

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

CAROLINE APARECIDA DA ROCHA

**POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* E *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DE
Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary NA CULTURA DA SOJA (*Glycine L. max*) E
INTERFERÊNCIA DA COBERTURA VEGETAL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2020

CAROLINE APARECIDA DA ROCHA

POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* E *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary NA CULTURA DA SOJA (*Glycine L. max*) E INTERFERÊNCIA DA COBERTURA VEGETAL

Trabalho de conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de conclusão de curso II, do Curso Superior de Agronomia - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de engenheira agrônoma.
Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro.



TERMO DE APROVAÇÃO

POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* E *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary NA CULTURA DA SOJA (*Glycine L. max*) E INTERFERÊNCIA DA COBERTURA VEGETAL

Por

CAROLINE APARECIDA DA ROCHA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado (a) em 18 de junho de 2020 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a). O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Sergio Miguel Mazaro
Prof.(a) Orientador(a)
UTFPR – Dois Vizinhos

Carlos Alberto Casali
Membro titular
UTFPR – Dois Vizinhos

Maira Schuster
Membro titular
UTFPR – Dois Vizinhos

Angélica Signor Mendes
Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso

Alessandro Jaquiel Waclawovsky
Coordenador(a) do Curso
UTFPR – Dois Vizinhos

RESUMO

ROCHA, C. A. Potencial de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary na cultura da soja (*Glycine L. max*) e interferência da cobertura vegetal. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso II (Curso de Agronomia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2020.

Dentre tantas doenças que acometem a cultura da soja, um dos destaques é o Mofo Branco. Doença causada pelo fungo fitopatogênico de solo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Este fungo, em condições antagônicas ao seu desenvolvimento, forma um aglomerado de hifas que se enrijecem, conhecido por escleródio, sendo a estrutura de sobrevivência do patógeno. Devido à falta de eficiência dos fungicidas sobre os escleródios, faz-se necessário estudos de biocontroles que permitam atingir o patógeno nessa condição. Este trabalho objetivou avaliar o potencial de biocontrole de *T. harzianum* e *B. subtilis* à *S. sclerotiorum*, considerando a interferência de plantas de cobertura. O experimento foi conduzido em campo, sob delineamento experimental de blocos casualizados, em esquema bifatorial, sendo o primeiro fator os agentes de biocontrole com quatro níveis (sem tratamento, com *T. harzianum*, *B. subtilis* e *T. harzianum* associado ao *B. subtilis*) e o segundo fator, com dois níveis (presença e ausência de palhada) em 4 repetições. Os escleródios foram dispostos em saquinhos telados de náilon contendo 45 escleródios, dispostos nas entrelinhas da cultura da soja, no estágio fenológico V4, sendo as entrelinhas com palhada de gramíneas e com solo descoberto, conforme os tratamentos. Os tratamentos ocorreram por pulverização dos biocontroladores em condição de solo úmido no final da tarde, sendo as doses aplicadas conforme recomendação dos fabricantes, com volume de calda de 200 L/ha⁻¹. Após 20 dias de aplicação dos biocontroladores, os escleródios foram retirados do campo e levados para análise de viabilidade em laboratório, onde realizou-se a avaliação após 20 dias de incubação. Desta forma, avaliou-se germinação carpogênica dos escleródios (número de escleródios germinados); o número de apotécios; escleródios colonizados pelos biocontroladores e escleródios degradados ou podres. Os resultados demonstraram que os agentes de controle biológico *T. harzianum* e *B. subtilis* possuem eficiência no controle de *S. sclerotiorum*, e que a associação dos agentes de controle com condições de palhada, resultam em menor número de escleródios viáveis melhorando a eficiência do biocontrole.

Palavras-chave: controle biológicos, controle alternativo, escleródios, mofo branco.

ABSTRACT

ROCHA, C. A. Potential of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in the control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary in the soybean crop (*Glycine L. max*) and interference of the vegetal cover. 30 s. Course Completion Work II (Agronomy Course) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2020.

Among so many diseases that affect the soybean crop, one of the highlights is the White Mold. Disease caused by the soil phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) By Bary. This fungus, in conditions antagonistic to its development, forms a cluster of hardening hyphae, known as sclerotium, being the pathogen's survival structure. Due to the lack of efficiency of the fungicides on the sclerotia, studies of biocontrols are necessary to allow reaching the pathogen in this condition. This work aimed to evaluate the biocontrol potential of *T. harzianum* and *B. subtilis* to *S. sclerotiorum*, considering the interference of cover crops. The experiment was conducted in the field, under a randomized block design, in a bifactorial scheme, the first factor being the biocontrol agents with four levels (without treatment, with *T. harzianum*, *B. subtilis* and *T. harzianum* + *B. Subtilis*) and the second factor, with two levels (presence and absence of straw) in 4 repetitions. The sclerotia were arranged in meshed nylon bags containing 45 sclerotia, placed between the lines of the soybean crop, in the phenological stage V4, with the lines between grass straw and bare soil, depending on the treatments. The treatments were carried out by spraying the biocontrollers in a wet soil condition in the late afternoon, with the doses applied as recommended by the manufacturers, with a spray volume of 200 L/ha⁻¹. After 20 days of application of the biocontrollers, the sclerotia were removed from the field and taken for feasibility analysis in the laboratory, where the evaluation was carried out after 20 days of incubation. Thus, it was evaluated carpogenic germination of sclerotia (number of germinated sclerotia); the number of apotheciums; sclerotia colonized by biocontrollers and degraded or rotten sclerotia. The results demonstrated that the biological control agents *T. harzianum* and *B. subtilis* are efficient in controlling *S. sclerotiorum*, and that the association of control agents, with straw conditions, results in a lower number of viable sclerotia improving the efficiency of biocontrol.

