitismo em plantas vivas, apresentando um alto grau de especificidade. Pode-se citar como exemplos míldio (*Peronospora manshurica*), oídio (*Microsphaera diffusa*) e a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (BALARDIN, 2002).

Na cultura da soja ainda podem ocorrer as doenças de final de ciclo, também chamadas de DFC's onde se encontra a antracnose (*Colletotrichum truncatum*), mancha parda (*Septoria glycines*) e crestamento foliar de cercospora (*Cercospora kikuchii*) (BALARDIN, 2002).

3.2.1. Mofo Branco na Soja (*Sclerotinia sclerotiorum*).

O mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), é uma das principais doenças fúngicas que pode incidir sobre a cultura da soja, especialmente em condições de elevada umidade relativa do ar e temperaturas amenas (HENNING *et al.*, 2014).

Segundo Meyer *et al.* (2018) o mofo-branco se manifesta com maior severidade em anos chuvosos, onde condições de elevada umidade e temperaturas amenas favorecem seu desenvolvimento. Os autores ainda destacam que a doença pode causar sérios danos à cultura da soja, pois a cada ponto percentual do aumento da incidência de mofo-branco, ocorre uma redução média de produtividade da soja de aproximadamente 17 kg.ha⁻¹, aliado a um aumento da produção de escleródios de 100 g.ha⁻¹. Zeng *et al.* (2012) afirmaram ainda que os escleródios podem permanecer viáveis no solo devido ao sombreamento e à presença de matéria orgânica, condições estas que modificam a temperatura na camada superficial do solo (2-3 cm).

Corroborando a informação de elevada capacidade do mofo-branco em causar danos à cultura da soja, Meyer *et al.* (2020) destacam que a redução da produtividade da soja causada pelo mofo-branco pode chegar a 70%, e que o fungo está presente em cerca de 28% da área de produção brasileira, destacando a importância econômica da doença.

Uma característica de fundamental importância epidemiológica de *S. sclerotiorum* é a produção de escleródios, que são as estruturas de sobrevivência do fungo no solo e constituem a fonte primária de inóculo da doença para a safra subsequente. Em condições favoráveis, esses escleródios germinam, formando apotécios, de onde são produzidos os ascosporos que colonizam as pétalas de soja, que servem de substrato para o fungo no início da infecção nas hastes e nos pecíolos (GRAU 7 HARTMAN, 2015). O longo período de sobrevivência dos escleródios no solo é o fator que mais dificulta o controle de *S. sclerotiorum*, pois é praticamente impossível eliminar o patógeno uma vez estabelecido em determinada área (ZENG *et al.*, 2012).

3.3 Controle Biológico de Doenças da Soja

O controle biológico vem se destacando como uma das soluções inovadoras, com um custo mais baixo e, assim, mais possível ao agricultor. Segundo Santin (2008), “devido ao impacto ambiental, a baixa eficiência e alto custo” do controle químico, “torna-se necessário estudar alternativas de controle, as quais possam ser utilizadas como novas estratégias e, assim, reduzir os prejuízos”.

O conceito de controle biológico mais aceito pela comunidade é ... “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem” (COOK; BAKER, 1983).

Desta forma, de acordo com Cook e Baker (1983), neste conceito, o controle biológico pode ser acompanhado de: práticas culturais para criar um ambiente favorável para os antagonistas e a resistência da planta hospedeira, ou ambas as coisas; melhoramento das plantas para aumentar a resistência ao patógeno ou para melhor se adaptar às atividades dos antagonistas; introdução dos antagonistas, isolados não patogênicos e outros organismos ou agentes benéficos; e outras práticas culturais.

A atuação das rizobactérias pode favorecer o desenvolvimento das plantas (Rizobactérias Promotoras de Crescimento, PGPR) ou eliminar patógenos. Isto acontece pelos mecanismos antibióticos, que suprimem a microflora com habilidade destruidora da cultura; mecanismos sideróforos, que, expelido pelas bactérias constituem um composto solúvel com ferro, contribuindo para a adaptação de micronutrientes para as plantas e o mecanismo de procura por nutrientes, enfraquecendo sua disponibilidade e, assim, diminuindo seu uso por patógenos, como os nematoides, que se norteiam por eles em direção às raízes (MACHADO, 2012).

Meyer *et al.* (2017) avaliam assim que a variedade em analogia ao modo de atuação dos fungicidas para controle de mofo-branco permite rotação entre eles, de modo que tenham menor pressão de seleção sobre o patógeno e torne viável a utilização de estratégias antirresistência do fungo aos fungicidas, poupando o efeito das moléculas pelo maior tempo que puder (OTAVIO *et al.*, 2018).

Contudo, estudos assinalam a disseminação de populações do patógeno cada vez mais resistentes às moléculas do controle químico, além dos eventos de conflitos contrários ao ambiente e à saúde pública, o que tem confirmado a acuidade de outros meios para o seu controle, assim, o emprego de agentes de biocontrole são instrumentos para o trato da doença (OTAVIO *et al.*, 2018).

