

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CLAUDIA MANTELI

TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS
FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE
Fusarium tucumaniae EM SOJA

TESE

PATO BRANCO

2019

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

CLAUDIA MANTELI

**TRATAMENTOS DE SEMENTES COM
PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E
BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE *Fusarium*
tucumaniae EM SOJA**

TESE

PATO BRANCO

2019

CLAUDIA MANTELI

**TRATAMENTOS DE SEMENTES COM
PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E
BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE *Fusarium*
tucumaniae EM SOJA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti

PATO BRANCO

2019

M292t Manteli, Claudia.
Tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e biológicos no controle de *Fusarium tucumaniae* em soja / Claudia Manteli . -- 2019.
98 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaró
Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Soja - Cultivo. 2. Fitopatologia. 3. Plantas - Controle biológico. 4. Sementes - Doenças e pragas. 5. Fungicidas. I. Mazaró, Sérgio Miguel, orient. II. Possenti, Jean Carlo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



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



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Tese n.º 062

TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE *Fusarium tucumaniae* AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ EM SOJA Por

CLAUDIA MANTELI

Tese apresentada às treze horas e trinta minutos do dia nove de dezembro de dois mil e dezenove, como requisito parcial para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Proteção de Plantas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Dra. Anelise Tessari Perboni
UTFPR/Dois Vizinhos

Dr. Carlos Andre Bahry
UTFPR/Dois Vizinhos

Dr. Valmor Antonio Konflanz
KSP Sementes e Pesquisas Ltda

Dr. Álvaro Rodrigo Freddo
UNISEP/Dois Vizinhos

Dr. Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR/Pato Branco
Orientador

Dr. Alcir José Modolo
UTFPR/Pato Branco
Coordenador do PPGAG

O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do PPGAG.

Dedico à Deus: Mentor da vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela infinita força da vida.

Ao meu companheiro e parceiro Tiago Abel Muller Caragnato, que esteve ao meu lado nestes anos, me apoiando, me ajudando e me desonerando, em muitos momentos da devida atenção.

À minha família, pelas indagações em relação ao meu doutorado, as quais serviram de impulso para que eu o concluísse.

Ao querido professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro, por acreditar em mim, pelo exemplo de vida, ensinamentos, incentivo, ombro amigo, apoio, atenção dispendida e, também, pela orientação nesta caminhada. E ao estimado professor Dr. Jean Carlo Possenti, atencioso, dedicado, apoiador, exigente nos detalhes, com quem muito aprendi; agradeço muito pela coorientação.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos e Pato Branco, pela oportunidade de reingressar no PPGAG, pela estrutura na realização do projeto e dedicação de todo Corpo Docente.

Aos colegas de Pós Graduação, Nean, Mycheli, Stheffani, Thaylane, Marcieli, Vinícius e Maira, pelas ajudas, favores, parcerias em disciplinas, trocas de caronas, ideias e incentivos nestes anos.

Aos acadêmicos de Agronomia Roberto Sadao Sinabucro Saburo, Fábio Giongo, Bruno Backes, Lucas Gabriel da Silva, pelo companheirismo, dedicação e ajuda nos experimentos. À querida amiga e parceira de tantas horas nos experimentos, Luiza Cristina Carniel, que além de minha confidente, foi minha incansável e competente ajudante.

À amiga que ganhei nesta caminhada, Vanessa Padilha Salla, por cada gesto, momentos de incentivo e acolhimento. E as amigas e queridas irmãs, Andruziana e Andriza Lazzarin, pela ajuda nos experimentos e incentivo.

Às queridas discentes Clariana e Ana, que me auxiliaram e incentivaram.

À banca, por se prestar a participar e contribuir com meu trabalho.

E à todos que incentivaram de alguma forma esta conquista.

Meu pai já me dizia essas verdades, que o tempo vai domando as rebeldias. De que valem conselhos, nessa idade, se o mundo não nos enche as mãos vazias?

Cidade grande é igual faca de corte onde a mão do mais forte é quem “chaireia”; é preciso ter raça e muita sorte, nos momentos que a morte negaceia!

Assim, vou segurando a vida “guapa” e, se o laço me escapa, a briga é feia! Mas o que é outro tombo ou mais um tapa, pra quem já vem no “bojo da peleia”? (Miro Saldanha).