Keywords: biological control, alternative control, Sclerotia, white mold

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 MOFO BRANCO NA SOJA (<i>Glycine L. max</i>)	10
2.1.1 Germinação carpogênica e miceliogênica	11
2.2 DIFICULDADES DE CONTROLE E POTENCIAL DE USO DE PRODUTOS DE ORIGEM BIOLÓGICA PARA SUPRESSÃO DE ESCLERÓDIOS DE MOFO BRANCO	12
2.3 <i>Trichoderma harzianum</i>	14
2.4 <i>Bacillus subtilis</i>	14
2.5 COBERTURA VEGETAL NO AUXÍLIO A SUPRESSÃO DE ESCLERÓDIOS E MANUTENÇÃO DE BIOAGENTES	15
3 METODOLOGIA	17
3.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL	17
3.2 DEFINIÇÃO DOS TRATAMENTOS	17
3.3 APLICAÇÕES DOS BIOFORMULADOS EM CAMPO	19
3.4 INOCULAÇÃO DE <i>S. sclerotiorum</i>	20
3.5 AVALIAÇÕES REALIZADAS	21
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5 CONCLUSÕES	26
6 REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

Dentre as culturas de interesse econômico para o Brasil, a soja é a principal. O país é líder na exportação dessa leguminosa produzindo 117 milhões de toneladas em 35,1 milhões de hectares na safra 2017/18 e, a elevada importância conferida a soja se deve ao fato de que -além de gerar renda e grande quantidade de empregos diretos e indiretos, movimentando a economia- possui a maior fonte de proteína destinada a alimentação animal (CONAB, 2018).

A produção dessa *commodity* só não é ainda mais elevada por influência de fatores que afetam o estabelecimento, crescimento e desenvolvimento da cultura. A ausência da inclusão de outras plantas na rotação ou utilização de sistema de sucessão, empobrece o solo de maneira química, física e biológica tornando as plantas mais sensíveis as adversidades. Facilita, dentre tantas ocasiões danosas, também a ocorrência de doenças, com destaque ao Mofo Branco, uma das doenças mais antigas que acometem a cultura da soja (LOBO JUNIOR, 2011).

O Mofo Branco, também conhecido por Podridão Branca ou Podridão da haste de esclerotínia, é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Essa doença é ainda mais agressiva quando se opera com elevado nível populacional de plantas, o que favorece a formação de um microclima propiciando uma instalação mais eficiente do patógeno na cultura. Causador de apodrecimento na região do caule da planta, o fungo possui por sintoma reflexo, lesões iniciais de aspecto encharcado nas folhas que rapidamente evoluem para crescimento micelial de aspecto cotonoso, sintoma típico da doença (GORGEN, 2009).

Relatado como sendo um fungo de solo, *Sclerotinia sclerotiorum* hospeda grande quantidade de plantas. Em condições ambientais adversas, o fungo forma uma estrutura de sobrevivência (escleródio) pequena, rígida e de coloração externa preta, composto por um aglomerado de hifas (LOBO JUNIOR, 2011). As condições edafoclimáticas favoráveis ao desenvolvimento da soja, também propiciam a ocorrência do patógeno, há poucos relatos na literatura referentes a eficiência de métodos de controle químico quando o fungo entra em formação de escleródio.

Há trabalhos na literatura (COSTA e COSTA, 2004) que analisaram, em condições controladas, a eficiência de fungicidas no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* com diferentes princípios ativos e, ainda, pode-se verificar elevadas taxas de inibição na formação de apotécios a partir de escleródios.

É importante salientar que em situação de campo não é comum observar efeitos significativos na contenção de estruturas de resistência pelo uso de químicos, os custos

inviabilizam o processo já que se faz necessário um alto volume de calda para que haja plena cobertura da planta no momento da pulverização.

A atuação biológica no controle de doenças em plantas é uma alternativa ecologicamente correta em relação aos tratamentos com produtos químicos. Por atingir diretamente o alvo, essa forma de controle acontece devido à ocorrência natural nos solos de agentes antagonistas que promovem ação parasitária em fitopatógenos (MACHADO, 2012). É possível manter os bioagentes armazenados compondo produtos comerciais produzidos e disponibilizados por empresas.

Dentre os microrganismos que atuam em antagonismo à *Sclerotinia sclerotiorum*, cita-se especificamente o fungo *Trichoderma harzianum* e a bactéria *Bacillus subtilis*, sendo *Trichoderma* um fungo de vida livre naturalmente encontrado nos solos, também utilizado como bioindutor e biofertilizante. Pode causar sérias injúrias e morte de outros microbiológicos (antibiose), além de promover parasitismo e competição também realiza simbiose em plantas, induzindo-as a resistirem a fitopatógenos (MACHADO, 2012).

Bacillus subtilis é uma bactéria nativa do solo que, além da característica versátil e eficiente em se esquivar das defesas de patógenos, também possui múltiplos mecanismos que efetuam ação antagonica em microrganismos prejudiciais às plantas. Citada também como uma rizobactéria promotora de crescimento de plantas, torna-se viável sua utilização agrônômica. (LANNA FILHO; FERRO e PINHO, 2010).

A presença de cobertura vegetal no solo promove a formação de uma barreira física impedindo a entrada de luz, assim, suprimindo a germinação dos escleródios. Além disso, a barreira física da palhada dificulta a dispersão dos esporos lançados pelos apotécios, estruturas reprodutivas dos escleródios, sendo na sua grande maioria retidos na palhada, e com isso reduzindo a incidência da doença.

Esse manejo cultural também favorece a diversificação e manutenção da microbiota no solo, em especial os agentes antagonistas a fitopatógenos, por manter a umidade e evitando sua desidratação (FELLER, 2014).

São poucos os estudos acerca da eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* considerando a presença de cobertura vegetal, sendo que pode ser um fator determinante na estabilização dos agentes de biocontrole, e com isso possibilitar maior eficiência dos mesmos. Ainda, os estudos realizados apresentam o potencial desses biocontroladores, no entanto, não consideram o uso associado, o que pode haver um sinergismo, e possibilitar maior eficiência.