Desse modo, entende-se que o controle biológico de pragas e doenças é uma escolha respeitável para a consideração do aumento da demanda da sociedade por produtos e alimentos livres de detritos deixados nas aplicações de agrotóxicos (LOPES, 2009). Neste sentido, o controle biológico aproveita distintos meios para alcançar seu alvo, reduzindo as oportunidades de seleção de linhagens com resistência, não contaminando os alimentos e nem o ambiente, notificando espontaneamente a ciclagem dos nutrientes (RIBEIRO, 2009).

3.4 *Trichoderma* e *Bacillus*

O *Trichoderma sp.* assim é analisado como um fungo antagonista e concretiza uma ação de biocontrole, porque produz enzimas líticas que degradam a quitina, polímero que é o componente fundamental dos ovos dos nematoides (SANTIN, 2008). *Trichoderma spp.* então são fungos de vida livre, ubíquos e largamente interativos na raiz e solo e no interior das culturas (POMELLA; RIBEIRO, 2009).

Muitas espécies de *Trichoderma* têm um conjunto de estruturas de atuação e lançam substâncias antimicrobianas que avalizam um extenso espectro de ação contra vários fitopatógenos, assim tem competência de dominar muitas doenças, além de agenciar o aumento de plantas pelo acréscimo na disposição de nutrientes e produção de hormônios de desenvolvimento. O parasitismo semelha ser o método mais competente de antagonismo do controle biológico natural, os hiperparasitas por existirem à custa dos patógenos, estão subordinados as mesmas mudanças ambientais e precisam das mesmas categorias da estrutura parasitada. Assim, dentre os fungos filamentosos, *Trichoderma* é notadamente o hiperparasita mais importante (GRIGOLETTI JÚNIOR *et al.*, 2000).

Porto (2017) descreve que as propriedades apresentadas por isolados antagonistas de *Trichoderma* são competição, antibiose, parasitismo ou hiperparasitismo e predação. A competição, segundo Bettiol e Ghini (1995), é referente à interação entre dois ou mais organismos empenhados na mesma ação ou substrato. A competição entre micro-organismos ocorre, principalmente, por alimento, espaço e oxigênio. A competição por nutrientes com fitopatógenos, inclusive com aqueles de menor tamanho, pode proporcionar condições ambientais favoráveis às plantas e com isto promover seu crescimento e desenvolvimento (ALMANÇA, 2008). A antibiose, por sua vez, é definida como a interação entre organismos na qual indivíduos de uma população secretam metabólitos voláteis e/ou não-voláteis capazes de inibir ou impedir o desenvolvimento dos indivíduos de uma população de outra espécie. Esses metabólitos são usualmente denominados antibióticos (BENÍTEZ *et al.*, 2004). O parasitismo ou hiperparasitismo é a situação em que um micro-organismo vive sobre e alimenta-se de outro. Os hiperparasitas atacam hifas e estruturas de reprodução e sobrevivência dos patógenos de plantas, reduzindo a infecção e o inóculo do patógeno (BETTIOL; GHINI, 1995). Nesse contexto, Ribeiro (2009) descreve que *Trichoderma* spp. pode exercer biocontrole direto numa variedade de fungos, sendo que essa habilidade, assim como as outras, varia de isolado para isolado, de espécie para espécie, e é dependente do fungo antagonizado. Na predação, que é a habilidade da hifa de *Trichoderma* spp. crescer ativamente em direção às hifas de outros fungos, o objetivo é o de alimentação (ZUCCHI, 2010).

Isolados de espécies como *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum lato sensu* e *T. virens*, com ampla distribuição no solo e capacidade de hiperparasitar fungos fitopatogênicos e/ou estabelecer interações benéficas na rizosfera de plantas cultivadas, são utilizados em tratamento de sementes ou aplicados em vastas áreas de cultivo para o controle biológico de doenças de plantas e promoção do crescimento vegetal (WOO *et al.*, 2014). O Brasil é destaque na pesquisa e uso comercial de *Trichoderma* como ferramenta biológica para o manejo de doenças e incremento da produtividade agrícola (CARVALHO *et al.*, 2014).

Trichoderma harzianum é a 'morfo-espécie' mais comumente empregada no controle biológico de doenças de plantas no mundo (WOO *et al.*, 2014), e prevalente

em levantamentos de diversidade de espécies no solo e restos vegetais em várias regiões geográficas (DOMSCH *et al.*, 2007).

Isolados de *T. asperellum* e *T. asperelloides* são habitantes comuns do solo no neotrópico (HOYOS-CARVAJAL *et al.*, 2009), microparasitas agressivos, e podem induzir resistência sistêmica em plantas (SHORESH *et al.*, 2005), com isolados utilizados no controle biológico de doenças (SAMUELS *et al.*, 2010), incluindo biofungicidas comercializados no Brasil (WOO *et al.*, 2014).

A *Bacillus subtilis*, é uma bactéria natural do solo, tem antibióticos, enzimas e fitohormônios que adequam benfeitorias para as culturas. Essa espécie microbiana é ainda vista como rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCP) (ARAÚJO, 2008). *Bacillus amyloliquefaciens* é uma bactéria cosmopolita, habitante natural de solos e comumente associadas ao ambiente rizosférico e endofítico de plantas (XU *et al.*, 2013). *B. amyloliquefaciens* vem sendo associada à proteção de plantas, mostrando resultados positivos na promoção de crescimento (NAUTIYAL *et al.*, 2013), assim como na redução das perdas causadas por fungos e nematoides fitopatogênicos (ALVAREZ *et al.*, 2012).