RESUMO

MANTELI, Claudia. Tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e biológicos no controle de *Fusarium tucumaniae* em soja. 98 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

A soja é a principal *commodity* agrícola mundial, expandiu-se devido a sua adaptabilidade e emprego de tecnologias que abrangem da semeadura à colheita. Concomitantemente, houve aumento do número de fitopatógenos que a acometem. As sementes são o principal veículo de transporte e transmissão dos mesmos. Entre estes, o *Fusarium tucumaniae*, um dos agentes causais da podridão vermelha da raiz, tem alta severidade e difícil controle. Visando seu controle, recomenda-se tratamento de sementes com fungicidas. A inoculação de sementes com agentes biológicos, principalmente dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, são recomendados, com enfoque em sustentabilidade e produtividade; já o *Trichoderma* spp. é potencial agente biológico, para controle de fitopatógenos. Assim, indaga-se, quanto a possibilidade da tri inoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Trichoderma*), bem como sobre a compatibilidade entre os tratamentos fitossanitários utilizados nas sementes, com estes três agentes biológicos. Objetivo deste trabalho foi obter informações quanto ao tratamento de sementes de soja, visando o controle de *F. tucumaniae*, agente causal da podridão vermelha da raiz, a partir da aplicação de produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não. Realizou-se quatro ensaios, todos com delineamento inteiramente casualizado, utilizando os produtos fitossanitários: Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram; Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil; Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluzinam; Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil e biológicos *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum*. *In vitro*, testou-se a dose mínima inibitória entre os produtos fitossanitários e biológicos e *F. tucumaniae*. Numa segunda etapa avaliou-se o crescimento micelial de *F. tucumaniae* *in vitro*, aplicando produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não. O terceiro estudo, analisou a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja, após a infestação com *F. tucumaniae* e tratamentos com produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não. Em casa de vegetação, analisou-se, o tratamento de sementes com produtos fitossanitários e biológicos na transmissão de *F. tucumaniae* para plantas de soja. Concluiu-se que os produtos fitossanitários testados inibem o crescimento dos agentes biológicos *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum* e a dose mínima inibitória para *F. tucumaniae*, está relacionada aos ingredientes ativos, sendo um fator importante na tomada de decisão na escolha do ativo para o tratamento de sementes. O efeito dos agentes biológicos isolados ou associados com fitossanitários químicos possuem especificidades no controle de *F. tucumaniae*, onde o uso isolado ou associado de *T. harzianum* demonstrou maior potencial sobre no controle de *F. tucumaniae*. As sementes não tratadas tiveram redução de viabilidade. Os produtos fitossanitários não possuem efeito sobre a viabilidade das sementes de soja. Os produtos fitossanitários possuem efeito sobre o vigor das sementes de soja. O tratamento de sementes com químicos ou associado com biológicos reduz a incidência de podridão vermelha da raiz da soja, quando comparado com o não tratamento de sementes. No entanto, tais associação possuem particularidades que merecem serem melhor exploradas para uma recomendação no tratamento de

sementes ou uso em sulco de cultivo da soja.

Palavras-chave: *Glicyne max.* Podridão Vermelha da Raiz. Sementes. Inoculação. Fungicidas.

ABSTRACT

MANTELI, Claudia. Seed treatments with phytosanitary and biological products in the control of *Fusarium tucumaniae* in soybean. 98 f. Thesis (Ph.D. in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop production), Federal University of Technology Paraná. Pato Branco, 2019.