Neste sentido, o objetivo foi avaliar o potencial dos biocontroladores quanto a germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*, a interferência da cobertura vegetal quanto a eficiência dos biocontroladores, e o potencial do uso isolado e conjunto dos biocontroladores sobre o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MOFO BRANCO NA SOJA (*Glycine L. max*)

O Mofo Branco é uma fitopatologia causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Essa doença hospeda mais de 400 espécies de plantas, sendo a maior parte eudicotiledôneas. Dentre as culturas que sofrem supressão pela ação do fungo, inclui-se a soja *Glycine L. max*. Cultura de grande importância comercial, a soja é a leguminosa mais produzida em nível global e altamente susceptível a *Sclerotinia sclerotiorum* (OLIVEIRA, 2011; CONAB, 2018).

De acordo com Pelizzaro (ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 2012), nas décadas de 80 e 90 a presença de Mofo Branco nas áreas brasileiras era fraca ou não havia. Com o passar do tempo verificou-se uma presença recorrente ampliando-se de tal modo que acabou sendo encontrado em regiões em que, até o dado momento, não havia indícios da doença. Justamente, pelas condições edafoclimáticas serem desfavoráveis ao seu desenvolvimento, assim, o Mofo Branco passou a causar prejuízos significativos na soja a partir da safra 2005/2006. Uma das situações que mais preocupam os profissionais das agrárias é que se tem notado maior severidade da doença em áreas de maior altitude, e solos de elevada fertilidade e potencial produtivo.

Algumas gramíneas não são susceptíveis ao Mofo Branco, porém o controle cultural por rotação de culturas não é comum pelo fato do patógeno atingir amplo espectro de plantas (OLIVEIRA, 2011) e, muitos produtores levam em consideração o valor monetário que deixam de receber ao retirar a soja da área e incluir outra cultura de menor retorno econômico.

Segundo Klenki (ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 2012), uma alternativa na utilização de gramíneas para controle do fungo é como cobertura vegetal em pré-semeadura, associando-se à outras práticas como a utilização do bioagente *Trichoderma* na cultura principal e nas subsequentes, para reduzir o dano e proporcionar um melhor convívio com a doença na área. Por ser um fungo subordinado às épocas chuvosas, altitudes elevadas superiores a 700 metros com alta umidade do solo e temperaturas amenas, condições que também favorecem a cultura de soja; o seu grau de severidade acaba tornando-se variável conforme as safras (CAMPOS *et al.*, 2010).

A alta demanda do mercado global por soja para atender o consumo humano e animal, tem levado os produtores a realização de monocultura interferindo em uma efetiva utilização de rotação de culturas no sistema produtivo. Isso proporciona um aumento de maquinários

para atender a colheita mecanizada em tempo hábil, levando o produtor a contratar máquinas e, muitas vezes, sem a preocupação com a devida limpeza dos equipamentos. Outro problema é o fato de não se conseguir prever a possível presença da doença e, a mesma ocorrer em situações contínuas de chuvas limitando possíveis entradas para realizar a pulverização (KLENKI; ASCARI; em ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 2012).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fungo nativo do solo e causador de doenças em plantas e cerca de 90% do seu ciclo é realizado no solo, faz parte da família Sclerotiniaceae, da ordem Helotiales, filo Ascomycota. É o agente causal da doença conhecida por Podridão da Haste de Esclerotínia, Podridão Branca, ou ainda, Mofo Branco (OLIVEIRA, 2011). Há incidência em muitos países, principalmente nos de clima temperado e subtropical, sendo assim, de acordo com a preferência do fungo por esse clima, sua presença se torna mais comum na região sudeste e sul do Brasil (KIMATI, 1997).

Causador de tombamento em pré e pós-emergência devido ao contato das várias toxinas do fungo, esse patógeno promove o apodrecimento dos órgãos da planta tanto no colo como na parte aérea, com destaque a haste principal, causando, a princípio, sintoma reflexo na junção do ramo com o pecíolo normalmente no terço médio da planta logo passando às folhas (MEYER *et al.*, 2018).

De aspecto de murcha, evolui rapidamente para uma condição semelhante a encharcamento e, logo transformando-se em uma intensa cobertura micelial branca caracterizando o nome da doença, que lembra algo como o algodão. Quando não controlada, pode-se observar a necrose da haste principal, flores, vagens e folhas (LOBO JUNIOR, 2011).

Na ausência de plantas hospedeiras na área, ou quando as condições não são favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, o mesmo forma um aglomerado de hifas inicialmente brancas e que se tornam escuras (devido a presença de melanina que confere menor índice de permeabilidade o protegendo de agentes antagonistas), enrijecidas, coloração interna esbranquiçada e de pequeno tamanho com forma irregular, sendo reconhecida como a estrutura de sobrevivência de *Sclerotinia sclerotiorum* (VENTUROSOSO *et al.*, 2014).

Essa estrutura de sobrevivência possui acúmulo de reservas tornando possível a permanência do patógeno na área por longos períodos de tempo até que haja situação adequada para que produza micélios ou apotécios, alastrando-se para as plantas através de micélios ou ascósporos (KIMATI, 1997; ETHUR *et al.*, 2014).

2.1.1 Germinação carpogênica e miceliogênica

Quando o fungo, em situação de repouso, encontra hospedeiros susceptíveis e condições ambientais adequadas ele germina de forma carpogênica ou miceliogênica. A germinação miceliogênica ocorre a partir de pequenos poros na superfície da estrutura formando micélios brancos de aspecto algodinoso sobre o escleródio que penetram diretamente nos tecidos da planta. Essa forma de infecção dificilmente ocorre a ponto de provocar epidemias na área de plantio (GORGEN, 2009; BRUSTOLIN, 2012).