Diante do exposto, o gênero *Bacillus spp.* se sobressai como o antagonista de máximo prevalectimento em ocorrências de controle biológico por sua habilidade de desenvolver endósporo, e de proporcionar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos. O endósporo se determina em uma armação que ajuda na sua sobrevivência em distintos estados, proporcionando ainda que as bactérias enganem as defesas dos fitopatógenos. Destaca-se também como hábil agente no biocontrole, sendo localizada em rizobactérias promotoras do crescimento, bactérias epífíticas e endofíticas (CAMPOS SILVA *et al.*, 2008).

A disposição de alagar com eficiência nichos distintos e proporcionar uma evidente versatilidade fisiológica, faz bactéria dessa bactéria inigualável para estudos futuros. Com os progressos nos esboços dos metabólicos a distinção de substâncias com potencialidades agrônômicas pode trazer à luz do entrosamento das interações *B. subtilis*-planta, pautado na formulação de bioprodutos hábeis no controle de patógenos ou desenvolvimento de plantas. De tal modo, obtendo-se formulados mais constantes, com mais viabilidade para utilização (FILHO; FERRO; PINHO, 2010). Araújo (2012) informa que as rizobactérias promotoras do crescimento

de plantas (RPCPs) vivem o solo e com constância são separadas da rizosfera de várias plantas agricultadas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da Área Experimental

Os experimentos foram realizados nos anos agrícolas de 2019/2020 e 2020/2021 conduzidos na área de produção orgânica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada na estrada para Boa Esperança, Km 04 - Zona Rural, Dois Vizinhos – PR. A microrregião pertence ao 3º Planalto Paranaense, com altitude média 509 metros acima do nível do mar (planalto com altitude), entre as coordenadas geográficas 25° 44' 03" - 25° 46' 05" Sul e 53° 03' 01" - 53° 03' 10" Oeste – GR. O clima de acordo com a classificação climática de Koeppen que ocorre no município é do tipo climático Cfa.

4.2 Delineamento Experimental

Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental de blocos casualizados, em parcelas de 8 linhas de 6 m em cinco repetições. Foram consideradas como parcela útil as quatro linhas de 6 m centrais.

4.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO

A cobertura vegetal que antecedeu a cultura da soja foi a Aveia Preta BRS 139, semeadas à campo (90Kg/ha) e quando atingiu o estágio fenológico de plena floração, foi rolada, com auxílio de rolo faca, e semeado soja cultivar BRS 282, na primeira quinzena de setembro para os dois anos de cultivos, com uma população de 330mil/plantas/ha (Figura 1).

Fotografia 1 - Etapa de implantação do experimento.



Fonte: A autora (2021).

Os tratamentos foram compostos por uma formulação de propágulos de *Trichoderma harzianum*, uma formulação de *Bacillus subtilis*, e a associação de *Trichodermas* com *Bacillus*, e a testemunha, sem aplicação de biofungicidas (Tabela 1).

Tabela 1 - Tratamentos com biofungicidas, doses dos produtos comerciais e concentração de ativos.

Nº	Produtos comerciais	Ingrediente Ativo	Dose p.c.	
			L./kg /ha	Concentração
1	Testemunha	-	-	-
2	Ecotrich	<i>Trichoderma harzianum</i> , Isolado IBLF 006	0,1	(1 x 10 ¹⁰ UFC/g de produto).
3	Sereneide	<i>Bacillus subtilis</i> linhagem QST 713	3	mínimo de 1 x 10 ⁹ UFC/g de ativo)
4	Pardella	<i>Trichoderma harzianum</i> , isolado URM 8119, <i>Trichoderma asperellum</i> , isolado URM 8120 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , isolado CCT 7901	0,1	(mínimo 5 x 10 ⁸ UFC/g de pc)

Fonte: A autora (2021).

Os biofungicidas utilizados para o experimento a campo foram *Bacillus subtilis* linhagem QST 713; *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119; e associação *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901. Foram realizadas duas aplicações dos agentes de biocontrole no início do estágio vegetativo, nos estádios V2 e V4 (duas e quatro folhas verdadeiras), respectivamente. As doses dos produtos seguiram as recomendações dos fabricantes (Figura 2).

Fotografia 2 - Etapa de aplicação dos biofungicidas.



Fonte: A autora (2021).

Os tratamentos foram aplicados em dias nublados após período chuvoso, no final da tarde. As pulverizações foram realizadas com pulverizadores pressurizados com CO₂, barras com 4 pontas de jato plano e calibrados para vazões de 200 L ha⁻¹.

Amostras contendo 50 escleródios foram colocadas em sacos de tela de náilon com malha de 1,5 mm e dispostas na parcela, e acomodando-os de forma que metade de sua altura fique abaixo da superfície do solo. Em seguida, os escleródios tiveram uma cobertura uniforme de palhada em sua superfície.

As amostras de escleródios foram recolhidas aos 20 dias após a última aplicação, quando os escleródios foram acondicionados em sacos de papel e devidamente identificados. Esses foram transportados em caixas de papelão e direcionados para análises imediatas em laboratório, onde foram realizados os testes de germinação carpogênica.