Soybean is the world's leading agricultural commodity, it has expanded due to its adaptability and use of technologies ranging from sowing to harvesting. Concomitantly, there was an increase in the number of phytopathogens that affect it. Seeds are the main vehicle for their transport and transmission. Among these, *Fusarium tucumaniae*, one of the causal agents of red root rot, has high severity and difficult control. For its control, it is recommended to treat seeds with fungicides. Inoculation of seeds with biological agents, mainly of the genera *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*, is recommended, focusing on sustainability and productivity; *Trichoderma* spp. it is a potential biological agent for the control of plant pathogens. Thus, the question of the possibility of tri inoculation (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Trichoderma*), as well as the compatibility between the phytosanitary treatments used in the seeds, with these three biological agents was investigated. Of soybean, aiming at the control of *F. tucumaniae*, causal agent of sudden death syndrome, from the application of phytosanitary and biological products, associated or not. Four trials were performed, all with a completely randomized design, using the phytosanitary products: Imidacloprido - Tiodicarb + Carbendazim - Tiram; Piraclostrobin - Methyl Thiophanate - Fipronil; Bifentrin - Imidacloprid + Methyl Thiophanate - Fluazinam; Tiametoxam + Metalaxyl-M - Fludioxonil and Biological *B. japonicum*, *A. brasilense* and *T. harzianum*. In vitro, the minimum inhibitory dose between the phytosanitary and biological products and *F. tucumaniae* was tested. In a second stage, the mycelial growth of *F. tucumaniae* in vitro was evaluated by applying phytosanitary and biological products, associated or not. The third study analyzed the physiological and sanitary quality of soybean seeds after *F. tucumaniae* infestation and treatments with phytosanitary and biological products, associated or not. In greenhouse, the treatment of seeds with phytosanitary and biological products in the transmission of *F. tucumaniae* to soybean plants was analyzed. It was concluded that the phytosanitary products tested inhibit the growth of biological agents *B. japonicum*, *A. brasilense* and *T. harzianum* and the minimum inhibitory dose for *F. tucumaniae*, is using the active ingredients, being an important factor in the decision choice of the active for seed treatment. The effect of biological agents isolated or associated with chemical phytosanitary have specificities in the control of *F. tucumaniae*, where the isolated or associated use of *T. harzianum* showed greater potential in the control of *F. tucumaniae*. Untreated seeds had reduced viability. Phytosanitary products have no effect on soybean seed viability. Phytosanitary products have an effect on soybean seed vigor. Chemical or biological seed treatment reduces the incidence of sudden death syndrome when compared to non-seed treatment. However, such associations have particularities that deserve to be further explored for a recommendation on seed treatment or use in soybean furrows.

Keywords: *Glycyne max.* Sudden death syndrome. Seeds. Inoculation. Fungicides.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Sintomas de Podridão Vermelha da Raiz em Folhas de Soja (Folha carijó). 36	
Figura 2 - Inóculo de <i>Fusarium tucumaniae</i> Preparado com Sementes de <i>Sorghum sudanense</i> . A) Em Incubação. B) Incubado após 23 dias. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	44
Figura 3 - Microplaca de 96 Poços Contendo Dois Tratamentos com 12 Diluições Seriadas. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	49
Figura 4 – Adição da Suspensão Salina com Microrganismo na Microplaca de 96 Poços Contendo Dois Tratamentos com 12 Diluições Seriadas. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	49
Figura 5 - Detalhe da Montagem do Experimento em Placas de Petri. À Esquerda da Placa o Disco de <i>Fusarium tucumaniae</i> e a Direita a Semente Tratada Sendo Fixada no Meio de Cultura. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.	52
Figura 6 - Placa do Experimento Indicando os Detalhes da Montagem e Leitura. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	52
Figura 7 - Inóculo de Sorgo Contedo <i>Fusarium tucumaniae</i> Adicionado ao Solo dos Vasos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	58
Figura 8 - Detalhes do Plaqueamento de Raízes. A) Corte da Raiz com Sintoma. B) Raízes Plaqueadas em DBA após Sete Dias, Identificadas com a Repetição do Experimento e Crescimento das colônias de <i>Fusarium tucumaniae</i> . UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das Análises Fisiológica e Sanitária da Amostra de Sementes Utilizada nos Experimentos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.	46
Tabela 2 – Produtos Fitossanitários Utilizados no Teste de Compatibilidade <i>in vitro</i> com Produtos Biológicos e <i>Fusarium Tucumaniae</i> . UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.	48
Tabela 3 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Tratamento de Sementes no Estudo de Crescimento Micelial de <i>Fusarium Tucumaniae</i> , <i>in vitro</i> . UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	51
Tabela 4 - Resultados da Análise Fisiológica e Sanitária das Sementes Infestadas com <i>Fusarium tucumaniae</i> e Armazenadas por 23 Dias. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.	54
Tabela 5 – Produtos Fitossanitários Utilizados no Tratamento de Sementes antes do Armazenamento. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	54
Tabela 6 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Tratamento de Sementes no Estudo Qualidade de Sementes. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.	55
Tabela 7 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Estudo de Incidência de <i>Fusarium tucumaniae</i> , em Soja. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019. ..	57
Tabela 8 – Dose Inibitória Mínima de Produtos Fitossanitários, Sobre Produtos Biológicos Utilizados no Tratamento de Sementes de Soja (<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Trichoderma harzianum</i>) e <i>Fusarium tucumaniae</i> . UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	60
Tabela 9 - Resultado da Análise da Variância para o Experimento de Crescimento Micelial. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	62
Tabela 10 - Crescimento Micelial de Colônia de <i>Fusarium tucumaniae</i> , Após Sete Dias de Incubação Pareada com Sementes Tratadas com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – 2019.	63
Tabela 11 – Percentual de Sementes que Apresentaram Infecção com <i>Fusarium tucumaniae</i> no Teste de Patologia de Sementes, Após Infestação com <i>F. tucumaniae</i> e Tratamento com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	66
Tabela 12 - Resultado da Análise da Variância para o Experimento de Qualidade de Sementes. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	67
Tabela 13 – Potencial de Germinação (PG), Comprimento de Parte Aérea (CPA), Comprimento de Raiz (CR), Massa Seca de Plântula (MSP) Após Infestação de Sementes com <i>Fusarium tucumaniae</i> e Tratamento com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.	71
Tabela 14 – Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Velocidade de Emergência (VE) e Coeficiente de Velocidade de Emergência (CVE) de sementes de soja após infestação com <i>F. tucumaniae</i> e tratamento com produtos fitossanitários e biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.....	72
Tabela 15 - Incidência de <i>Fusarium tucumaniae</i> no Sistema Radicular de Plantas de Soja, Submetidas a Tratamentos de Sementes com Produtos Fitossanitários e Biológicos Aplicados em Sulco e nas Sementes. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.	78