Chama-se germinação carpogênica quando, a partir do escleródio, emite-se estipes seguidas da formação de apotécios com ascas que produzem milhares de ascósporos, sendo uma parte muito importante do ciclo de vida de *S. sclerotiorum* e a principal fonte de infecção do Mofo Branco. Por ser uma estrutura de sobrevivência em que se permanece dessa maneira até as condições se tornarem favoráveis ao fungo, esse tipo de germinação é altamente dependente do ambiente, como a temperatura, luminosidade e umidade do solo, condições essenciais também para germinação, emergência e desenvolvimento da cultura da soja (NAPOLEÃO *et al.*, 2007).

Por necessitar de ação luminosa direta, Silva *et al.* (2011) discutem o comportamento do escleródio ao levar várias semanas para germinar quando submetido a condições de baixa incidência solar e que sob condições adequadas de luz a emissão de apotécios ocorre de forma mais rápida, em poucos dias. Parte-se do pressuposto de que a germinação carpogênica não tenha sido inibida devido à ausência de luminosidade (VENTUROSO *et al.*, 2014).

2.2 DIFICULDADES DE CONTROLE E POTENCIAL DE USO DE PRODUTOS DE ORIGEM BIOLÓGICA PARA SUPRESSÃO DE ESCLERÓDIOS DE MOFO BRANCO

As dificuldades de controle dos escleródios do Mofo Branco já começam na aquisição de sementes em que não ocorrem o devido cuidado fitossanitário, podendo vir contaminadas com micélios ou ainda conterem escleródios junto aos lotes, comprometendo a qualidade sanitária destas e, promovendo a entrada facilitada da doença na lavoura (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

Por não existirem comercialmente materiais vegetais resistentes a esse fungo de solo, é importante ressaltar que para haver eficiência no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, deve-se associar práticas de manejo às táticas agronômicas. Tendo consciência de que o melhor manejo sempre será o preventivo garantindo a sanidade dos implementos e maquinários antes de introduzi-los nas áreas e, adquirindo sementes de qualidade oriundas de vendedores idôneos (PEREIRA *et al.*, 2013).

Pereira *et al* (2013) debatem acerca da ineficiência de práticas isoladas no controle de Mofo Branco na soja. Dificuldade essa que pode ser atribuída a ampla gama de espécies vegetais em que esse fungo é considerado patogênico, ausência de rotação de culturas com plantas não susceptíveis, a capacidade que o fungo tem em permanecer no campo por longos períodos devido a formação de estrutura de repouso. Cita-se também o grande volume de calda nos tanques de pulverização para que os fungicidas proporcionem boa cobertura das plantas, o que inviabiliza muitas vezes o processo pelos altos gastos com produtos fitossanitários, combustível e a mão-de-obra que o produtor pode não dispor no momento.

A tomada de decisão predominante quanto ao manejo do Mofo Branco é aquela em que envolve pulverizações com fungicidas químicos. Barbosa e Gonzaga (2012) explicam que a eficiência dos fungicidas sobre fungos de parte aérea não pode ser levada em consideração quando se trata de fungos de solo, pois devido à alta taxa de sobrevivência do patógeno na lavoura em ausência de hospedeiros, a eficiência dos fungicidas é minimizada.

Pela baixa ou inexistente toxidez, o controle biológico é uma ferramenta que vem obtendo realce devido aos cuidados com o meio ambiente. Pode-se ser utilizada como complementar, alternativa ou parte de um sistema que alia práticas para erradicar doenças ou, no caso, melhorar a convivência com o Mofo Branco. Proporcionando diminuição da sua incidência na área de tal forma que não provoque danos significativos. Tem-se buscado estratégias que tornem mínima a utilização de agroquímicos nas lavouras e, uma das alternativas para a devida aplicabilidade do biocontrole é a utilização de bioformulados (BARBOSA e GONZAGA; PARZIANELLO, 2012).

Os produtos formulados obtiveram utilização expressiva nas áreas de plantio em decorrência dos altos custos de agrodefensivos de origem química, e por apresentarem alto potencial de controle de fungos de solo, incluindo *Sclerotinia sclerotiorum* (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

Ainda segundo Barbosa e Gonzaga (2012), os produtos comerciais de origem biológica armazenam organismos vivos para posterior aplicação, compondo maiores concentrações do que aquelas que ocorrem naturalmente, demonstrando efetividade no manejo de fitopatologias na lavoura e baixa agressividade à natureza. Com a devida preocupação com os ecossistemas e a crescente solicitação por parte dos consumidores por alimentos ausentes de resíduos químicos, torna-se indispensável o conhecimento agrônomo acerca dos efeitos e eficácia de bioagentes.

2.3 *Trichoderma harzianum*

O gênero *Trichoderma* é composto por fungos de vida livre com rápido crescimento e amplamente distribuídos na natureza, principalmente onde há matéria orgânica, realizando diversas funções, dentre elas a inibição do desenvolvimento de fitopatógenos, colonização de raízes, indução de resistência em plantas, ações simbióticas (MONTALVÃO, 2012; CARVALHO FILHO, 2013).

Trichoderma harzianum é um fungo nativo do solo que apresenta caracteristicamente conídios de coloração verde que tendem a se agregar massivamente e que independem de hospedeiros para completar seu ciclo. Foi caracterizado como biocontrolador por atingir determinado patógeno antes de causar dano significativo à planta (MONTALVÃO, 2012).

Quando submetido às condições ideais para seu desenvolvimento, apresenta grande potencial no controle de fitopatógenos de solo por apresentar diferentes mecanismos antagonistas como parasitismo, antibiose e competição (MACHADO, 2012).

Segundo Barbosa e Gonzaga (2012), para que o *Trichoderma harzianum* expresse seu potencial de controle, é necessária alta umidade no solo e temperaturas amenas. Dessa forma, as recomendações de aplicação do bioformulado devem ser realizadas visando as condições de disponibilidade hídrica e estágio fenológico da planta com tamanho adequado que proporcione sombreamento podendo, assim, evitar perdas do bioagente por desidratação, incidência solar e calor.