As avaliações de germinação carpogênica dos escleródios foram realizadas em caixas gerbox contendo 200 g de solo de barranco autoclavado, umedecido até atingir 80% da capacidade de campo. Em cada caixa gerbox foram acondicionados 25 escleródios, e incubados à temperatura de 18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo (12 horas) por 20 dias (Figura 3).

Após esse período, foram quantificados o número de escleródios germinados, número de estirpes e apotécios por escleródios, escleródios colonizados, escleródios degradados ou podres, e percentual de controle.

Fotografia 3 – Escleródios dispostos em gerbox (A) Início da germinação dos escleródios (B)



Fonte: A autora (2021).

4.4 Análise Estatística

Foram realizadas análises de variância exploratória, para cada local. Nas análises individuais foram verificadas a significância do efeito de blocos, o quadrado médio residual, o coeficiente de variação, a assimetria, a curtose, a normalidade da distribuição de resíduos (SHAPIRO & WILK, 1965), a aditividade do modelo estatístico (TUKEY, 1949) e a homogeneidade de variâncias dos tratamentos, por meio do teste de Burr & Foster (1972). As análises conjuntas serão realizadas em rotinas ge-

radas no programa SAS® versão 9.1.3. (SAS / STAT, 1999), com as médias analisadas pelo teste de Tukey.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Encontram-se na tabela 2 o resumo da análise variância para a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2019-2020. Houve significância para todas as características analisadas.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Causas da variação	GL	Quadrado médio						
		%EG	NEE	NAES	NE+AE	%CB	%P	%C
Trat.	3	1257,60 **	2.872**	0,29**	4,93**	678,93**	348,53**	2483.78**
Resíduo	16	11,20	0,06	0,054	0,15	12,40	5,60	16,07
Total	19							
CV (%)		5,07	10,43	16,44	10,38	17,43	19,40	9,81

*teste f significativo a 5%; ** não significativo.

Fonte: A autora (2021).

As características que apresentaram significância foram desdobradas e estão apresentadas na tabela 3. A porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE) e número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE) apresentaram a mesma tendência estatística, onde a testemunha apresentou o maior valor de média para todas essas características. O tratamento com associação de *Trichoderma* + *Bacillus* apresentou o menor valor para escleródio germinado (%EG), e para o número de estirpe por escleródio (NEE) apresentou a mesma tendência estatística que o tratamento *Bacillus*. Nas outras variáveis a associação de biológicos se sobressaiu em relação aos demais. Os tratamentos *Trichoderma* e *Bacillus* apresentaram valores intermediários.

Tabela 3 – Médias da porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%EG	NEE	NAES	NE+AE
Testemunha	92,80 a	3,51 a	1,73 a	5,25 a
<i>Trichoderma</i>	64,80 b	1,99 b	1,40 ab	3,42 b
<i>Bacillus</i>	63,20 b	2,00 b	1,41 ab	3,42 b
Assoc. biol.	48,80 c	2,00 b	1,14 b	3,05 b
C.V. (%)	5,07	10,43	16,44	10,38

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2021).

A utilização de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* com potencial de controle biológico já vem sendo demonstrados em diversos estudos no controle de *S. sclerotiorum* (ARAUJO *et al.*, 2005; HADDAD *et al.*, 2017).

Os diversos mecanismos de ação contra os fitopatógenos e o fato de não serem patogênicos às plantas, são características que tornam as espécies do gênero *Trichoderma* atraentes como agentes de controle de biológico (HADDAD *et al.*, 2017). Menendez e Godeas (1998) observaram que em campo, as plantas tratadas com *T. harzianum* sobreviveram 40% a mais do que as não tratadas, além de observarem redução de 62,5% no número de escleródios germinados na parcela tratada com *Trichoderma*.

Ainda Carvalho *et al.* (2014) avaliaram em condições de campo, a eficiência de diversos isolados de *Trichoderma* para o manejo de *S. sclerotiorum* em duas safras de feijão, os isolados mais eficazes foram capazes de reduzir de 46 a 62% a germinação dos apotécios. Também Chagas *et al.* (2017) mostrou que tratamentos com utilização de *Trichoderma asperellum* foram superiores em relação à testemunha nas culturas da soja, arroz, feijão-caupi e milho.

A bactéria *Bacillus subtilis*, descritas como rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCP), agem contra o mofo branco por antibiose em soja, uma vez que produzem antibióticos, enzimas e fitohormônios como AIA e AIB (ácido indolbutírico) auxiliares às plantas (ARAUJO *et al.*, 2005).

Quando comparado as formas de ação dos agentes de biocontrole, em relação ao incremento de biomassa, Chagas *et al.* (2017) concluíram que *Trichoderma* é mais eficaz na cultura da soja que o uso de *Bacillus subtilis*, embora Tavanti *et al.*

(2020) tenha encontrado maior índices produtivos e germinativos em sementes de soja inoculadas com as estirpes *Bacillus subtilis* Pant0001 e QST713.

Assim, observou-se neste estudo que a associação desses microorganismos, como ocorre no tratamento com associação de *Trichoderma* + *Bacillus*, potencializa os efeitos, havendo um sinergismo e com isso melhorando o potencial de biocontrole. Sendo assim, Stockwell *et al.* (2011) afirmaram que formulações contendo vários organismos podem ser mais eficientes em controlar doenças de plantas que aquelas com apenas um.