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GO	Estado de Goiás
APROSOJA	Associação Brasileira dos Produtores de Soja
ASA	<i>American Soybean Association</i>
ABRASEM	Associação Brasileira de Sementes e Mudanças
RENASSEM	Registro Nacional de Sementes e Mudanças
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
PR	Estado do Paraná
SEMIA	Seleção de Microbiologia Agrícola
RAS	Regras para Análise de Sementes
Folha Carijó	Sintomas de Necrose Interneval nas Folhas

LISTA DE ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
T	Tonelada
kg ha ⁻¹	Quilograma por hectare
sp.	Uma espécie do referido gênero
PVR	Podridão Vermelha da Raiz
Nº	Número
V ₃	Estádio Vegetativo da Soja - segunda folha trifoliada completamente desenvolvida
V ₈	Estádio Vegetativo da Soja - sétima folha trifoliada completamente desenvolvida
V ₄	Estádio Vegetativo da Soja - terceira folha trifoliada completamente desenvolvida
V ₅	Estádio Vegetativo da Soja - quarta folha trifoliada completamente desenvolvida
R ₄	Plana Formação das Vagens da Soja
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
NH ₃	Amônia
H ⁺	Íon de hidrogênio
NH ₄	Amônio
BPCV	Bactérias promotoras de crescimento vegetal
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio atmosférico
spp.	Várias Espécies do Referido Gênero
cm ²	Centímetros quadrados
S.A	Sociedade Anônima
RR	<i>Roundup Ready</i>
RAS	Regras para Análise de Sementes
Kg	Quilograma
mL kg ⁻¹	Mililitro por quilograma
g L ⁻¹	Gramas por litro
L	Litro
C1	Sementes certificadas de primeira geração
C2	Sementes certificadas de segunda geração
S1	Sementes não certificadas de primeira categoria
S2	Sementes certificadas de segunda categoria
TSI	Tratamento industrial de sementes
BDA	Batata dextrose e ágar
BOD	<i>Biochemical demand oxygen</i>
BD	Batata dextrose
NaCl	Cloreto de sódio
DIM	Dose inibitória mínima
CSLI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
IVE	Índice de Velocidade de Emergência
VE	Velocidade de Emergência
CVE	Coefficiente de Velocidade de Emergência
mm	Milímetro

cm	Centímetro
cm ³	Centímetro cúbico
$\log(x)$	Logaritmo de um dado número (x)
f.sp.	Forma especial de um fungo
$p < 0,05$	Probabilidade de erro menor que 5%

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
U\$	Dólar
°C	Graus célsius
μl	Microlitro
®	Marca registrada
±	Mais ou menos
+	Mais
x	Por
x ²	Número elevado ao quadrado
¹ / _√ x	Um dividido pela raiz quadrada de um dado número