2.4 *Bacillus subtilis*

É uma rizobactéria não-patogênica que possui coloração branca, nativa do solo podendo ser encontrada também na água. Possui capacidade de gerar simbiose com plantas formando uma película protegendo preventivamente o tecido vegetal da instalação micelial de patógenos, antagonismo gerando competição com fitopatógenos e citada também como promotora de crescimento de plantas (LANNA FILHO, 2010).

São múltiplos os mecanismos de ação que lhe conferem potencialidade biocontroladora, proporcionando melhor desempenho à bactéria ao escapar das barreiras de defesa dos fitopatógenos (LANNA FILHO, 2010; ROCHA SOBRINHO *et al.*, 2018).

Mecanismos estes que, produzem metabólitos antibióticos orgânicos voláteis, proteínas com ação antifúngica e metabólitos antibióticos solúveis em água, conferindo à

bactéria potencial de supressão do crescimento de fitopatógenos. Por produzir metabólitos considerados termotáveis, a bactéria possui elevada vantagem em relação aos patógenos confirmando a capacidade em resistir a situações adversas e competir de maneira eficiente (ROCHA SOBRINHO *et al.*, 2018).

Quando comparado com outros agentes antagonistas à fitopatógenos, o *Bacillus subtilis* não possui elevado destaque, porém seu diferencial encontra-se no fato de ser uma bactéria que produz esporos que toleram diferentes pH, grandes amplitudes térmicas, e a capacidade de compor produtos comerciais estáveis e com maior durabilidade por persistir por mais tempo em condições de armazenamento (BRAGA JUNIOR *et al.*, 2017; KLOEPPER, 1989).

2.5 COBERTURA VEGETAL NO AUXÍLIO A SUPRESSÃO DE ESCLERÓDIOS E MANUTENÇÃO DE BIOAGENTES

Silva *et al.* (2011), em estudo sobre a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum* em diferentes resíduos de culturas e seus extratos, demonstraram que a germinação do patógeno no tratamento com solo descoberto foi maior que nos demais, indicando provável condição de arejamento e luminosidade, essenciais para produção de apotécios. Nesse mesmo sentido, os microrganismos de vida livre possuem elevada taxa de mortalidade quando expostos a radiação solar. Assim, percebe-se a importância da presença de cobertura vegetal na proteção da microbiota e supressão de patógenos.

A implantação de um sistema de plantio direto permite o acúmulo de palhada sobre a superfície, criando uma barreira física que promove efeito supressor à população do patógeno, minimizando a ocorrência de condições ideais para a germinação. Além disso, a inclusão de gramíneas como plantas de cobertura, impede que as estruturas que chegarem a emitir apotécios encontrem hospedeiros no campo para manutenção do inóculo (WILLBUR *et al.*, 2019).

Segundo Venturoso *et al.* (2014), em seus estudos quanto a produção de soja e germinação carpogênica de *S. sclerotiorum* na utilização de diferentes plantas de cobertura, evidenciaram que a presença da palhada não impediu a formação dos apotécios, no entanto, foi expressiva a redução das porcentagens de germinação nos tratamentos avaliados. Ou seja, a infecção ainda pode ocorrer, mas a adoção de determinadas práticas certamente reduz a severidade da doença.

Há estudos que discutem a não susceptibilidade das gramíneas ao Mofo Branco, que por sobreviver em restos culturais pode ter sua população minimizada ao utilizar-se gramíneas como palhada. A cobertura vegetal também promove barreira física suprimindo a entrada de luz, essencial para a emissão das estipes e formação de apotécios, impedindo a germinação carpogênica dos escleródios (SILVA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2013).

A presença da palhada em superfície proporciona a manutenção e aumento de matéria orgânica no solo minimizando oscilações de temperatura e umidade, conservando a microbiologia. Essa estabilidade enriquece o substrato em nível de nutrientes e compostos orgânicos atendendo a microbiota do solo promovendo o surgimento e manutenção de organismos antagonistas a fitopatógenos de solo, por evitar que sofram desidratação por efeitos abióticos (Barbosa & Gonzaga, 2012).

Silva *et al.* (2009), realizaram um trabalho em que foi possível constatar maior incidência de fungos benéficos em solos com cobertura viva seguido por solos com cobertura vegetal morta, *Trichoderma* Spp. obteve ampla distribuição em solos com cobertura morta de capim-elefante (gramínea).

3 METODOLOGIA

3.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos, em área experimental ao lado do aviário do campus (Figura 1). O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho distrófico (BHERING et al., 2008) e clima subtropical classificado como Cfa (ALVARES et al., 2013). A precipitação pluviométrica anual encontra-se entre 1.800 a 2.000 mm anuais (IAPAR, 2018).

Figura 1. A área delimitada em preto é o local a campo onde o experimento foi instalado.



Fonte: Google Maps.

3.2 DEFINIÇÃO DOS TRATAMENTOS

O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, no esquema bifatorial, sendo um fator os agentes de biocontrole com quatro níveis (sem tratamento, com *T. harzianum*, *B. subtilis* e *T. harzianum* associado ao *B. subtilis*) e outro fator, com dois níveis (presença de palhada (Figura 2) e ausência de palhada (Figura 3) em 4 repetições.

Figura 2. Presença de cobertura vegetal, tendo sido acrescida palhada de Capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*) para execução do experimento.



Fonte: A Autora (2019).

Figura 3. Ausência de cobertura vegetal, tendo sido retirado restos culturais para execução do experimento.



Fonte: A Autora (2019).

3.3 APLICAÇÕES DOS BIOFORMULADOS EM CAMPO

Foram realizadas aplicações dos agentes de biocontrole no início do estágio vegetativo (Figura 4), no estágio V4 das plantas em dose única recomendada pelos fabricantes. Os tratamentos foram compostos por uma formulação de propágulos de *Trichoderma harzianum* (Ecotrich® – Ballagro – 100g./ha⁻¹), e para o *Bacillus subtilis* (Serenade® – 2 L/ha⁻¹), e a associação dos dois agentes, e um tratamento controle, sem aplicação de biofungicidas. Os tratamentos ocorreram por pulverização dos biocontroladores em condição de solo úmido e no final da tarde, sendo as doses aplicadas conforme recomendação dos fabricantes e volume de calda de 200 L/ha⁻¹.