De acordo com a Tabela 3, quanto ao parâmetro número de apotécio por escleródio (NAES), o tratamento com associação de *Trichoderma* + *Bacillus* foi o único a se diferenciar significativamente da testemunha, obtendo a menor média. O tratamento controle apresentou ainda maior valor para o número de estirpe+apotécio por escleródio (NE + AE). Em tempo seco, o progresso da doença pode ser retardado ou paralisado, mas é retomado em condições de alta umidade (GÖRGEN *et al.*, 2009). Contudo os fungos *Trichoderma* spp. necessitam de umidade para germinar, logo o experimento foi realizado em condições ótimas para a ação deste microorganismo, favorecendo o tratamento em que há associação (MEYER *et al.*, 2010). Esses resultados de melhor eficiência da associação de *Trichoderma* com *Bacillus* provavelmente se deva a maior espectro de ação dos agentes biológicos, os quais podem agir por competição, micoparasitismo e antibiose (MONTE, *et al.*, 2019; WOO *et al.*, 2014; ROMEIRO, 2005).

As médias da porcentagem de colonizados em biocontrole (%CB) e porcentagem de podre (%P) foram significativas, onde todos os tratamentos se diferiram positivamente em relação à testemunha (Tabela 4). A avaliação da porcentagem controle (%C) foram favorecidas pelo tratamento de associação dos microorganismos, enquanto a maior porcentagem de podre (%P) foi observado no tratamento com associação de *Trichoderma* + *Bacillus* e no tratamento com *Bacillus subtilis*.

Tabela 4 – Médias da porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2019-2020 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%CB	%P	%C
Testemunha	6,40 c	0,80 c	7,2 c
<i>Trichoderma</i>	24,00 b	11,20 b	32,80 b
<i>Bacillus</i>	18,40 b	17,60 a	36,00 b
Assoc. biol.	32,00 a	19,20 a	51,20 a
C.V. (%)	17,43	19,40	9,81

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2021).

A associação de *Bacillus subtilis* com outros fatores e/ou micro-organismos contribui para uma agricultura ecologicamente sustentável. Tal prática também é benéfica quando avaliados aspectos fisiológicos, uma vez que se libera auxina na presença deste micro-organismo, fator essencial quando se acidifica a parede celular e inicia-se o processo de emergência em sementes (LANNA FILHO *et al.*, 2010). A inoculação de *Bacillus subtilis* pode ainda proporcionar maiores índices de clorofila nas folhas e consequente potencialização dos processos fotossintéticos (COSTA *et al.*, 2019). Araújo (2008), ao associar esta rizobactéria com farinha de ostras observou que a emergência de plântulas de soja e algodão foi potencializada. Além disso, a associação desta bactéria pode ainda favorecer aspectos produtivos, como observado na combinação de *Azospirillum* + *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* em soja (SCHWAAB e AGUIAR, 2019).

O resumo da análise de variância do segundo ciclo (2020/2021) encontra-se na tabela 5, onde avaliou-se a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P) e porcentagem controle (%C). Houve significância para todas as análises realizadas, com exceção para a razão entre número de estirpe+apotécio e escleródio (NE + AE).

Tabela 5 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Causas da variação	GL	Quadrado médio						
		%EG	NEE	NAES	NE+AE	%CB	%P	%C
Trat.	3	483,20**	0,36*	0,43**	0,76 ns	694,13**	124,53**	1578,46**
Resíduo	16	21,60	0,07	0,07	0,27	22,40	8,40	24,05
Total	19							
CV (%)		7,59	15,39	16,46	14,78	20,94	22,29	10,83

*teste f significativo a 5%; ** não significativo.

Fonte: A autora (2021).

As análises que evidenciaram significância foram desdobradas e apresentadas na tabela 6. Assim como nos resultados do ciclo de 2019/2020, as análises seguiram tendências semelhantes para porcentagem de escleródio germinado (%EG) e número de estirpe por escleródio (NEE), onde a testemunha foi responsável pelas maiores médias, indicando a eficiência dos tratamentos com micro-organismos antagonistas como alternativas no controle biológico em soja. Para o número de apotécio por escleródio (NAES) também não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

As bactérias antagonistas do patógeno causador do mofo branco se destacam por agir com diferentes mecanismos de ação como a antibiose, a indução a resistência, o parasitismo ou através da junção destes mecanismos, sendo esses, *Pseudomonas* e *Bacillus* e as RCPC mais utilizadas como alternativas de biocontrole (DURÉ *et al.*, 2018). A ação do *Trichoderma* spp., por sua vez, depende de condições edafoclimáticas favoráveis para atingir seu máximo potencial no controle de fitopatógenos, o que dificulta uma padronização nos resultados de eficácia no controle biológico de *S. sclerotiorum* (MEYER *et al.*, 2016). Desta forma, os resultados encontrados neste trabalho demonstram que os micro-organismos utilizados nas sementes de soja estavam em condições favoráveis de ambiente e de fato agiram de forma interespecífica nos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, diminuindo os efeitos negativos do patógeno.