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVO GERAL	22
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2 REFERENCIAL TEÓRICO	24
2.1 SOJA: HISTÓRICO, EXPANSÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	24
2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA	26
2.3 SEMENTES DE SOJA: ABORDAGEM FITOSSANITÁRIA	27
2.4 TRATAMENTO DE SEMENTES NA CULTURA DA SOJA	30
2.5 PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ (<i>Fusarium tucumaniae</i>) EM SOJA	34
2.6 INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO E USO DE BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA	37
3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 OBTENÇÃO DO FITOPATÓGENO E PREPARO DO INÓCULO	44
3.2 CULTIVAR E SEMENTE UTILIZADA	45
3.3 ESTUDO 1 – DOSE INIBITÓRIA MÍNIMA DOS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES SOBRE OS BIOLÓGICOS E O <i>Fusarium tucumaniae</i>	47
3.4 ESTUDO 2 - PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium tucumaniae</i>	50
3.5 ESTUDO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA INFESTADAS COM <i>Fusarium tucumaniae</i> E SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS	53
3.6 TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE A INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ EM SOJA	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1 ESTUDO 1 – TESTE DE COMPATIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DOS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS SOBRE OS BIOLÓGICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES E <i>Fusarium tucumaniae</i>	59
4.2 ESTUDO 2 - PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium tucumaniae</i>	62
4.3 ESTUDO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA INFESTADAS COM <i>Fusarium tucumaniae</i> E SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS	65
4.4 TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE A INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ EM SOJA	77
5 CONCLUSÕES	80
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

A soja é a *commodity* agrícola de maior importância mundial. O Brasil é o segundo maior produtor e o maior exportador da oleaginosa, o que gerou para o país, na safra 2018/2019, dividendos econômicos de U\$ 40,9 bilhões (EMBRAPA SOJA, 2019).

Por alguns autores é considerada a cultura agrícola mais antiga que se tem relato (CÂMARA, 2012; EMBRAPA SOJA, 2018; APROSOJA BRASIL, 2018). Uma vasta expansão territorial da cultura ocorreu devido a esta apresentar adaptabilidade, potencial produtivo e capacidade produtora de óleo e proteína. Neste contexto, o cultivo da oleaginosa passou a agregar diversas tecnologias que englobam recursos tecnológicos, da semeadura até a colheita (BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017; EMBRAPA SOJA, 2018; APROSOJA BRASIL, 2018).

A tecnologia de produção de sementes de soja tem acompanhado a expansão territorial da cultura (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). No entanto, devido a condições de baixa umidade e temperatura amena no armazenamento, os fitopatógenos encontram nesta, um substrato ideal para manterem dormentes e viáveis suas estruturas de resistência, o que lhes confere sobrevivência e disseminação. Sendo assim, a semente é o principal veículo de dispersão para fitopatógenos¹ (MARCOS-FILHO, 2015).

Atualmente, cerca de 50 fitopatógenos acometem a cultura da soja, sendo que somente dois não são transmitidos via sementes. Contudo, um dos fatores de maior importância, ligado à produtividade de soja, no que tange a limitação, são as doenças. Neste cenário, prejuízos dos mais variáveis percentuais são registrados (HENNING, 2004).

As doenças fúngicas radiculares possuem agentes causais que estão entre os de maior agressividade e difícil controle. Entre estas, a podridão vermelha da raiz, causada por cinco espécies de *Fusarium*. No Brasil foram identificados o *F. brasilense*, *F. cuneirostrum* e *F. tucumaniae*, sendo este último o mais disseminado. Esta doença tem gerado perdas significativas em lavouras comerciais (GÁSPERI;

¹ Organismo que causa doença em plantas (BERGAMIN FILHO; KITAJIMA, 2018).

PRESTES; COSTAMILAN, 2003; FREITAS; MENEGETTI; BALARDIN, 2004).

O *Fusarium* spp. infecta as raízes causando manchas avermelhadas no córtex e destruição das mesmas, o que reflete em sintomas de folha carijó na parte aérea. Por se tratar de fungo habitante do solo, sua disseminação e sobrevivência são facilitadas, pois mantem-se em restos culturais (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011). Também é transmitido via sementes, fato este promovido pelos clamidósporos², suas estruturas de resistência (BALARDIN *et al.*, 2005). Muito agressivo, perdas de produtividade chegaram a 37,38% (FREITAS; MENEGETTI; BALARDIN, 2004).