Figura 4. Momento da aplicação dos produtos biológicos.



Fonte: A Autora (2019).

3.4 INOCULAÇÃO DE *S. sclerotiorum*

O efeito dos tratamentos sobre a viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* foi avaliado em laboratório.

Amostras contendo 45 escleródios foram colocadas em telados de náilon (Figura 5) com malha de 1,5 mm e dispostos na entre linha, abaixo da palhada na primeira parcela, e sobre o solo exposto na segunda parcela. No total, 32 telados com 45 escleródios em cada.

Figura 5. Os 45 escleródios sendo colocados em telado de náilon.



Fonte: A Autora (2019).

As amostras de escleródios foram recolhidas aos 20 dias após a última aplicação (Figura 6), assim, os telados de náilon contendo os escleródios foram devidamente identificados e imediatamente transportados em caixas de papelão, para análises em laboratório.

Realizou-se os testes de germinação carpogênica, quantificando o número de escleródios germinados, número de estipes por escleródio, apotécios por escleródios, escleródios colonizados por *Trichoderma* spp., escleródios colonizados por *Bacillus subtilis*, escleródios colonizados por ambos os biocontroladores, escleródios que germinaram miceliogenicamente, escleródios degradados ou podres, percentual de escleródios inviáveis e níveis de controle.

Figura 6. 20 dias após aplicação dos bioformulados no campo.



Fonte: Fábio Giongo (2019).

3.5 AVALIAÇÕES REALIZADAS

As avaliações de germinação carpogênica dos escleródios foram realizadas em caixas gerbox contendo aproximadamente 200 g de solo autoclavado, umedecido até atingir 80% da capacidade de campo. Analisou-se 45 escleródios por amostras (180 escleródios por tratamento). Em cada caixa Gerbox foram acondicionados 45 escleródios. Estes Gerbox ficaram incubados à temperatura de 18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Realizando a avaliação após 20 dias, aonde avaliou-se germinação carpogênica dos escleródios, sendo analisados número de escleródios germinados; o número de apotécios, a quantidade de escleródios colonizados pelos biocontroladores e percentual de escleródios podres (Figura 7).

Figura 7. Escleródios em caixas Gerbox sob condições controladas em laboratório.



Fonte: A Autora (2019).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se análises forma avaliadas quanto a normalidade e realizada a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizou-se o programa SAS® versão 9.1.3. (SAS / STAT, 1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados demonstraram que os agentes de controle biológico possuem potencial de biocontrole, reduzindo o percentual de escleródios germinados, independente da condição de palhada, sendo a testemunha com 84% de germinação, *Bacillus* (51%), *Trichoderma* (47%) e associação de *Trichoderma* com *Bacillus* (27,5%). Nesse mesmo sentido, o percentual médio de escleródios colonizados foi para testemunha (13%), *Bacillus* (44%), *Trichoderma* (45%) e a associação (52,5%).

Quanto ao percentual de controle os resultados demonstraram que a associação dos agentes de biocontrole demonstraram os maiores percentuais de controle, sendo que em condições de solo com palhada a eficiência foi de 77%, como observa-se na Tabela abaixo.

Tabela. Presença e ausência de palhada no solo, escleródios germinados, número de apotécios por escleródios, escleródios colonizados, escleródios podres e controle em função do tratamento com agentes de biocontrole. (Dois Vizinhos, UTFPR, 2019).

Tratamentos	Escleródios germinados (%)	Número médio de apotécios por escleródio	Escleródios colonizados (%)	Escleródios podres (%)	Controle (%)
Testemunha com palhada	82 a	5 ns	14 c	4 c	18 d
Testemunha sem palhada	86 a	4	12 c	2 c	14 d
<i>Trichoderma</i> com palhada	42 c	3	44 ab	14 b	58 b
<i>Trichoderma</i> sem palha	52 b	4	46 ab	2 c	48 c
<i>Bacillus</i> com palhada	46 c	3	48 a	6 c	54 b
<i>Bacillus</i> sem palhada	56 b	5	40 b	4 c	44 c
<i>Trichoderma</i> + <i>Bacillus</i> com palhada	23 d	3	53 a	24 a	77 a
<i>Trichoderma</i> + <i>Bacillus</i> sem palhada	32 d	4	52 a	16 ab	68 a

Fonte: A Autora (2020).

*Letras distintas na coluna demonstram diferença pelo teste de Tukey com (5%) de probabilidade de erro. ns= não significativo.

O fator palhada foi significativo (Figura 8) favorecendo a estabilização dos bioagentes, sendo que em todas as condições avaliadas o biocontrole demonstrou ser mais eficiente.

Ainda o uso de *Trichoderma* com palhada e a associação dos agentes de biocontrole resultou nos maiores percentuais de escleródios podres. A palhada possibilita a formação de uma condição de umidade e proteção solar, importantes na estabilização inicial dos agentes de biocontrole, o que resulta em eficiente colonização dos escleródios e melhoria do controle biológico.