Tabela 6 – Médias da porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de es tirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), número de estirpe+apotécio/escleródio (NE+AE), avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%EG	NEE	NAES	NE+AE
Testemunha	85,60 a	2,14 a	1,64 ab	3,79 a
<i>Trichoderma</i>	60,80 b	1,69 ab	1,40 b	3,30 a
<i>Bacillus</i>	62,40 b	1,50 b	1,63 ab	3,13 a
Assoc. biol.	45,0 c	1,84 ab	2,10 a	3,95 a
C.V. (%)	7,59	15,39	16,46	14,78

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2021).

Não houve diferenciação na variável escleródio germinado (%EG) entre os tratamentos *Trichoderma* e *Bacillus* sendo assim, obtiveram porcentagem semelhantes. Porém, para essa variável o tratamento de associação de biológicos diferiu-se significativamente dos demais tratamentos, se destacando com a menor média.

Quando testados *in vitro*, o *Trichoderma asperellum* colonizou e produziu esporos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* enquanto *Bacillus subtilis* mostrou-se eficiente no controle desse patógeno, porém não impediu a formação de escleródios, levando em consideração os metabólicos tóxicos voláteis dos antagonistas como modo de ação (GABARDO *et al.*, 2020). Os resultados deste ensaio, realizado em campo, mostrou que ambos os tratamentos pelo fungo ou pela bactéria foram eficientes e que a associação destes promove um efeito ainda melhor no biocontrole.

A associação de fungos e bactérias no tratamento de produtos à base de associação de *Trichoderma* + *Bacillus* promoveu ainda, de acordo com a Tabela 7, maior porcentagem de escleródios colonizados em biocontrole (%CB) e porcentagem controle (%C). Além disso, este tratamento e o tratamento com *Bacillus* se mostraram mais eficientes em porcentagem de podres (%P).

Tabela 7 – Médias da porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%CB	%P	%C
Testemunha	6,40 c	8,00 b	14,40 c
<i>Trichoderma</i>	29,60 ab	9,60 b	39,20 b
<i>Bacillus</i>	21,60 b	16,00 a	37,60 b
Assoc. biol.	36,00 a	18,40 a	54,40 a
C.V. (%)	20,94	22,29	10,83

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: A autora (2021).

O uso de palhada, como feito neste experimento, favorece a utilização de controle biológico na cultura da soja, pois os agentes de biocontrole são sensíveis às condições ambientais e dependentes de alta umidade no solo e pouca incidência de luz solar (MEYER *et al.*, 2019). Segundo Paula Júnior *et al.*, 2006 a rotação com plantas pertencente à família *Poaceae* (*Gramineae*) como é o caso da Aveia Preta é de grande importância pois essa não é suscetível ao patógeno, com isso quando o mesmo completar o seu ciclo a cultura não irá sofrer por não ser suscetível. Em soja, Görden *et al.*, (2009) observaram que a cobertura do solo com palhada de *Brachiaria ruziziensis* foi eficiente no controle de apotecios de *S. sclerotiorum* e a utilização dessa palhada e a aplicação de *Trichoderma harzianum* cepa 1306 aumentou o número de escleródios de *S. sclerotiorum* parasitados por *Trichoderma*. Além disso, os autores perceberam que a aplicação de *Trichoderma harzianum* 1306 nas doses de 0,5 e 1 L ha⁻¹ aumentou o rendimento da soja e o parasitismo de escleródios, com redução da incidência do mofo-branco.

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que nos dois anos de avaliações *Trichoderma harzianum* isolado URM 8119 e *Bacillus subtilis* linhagem QST 713 tiveram efeito de biocontrole sobre *S. sclerotiorum*, com médias de controle de 36,4%, não diferindo entre si quanto a eficiência de controle, no entanto, quando utilizou-se a associação de *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901 demonstrou maior eficiência de controle de *S. sclerotiorum*, com média de 52,8%, comprovando que houve um sinergismo entre os agentes biológicos.

REFERÊNCIAS

- ALMANÇA, M. A. K. Aspectos da interação arroz - *Trichoderma* spp. em solos alagados. 2008. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- ALVAREZ, F. *et al.* The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP218 and ARP23 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of *sclerotinia* stem rot disease. **Journal of Applied Microbiology**, Bedford, v.112, n.1, p.159-174, 2012.
- ARAUJO, F. F. *et al.* Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639-1645, 2005.
- ARAUJO, F.F. *et al.* Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.3, p.521-527, 2012.
- ARAUJO, F. F. de. Inoculação de Sementes com *Bacillus Subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, mar./abr., 2008.
- BALARDIN, R.S. **Doenças da soja** Santa Maria: Ed. Autor, 2002. 107p.
- BARROS H. B. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja, no estado do Mato Grosso. **Bioscience Journal** - ISSN 1981-3163 , 25(3) (2009). Retrieved from <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6932>. Acesso em 22/04/2021.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. **Controle Biológico**. In Manual de Fitopatologia, Princípios e conceitos. 3ª ed. São Paulo, Agronômica Ceres, v. 1, p. 717-728, 1995.
- BENITEZ, T. *et al.* Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. **International Microbiology**. v.7, p.249-260, 2004.
- BOLTON, M.D. *et al.* *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v.11, p.1-16, 2006.
- BURR, I.W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo Series, 282).
- CARVALHO, C.G.P. *et al.* Correlações e análise de trilha em linhagens de soja semeadas em diferentes épocas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.311-320, 2002.
- CARVALHO, D. D. *et al.* Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp.

phaseoli by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 384-391, 2014.