O controle e prevenção da podridão vermelha da raiz, bem como de todas as demais doenças da cultura, devem ser realizadas, na medida do possível, integrando práticas de manejo genético, cultural e químico (FREITAS; MENEGETTI; BALARDIN, 2004; REIS *et al.*, 2012; SALVADORI *et al.*, 2016). O tratamento de sementes (SALVADORI *et al.*, 2016) e cultivares resistentes (YORINORI; NOMURA, 1994; GÁSPERI; PRESTES; COSTAMILAN, 2003) são as técnicas mais indicadas. Este primeiro é o mais empregado, sendo que, atualmente, a cultura é dependente do uso de fungicidas, para manutenção de sua produtividade. Isto, associada à falta de rotação de culturas e sementes sem boa procedência, tem favorecido o uso quase que exclusivo de fungicidas, no controle de doenças.

Entretanto, na busca da redução do uso de produtos fitossanitários³, como os fungicidas, bem como de resultados efetivos no controle de patógenos de solo, como o *Fusarium* spp., tem-se levado em consideração a possibilidade de utilização de microrganismos benéficos (HIDALGO, 2018). Uma vez que, comprovadamente, estes possuem diversas interações ecológicas com as plantas e fitopatógenos. Com as plantas, a simbiose e o associativismo são os mais comuns, sendo que estimulam o crescimento vegetal e colonizam a rizosfera⁴. Enquanto que

² Estruturas especializadas de resistência presente em muitos fungos fitopatogênicos. Constituído por uma única célula com citoplasma condensado e parede espessa, de formato esférico ou oblongo, são formados nas hifas terminais ou intercalares (AMORIM; PASCHOLATTI, 2018).

³ Refere-se aos agroquímicos, fungicidas e inseticidas, utilizados neste trabalho.

⁴ Região ao redor das raízes, geralmente com 1 a 3 mm, onde há crescimento bacteriano, podendo variar de acordo com fatores relacionados ao solo, idade e espécie vegetal, dentre outros (CAMPBELL; GREAVES, 1990).

com os fitopatógenos, o parasitismo, antibiose e a competição, são os mais divulgados e estudados (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; GÖRGEN *et al.*, 2009).

Conhecidamente a utilização de inoculação e coinoculação de sementes, com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, trazem diversos benefícios à cultura da soja (VARGAS; SUHET, 1992; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). No entanto, não se constatou relatos, que dão enfoque à utilização destes no manejo de fitopatógenos, somente como promotores de crescimento vegetal, visando incrementos de produtividade (PARDINHO; PRIMIERI, 2015; BRACCINI *et al.*, 2016). Correlato a isto, outro agente biológico, o *Trichoderma* spp. é amplamente estudado na cultura (HARMAN, 2000; SNEH; ICHEILEVICK-AUSTER, 1998; ROMEIRO, 2007; CARVALHO FILHO *et al.*, 2008), alguns trabalhos com enfoque em tratamento de sementes (MERTZ; HENNING; ZIMMER, 2009), mas nada específico para controle de *Fusarium tucumaniae*.

Tendo isso exposto e avaliando os benefícios da utilização desses agentes biológicos, verificou-se a possibilidade de testar a tri inoculação (*Bradyrhizobium* sp., *Azospirillum* sp. e *Trichoderma* sp.) às sementes de soja, uma vez, que não há trabalhos desta prática e, que as probabilidades apontam para resultados positivos. Também, não há publicações referentes à compatibilidade entre os tratamentos fitossanitários de sementes, mais usados, com estes três agentes biológicos. Havendo necessidade de respostas, quanto ao uso conjunto destes produtos, dando, maior segurança na sua recomendação.

Ademais, avaliação específica sobre o agente causal da podridão vermelha da raiz em soja, *F. tucumaniae*, frente ao uso da interação entre tratamentos fitossanitários de sementes e agentes biológicos, foi pouco estudada até o momento, o que evidencia ainda mais a importância deste estudo.

A possibilidade de se ter uma recomendação técnica de tratamento de sementes para o controle, ou a supressão de um dos patógenos de maior importância na cultura da soja, com a associação de produtos fitossanitários e biológicos, vem de encontro a sustentabilidade agrícola. Além de que, a semente é o principal insumo agrícola, sendo que, a partir da garantia da qualidade e da proteção destas, pode-se almejar maiores possibilidades de rentabilidade e menores problemas fitossanitários.

Neste contexto, o presente trabalho busca estudar se há efeito de tratamentos fitossanitários e agentes biológicos em sementes, associados ou não,

sobre o *F. tucumaniae*, agente causal da podridão vermelha da raiz em soja.