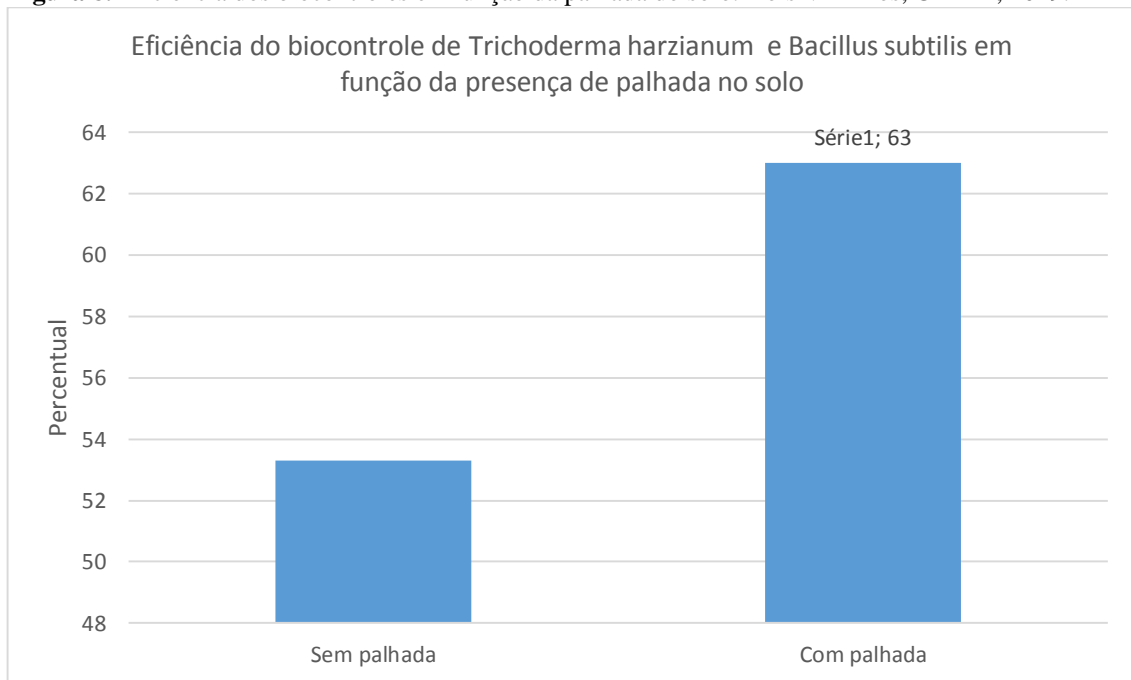
Como aponta Barbosa & Gonzaga (2012), a presença de palhada minimiza instabilidades no solo como as oscilações de temperatura e umidade, promovendo enriquecimento do sistema e a consequente manutenção de microrganismos benéficos.

Ainda a observação na testemunha de um certo percentual de controle, sendo 18% com palhada e 14% sem palhada, demonstra a presença de agentes de controle biológico de forma natural presentes no solo.

Venturoso *et al.* (2014), demonstraram que a presença da palhada não impediu a formação dos apotécios, no entanto, foi expressiva a redução das porcentagens de germinação nos tratamentos avaliados. Ou seja, a infecção ainda pode ocorrer, mas a adoção de determinadas práticas certamente reduz a severidade da doença. E isso, claramente pode ser observado neste presente trabalho, visto que não houve ausência de germinação de escleródios em presença de palhada, mas sim uma supressão expressiva de emissão de apotécios.

Uma avaliação conjunta dos resultados, permite afirmar o potencial de sinergismo de biocontrole, na associação de *Trichoderma* com *Bacillus*, e ainda a condição de solo com palhada permite maior estabilização e eficiência dos agentes de controle biológico.

Figura 8. Eficiência dos biocontroles em função da palhada do solo. Dois Vizinhos, UTFPR, 2019.



Fonte: A Autora (2020).

5 CONCLUSÕES

Os agentes de controle biológico *T. harzianum* e *B. subtilis* possuem eficiência no controle de *S. sclerotiorum*, e a associação dos agentes demonstra sinergismo melhorando a eficiência do controle.

A aplicação dos agentes de biocontrole em solo com cobertura vegetal resultam em menor número de escleródios viáveis melhorando a performance de controle.

6 REFERÊNCIAS

ALVARES, Clayton A.; STAPE, José L.; SENTELHAS, Paulo C.; Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart. 2013.

BARBOSA, Flávia Rabelo; GONZAGA, Augusto César de Oliveira. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio - Goiás: Embrapa, 2012. 248 p.

BHERING, S.B.; SANTOS, H.G. dos. **Mapa de solos do Estado do Paraná: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/ IAPAR, 2008. 74p.

BRAGA JUNIOR, Gaspar Moreira; CHAGAS JUNIOR, Aloisio Freitas; BORGES CHAGAS, Lilian França; CARVALHO FILHO, Magno Rodrigues de; MILLER, Luciane de Oliveira; SANTOS, Gil Rodrigues dos. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. **Biota Amazônia**, Macapá - Ap, v. 3, n. 7, p.45-51, 25 out. 2017.

BRUSTOLIN, Ricardo. **PRODUÇÃO DE INÓCULO E SOBREVIVÊNCIA DE SCLEROTINIA SCLEROTIORUM**. 2012. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

BURR, I.W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo Series, 282).

CAFÉ FILHO, A.C. **Alerta aos produtores de ervilha - podridão-de-sclerotinia**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 3, n. 2, p. 57, 1985.

CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.C.P.; MEYER, M.C.; SILVA, J.R.C.; NUNES JUNIOR, J. **Mofa-branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil**. Tropical Plant Pathology, v.35, Suplemento, p. C-CI, 2010.

CARVALHO FILHO, Magno Rodrigues de. **RELAÇÕES FILOGENÉTICAS, IDENTIFICAÇÃO E POTENCIAL DE USO DE ISOLADOS DE TRICHODERMA NO CONTROLE DO MOFO BRANCO E COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO DO FEJJOEIRO**. 2013. 123 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília - Df, 2013.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos: maio/2018 - oitavo levantamento**. Brasília: Conab, v.5, n.8, 2018. 140 p.

COSTA, Gesimária Ribeiro; COSTA, Jefferson Luis da Silva. EFEITO DA APLICAÇÃO DE FUNGICIDAS NO SOLO SOBRE A GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA E MICELIOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Brasília - Df, v. 3, n. 34, p.133-138, nov. 2004.

ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 1., 2012, Ponta Grossa - Pr. **ENCONTRO INTERACIONAL DE MOFO BRANCO: GLOBALIZANDO O PROBLEMA, FUNDAMENTANDO SOLUÇÕES**. Ponta Grossa - Pr: Editora da Uepg, 2012. 87 p.