CHAGAS, L. F. B. *et al.* *Bacillus subtilis* *Trichoderma* sp. no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Agri-environmental sciences**, v. 3, n. 2, p. 10-18, 2017.

CAMPOS SILVA, J. R. *et al.* Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St Paul: APS, 1983. 539 p.

CONAB. **Acompanhamento safra brasileira de grãos**, v. 8– Safra 2020/21, n.7 - Sétimo levantamento, Brasília, p. 1-116, abril 2021.

COSTA, J.A. **Cultura da Soja**. Porto Alegre. Evangraf. 1996. 233p.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura. **Química Nova**, v.23, p. 4, 2000.

COSTA, L. C. *et al.* Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*. **Nativa**, v. 7, n. 2, p. 126-132, 2019.

COSTAMILAN, L. M. O sistema plantio direto e a doenças de soja e de feijão na Região Sul do Brasil. (Documentos *Online*. Embrapa Trigo, 1) 1999. Disponível em: 37<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do01.htm>. Acesso em: 15/04/2021.

DOMSCH, K. H. *et al.* **Compendium of soil fungi**. 2nd ed. Eching: IHW-Verlag, 2007. 672 p.

DURÉ, L. M. M. *et al.* Seleção e prospecção de rizobactérias para o controle biológico do mofo branco em espécies de *Crotalaria* spp. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 22, n. 2, p. 90-96, 2018.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil. 2004. A soja no Brasil**. Disponível em <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em Maio de 2019.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja- Região Central do Brasil 2001/2002**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Londrina: EMBRAPA SOJA, p. 267, 2001.

EMBRAPA. **Tecnologias da Produção da Soja- Região Central do Brasil-2008**. Londrina: EMBRAPA Soja, EMBRAPA Cerrados- EMBRAPA Agropecuária Oeste, 280 p. 2008.

FERREIRA, J. H. S. *et al.* Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 3, p. 238-287, 1991.

FILHO, R. L.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas** V. 4, N. 2, p. 12, 2010. Disponível em: <<http://www.periodicoeletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/viewFile/145/96>>. Acesso em Maio de 2019.

FRANZONI, M. Dessecação de Soja para Colheita Escala Fenologica, 2019. Disponível em: <<https://blog.aegro.com.br/desseccacao-de-soja-para-colheita/3-desseccacao-de-soja-para-colheita-escala-fenologica/>> . Acesso em Fevereiro de 2019.

GABARDO, G. *et al.* *Trichoderma asperellume* *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, Á. F. dos; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 12, 2000.

GORGEN, C. A. *et al.* Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.12, p.1583-1590, dez. 2009.

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. (Ed.). Compendium of soybean diseases and pests. 5. ed. St. Paul, MN: **American Phytopathological Society**, 2015. p.59-62.

HARIKRISHNAN, R.; DEL RÍO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**, v.90, p.946-950, 2006.

HENNING, A. A. **Patologia e tratamento de sementes**: noções gerais. 2.ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264).

HENNING, A. A. Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 19, n. 3., p. 9-12. 2009.

HENNING, A. A. *et al.* MANUAL DE IDENTIFICAÇÃO DE DOENÇAS DA SOJA. Embrapa, Documentos, n. 256, ed. 5, 2014. Disponível em: <

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105942/1/Doc256-OL.pdf> >, acesso em: 16/04/2021.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. O Agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. **Londrina: Embrapa Soja**, p. 9-15, 2014.

HOFFMANN-CAMPO, C. B. *et al.* **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa soja, 2000.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 9, p. 615-631, 2009.

JOLY, A. B.; LEITÃO FILHO, H. F. **Botânica econômica: principais culturas brasileiras**. São Paulo: HUCITEC-EDUSP, 1979, 114p.

LANNA FILHO, R. *et al.* Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica**. v. 4, n.2, p.12-20, 2010.

LOPES, A.S.; GUILHERME, R.G. Fertilidade do Solo e Produtividade Agrícola. **Fertilidade do Solo**, Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.

LOBO JÚNIOR, M. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma spp.*, na cultura do feijoeiro comum**. Goiás, Go: Embrapa, 2009.

LOBO JUNIOR, M. *et al.* **Uso de braquiárias para o manejo de doenças causadas por patógenos habitantes do solo**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. 8 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado técnico, 183).

LOPES, E. B. *et al.* Mancha-marrom-de alternaria: uma grave doença nos pomares de tangerina da Paraíba. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 3, p.23-27, set. 2009.

MACHADO, V. *et al.* Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematoides. **Oecologia Australis**. v. 16, n. 2 , jun. 2012.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Encarte técnico**. 2016. Disponível em:

[http://www.ipni.net/publication/iabrasil.nsf/0/6C803EB334A9440E83257AA2005A8E45/\\$FILE/Encarte106.pdf](http://www.ipni.net/publication/iabrasil.nsf/0/6C803EB334A9440E83257AA2005A8E45/$FILE/Encarte106.pdf). Acesso em: 28/03/2021.

MENENDEZ, A.B.; GODEAS, A. Controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* atacando plantas de soja. Degradação das paredes celulares deste patógeno por *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). **Mycopathologia**, v.142, p.153-160, 1998.

MEYER, M.C. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2015/2016**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2016.

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. Circular Técnica 133, Londrina, PR, Setembro, 2017.

MEYER, M. C. *et al.* **Eficiência De Fungicidas Para Controle De Mofo-Branco (*Sclerotinia Sclerotiorum*) Em Soja, Na Safra 2017/18**: Resultados Sumarizados Dos Ensaios Cooperativos. Embrapa, Circular Técnica, n. 140, 2018. Disponível em:

< https://www.researchgate.net/profile/Juliatti_Cezar/publication/327228733_Eficiencia_de_fungicidas_para_controle_de_mofobranco_Sclerotinia_sclerotiorum_em_soja_na_safra_201718_Resultados_sumarizados_dos_ensaios_cooperativos/links/5bfd250f299bf10737f9e61b/Eficiencia-de-fungicidas-para-controle-de-mofo-branco-Sclerotinia-sclerotiorum-em-soja-na-safra-2017-18-Resultados-sumarizados-dos-ensaios-cooperativos.pdf >. Acesso em: 14/04/2021.

MEYER, M. C. *et al.* Influência do nível de água no solo sobre a germinação carpo-gênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35 p. S153, 2010.

MEYER, M.C, Campos HD, Godoy CV *et al.* (2019) Mofo-branco em soja – ensaios cooperativos. *In*: Meyer MC, Mazaro SM, Silva JC (eds) **Trichoderma uso na agricultura**. Brasília, Embrapa, [s.d.]. p. 417 - 432.

MEYER, M. C. **Eficiência de Fungicidas para Controle de Mofo-Branco (*Sclerotinia Sclerotiorum*) em Soja, na Safra 2019/2020**: Resultados Sumarizados dos Experimentos Cooperativos. Embrapa, Circular Técnica, n. 165, 2020. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/217684/1/Circ-Tec-165.pdf> >, acesso em: 16/04/2021.

MONTE E, BETTIOL W, HERMOSA R (2019) *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. *In*: Meyer MC, Mazaro SM, Silva JC (eds) **Trichoderma uso na agricultura**. Embrapa, Brasília, pp 181-199.

NAUTIYAL, C.S. *et al.* Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Versailles, v.66, p.1-9, 2013.

NEIS, T. **Manejo de lavouras de soja visando alta produtividade e qualidade de sementes**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 30 p. 2018.

OTAVIO, P. *et al.* Biocontrole de mofo branco em soja com *Bacillus* spp. XLI de Fito-patologia. **Summa Phytopathologica**, v. 14, Botucatu, São Paulo, 2018.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. A. B.; CARNEIRO, J. E. S.; ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado do mofo-branco do feijoeiro**. Viçosa – MG: Epamig, 2006. 48p.

POMELLA, A. W. V. RIBEIRO, R. T. da S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. 1ª ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

PORTO, B. L. **Avaliação do Potencial de controle biológico da mancha marrom de alternaria com *Trichoderma Spp.*, *Bacillus Subtilis* e fertilizante organomineral**. Mestrado (Dissertação) - Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2017.

RIBEIRO, T. da S. **O fungo *Trichoderma spp.* no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas**. 35 f. Monografia (Especialização) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas**. Viçosa-MG: UFV, 2005. 417 p.

SFREDO, G., J.; OLIVEIRA, M. C. N. Soja Molibdênio e Cobalto. **Embrapa Soja**, Londrina, PR, 2010. - (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; 322).

SEDIYAMA, T. *et al.* Origem da soja e expansão no Brasil, econômicos e perspectiva. In: SEDIYAMA, *et al.* (Ed). **Soja do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, 2015.

SAS/STAT® **Versão 9.1.3 do sistema SAS para Windows**, copyright© 1999-2001 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, Oxford, v. 52, p. 591-611, 1965

SAMUELS, G. J. *et al.* *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.

SANTIN, R. C. M. **Potencial do uso dos fungos *Trichoderma spp.* e *Paezilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SCHWAAB, E. F.; DE AGUIAR, C. G. Interação de inoculantes nitrogenados com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* em soja. **Revista Cultivando o Saber**, p. 24-32, 2019.

SHORESH, M.; *et al.* Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203.

Phytopathology, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.

TAVANTI, T. R. *et al.* Yield and quality of soybean seeds inoculated with *Bacillus subtilis* strains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 1, p. 65-71, 2020.

TUKEY, J. W. One degree of freedom for non-additivity. **Biometrics**, Washington, v. 5, p. 232-242, 1949.

WOO, S. L. *et al.* *Trichoderma* - based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal** 8: 71 – 126. 2014.

XU, Z. *et al.* Contribution of bacillomycin D in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to antifungal activity and biofilm formation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.79, n.3, p.808-815, 2013.

ZENG, W. *et al.* Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, v.60, n.2, p.225-232, 2012.

ZUCCHI, F. *Trichoderma* spp em áreas cultivadas do cerrado. 2010. *JV Biotecnologia*. Disponível em: <<http://www.agronomianet.com.br/Trichoderma.pdf>>
Acesso em: 16 abr. 2021.