ETHUR, Luciana Zago et al. Micobiota parasitária de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* isolada de solos da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, [s.l.], v. 81, n. 1, p.62-67, mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1808-16572014000100011>.

FELLER, Leandro André. **MANEJO DA PALHADA DE CEREAIS DE INVERNO NO CONTROLE DO MOFO BRANCO DA SOJA**. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Centro-oeste, Guarapuava - Pr, 2014.

GÖRGEN, Claudia Adriana. **MANEJO DO MOFO BRANCO DA SOJA COM PALHADA DE *Brachiaria ruziziensis* E *Trichoderma harzianum* '1306'**. 2009. 72 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Jataí - Go, 2009.

GULART, Caroline; ORTIZ, Silvia. **Germinação carpoagênica de sclerotinia**. Disponível em: <<https://elevagro.com/materiais-didaticos/germinacao-carpogenica-de-sclerotinia/>>. Acesso em: 11 abr. 2019.

IAPAR. **Médias históricas em estações do IAPAR**. 2018. Disponível em: <http://www.iapar.br/arquivos/Image/monitoramento/Medias_Historicas/Francisco_Beltrao.htm>. Acesso em: 25 maio 2019.

KIMATI, Hiroshi et al. **MANUAL DE FITOPATOLOGIA: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4. ed. São Paulo - Sp: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1997. 706 p.

KLOPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M.; Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends In Biotechnology**, v.7, p.39-44, 1989.

LANNA FILHO, Roberto; FERRO, Henrique Monteiro; PINHO, Renata Silva Canuto de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Lavras - Mg, v. 4, n. 2, p.12-20, jul. 2010.

LOBO JUNIOR, Murillo. **MANEJO DO MOFO BRANCO**. Santo Antônio - Goiás: Embrapa, 2011. 2 p.

MACHADO, Daniele Franco Martins et al. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p.274-288, jun. 2012.

MEYER, Maurício C. et al. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18**: Resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina - Pr: Embrapa, 2018. 6 p.

MONTALVÃO, Sandro Coelho Linhares. **POTENCIAL DE TRICHODERMA SPP. NO CONTROLE DE DOENÇAS DO TOMATEIRO**. 2012. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília - Df, 2012.

NAPOLEÃO, Reginaldo; CAFÉ FILHO, Adalberto Correa; LOPES, Carlos Alberto; BHERING NASSER, Luiz Carlos; MAROUELLI, Waldir Aparecido. Efeito da frequência de rega e da umidade do solo sobre a germinação carpogênica de *sclerotinia sclerotiorum*. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.80-82, mar. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-54052007000100012>.

OLIVEIRA, Carlos Alberto da S.; MAROUELLI, Waldir Aparecido; SANTOS, Jorge Roland M. dos. Produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e severidade de oídio em cultivares de ervilha sob diferentes lâminas de água. **Horticultura Brasileira**, Brasília - Df, v. 18, n. 1, p.16-20, mar. 2000.

OLIVEIRA, Marília Barros; LOBO JÚNIOR, Murillo; PETROFEZA, Silvana. **ASPECTOS MOLECULARES DA INTERAÇÃO DO FUNGO *Sclerotinia sclerotiorum* E PLANTAS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 181. ed. Santo Antônio - Goiás: Embrapa, 2011. 4 p.

PARZIANELLO, Francini Requia. **USO DE POLÍMEROS EM FORMULAÇÕES PARA ARMAZENAMENTO DE *Trichoderma harzianum* E *Trichoderma viride***. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - Rs, 2012.

PEREIRA, Faber de Souza; BORGES, Larissa Pacheco; GUIMARÃES, Gesiane Ribeiro; SILVA, Alex da; GONÇALVES, Rogério Nunes; CARVALHO, Lucas Roberto de; TEIXEIRA, Itamar Rosa. **ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO**. Ipameri - Go: Centro Científico Conhecer, 2013. 18 p.

ROCHA SOBRINHO, Geraldo Gomes; BRITO, Natália Deniz; SANTOS, Armínio; NOVAES, Quelmo Silva de. **ATIVIDADE ANTAGONISTA DE *Bacillus subtilis* SOBRE DOIS ISOLADOS DE *Fusarium solani* DO MARACUJAZEIRO, POR DIFERENTES MÉTODOS.** Vitória da Conquista - Ba: Centro Científico Conhecer, 2018. 8 p.

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.

SILVA, Francimar Perez Matheus da; GAVASSONI, Walber Luiz; BACCHI, Lilian Maria Arruda; GARCEZ, Fernanda Rodrigues. Germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes resíduos e extratos de plantas cultivadas. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 37, n. 3, p.131-136, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-54052011000300009>.

SILVA, Karla Fernanda Ayres de Souza; FILHO, Miguel Michereff; SILVA, João Batista Tavares da; MARTINS, Irene; ISAIAS, Carolina Oliveira; RESENDE, Francisco Vilela; LIZ, Ronaldo Setti de; BARBOZA, Elenice Alves; MELLO, Sueli Corrêa Marques de. **Dinâmica Populacional de Fungos Benéficos em Solos nos Sistemas de Cultivo Convencional e Orgânico de Morangueiro.** Brasília - Df: Embrapa, 2009. 25 p.

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

VENTUROSOSO, Luciano dos Reis; BACCHI, Lilian Maria Arruda; GAVASSONI, Walber Luiz; CONUS, Lenita Aparecida; ALVARO PONTIN, Bruno Cesar. Relação de massa e localização do escleródio no solo com germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.29-33, mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-54052014000100004>.

WILLBUR, J.; MCCAGHEY, M.; KABBAGE, M.; SMITH, D. L. An overview of the *Sclerotinia sclerotiorum* pathosystem in soybean: impact, fungal biology, and current management strategies. *Tropical Plant Pathology*, v. 44, p. 3-11, 2019.