1.1 OBJETIVO GERAL

Obter informações científicas quanto ao tratamento de sementes de soja, visando o controle de *F. tucumaniae*, agente causal da podridão vermelha da raiz, a partir da aplicação de produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Com esta finalidade, foram realizados quatro estudos, que permearam as áreas de microbiologia, fitopatologia e tecnologia de sementes. Desta forma, os objetivos específicos foram:

Estudo I

- Verificar *in vitro* o efeito dos produtos fitossanitários sobre os biológicos, utilizados no tratamento de sementes de soja.
- Encontrar a dose compatível entre produtos fitossanitários e biológicos, utilizados no tratamento de sementes de soja.
- Constatar *in vitro* a dose de produtos fitossanitários utilizados para o tratamento de sementes de soja que controla *F. tucumaniae*.

Estudo II

- Observar *in vitro*, se há efeito dos produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não, sobre o crescimento micelial de *F. tucumaniae*.

Estudo III

- Avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja, após a infestação com *F. tucumaniae* e tratamentos com produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não.
- Verificar a transmissibilidade de *F. tucumaniae* para as sementes, após tratamentos com produtos fitossanitários e biológicos, associados ou não.
- Averiguar se o tratamento com produtos fitossanitários possui efeito sobre a viabilidade e a qualidade fisiológica de sementes de soja.

Estudo IV

- Analisar *in vivo*, se o tratamento de sementes com produtos fitossanitários e biológicos reduz a transmissão de *F. tucumaniae* para plantas de soja.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SOJA: HISTÓRICO, EXPANSÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

É uma planta originária da China, considerada por aquele povo um dos cinco grãos sagrados (CÂMARA, 2012), utilizada a mais de 5000 anos a.C. (APROSOJA BRASIL, 2018). Muito distinta da conhecida atualmente, era uma planta rasteira que crescia as margens de rios e lagos. Cruzamentos espontâneos com espécies selvagens, o melhoramento e a seleção realizados pelos cientistas da época foram decisivos na domesticação (EMBRAPA SOJA, 2018; APROSOJA BRASIL, 2018).

Para o Ocidente, foi trazida em decorrência das navegações europeias, onde despertou interesse como oleaginosa e possível utilização na dieta animal a partir do século XVIII (APROSOJA BRASIL, 2018). Neste continente, foi espalhada em jardins botânicos, nos quais, testou-se o potencial da cultura (CÂMARA, 2012). Na América estreou somente no século XX. Nos Estados Unidos, há relatos de cultivos comerciais (EMBRAPA SOJA, 2018), inicialmente como uma forrageira (CÂMARA, 2012).

Somente a partir de 1880, os teores de óleo e proteína entusiasmaram pesquisadores e industriais (APROSOJA BRASIL, 2018), que com ensaios comprovaram o potencial da cultura e recomendaram seu cultivo (CÂMARA, 2012). Contudo, em 1919, passou a ser exportada, sendo tal importância corroborada com a fundação da *American Soybean Association* (ASA), em 1921. A partir de 1930, seu cultivo como granífera, foi aumentado e, a após 1940, esta finalidade superou a de planta forrageira (CÂMARA, 2012; APROSOJA BRASIL, 2018).

No Brasil, na Escola de Agronomia da Bahia, foi introduzida advinda dos Estados Unidos, em 1882, sem sucesso. Ensaio foram realizados pelo Instituto Agrônomo de Campinas, em 1891, primeiramente, como forrageira (EMBRAPA SOJA, 2018). Ainda em São Paulo, em 1901, houve a distribuição de sementes para produtores, o que é tido como início da introdução da cultura no país (APROSOJA BRASIL, 2018). No Rio Grande do Sul, em 1914, formalizou-se seu cultivo e estudo

na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EMBRAPA SOJA, 2018). Conseqüentemente, ainda neste Estado, em 1949, com a ascensão constante da oleaginosa, teve-se a primeira exportação de soja do Brasil (CÂMARA, 2012).

Desde então, pesquisas acompanharam e alavancaram a promissora expansão da cultura (BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017; APROSOJA BRASIL, 2018). Nas décadas seguintes, com os ganhos com pesquisas e tecnologias aplicadas a produtividade mais do que dobrou (EMBRAPA SOJA, 2018), ocorrendo concomitantemente a expansão territorial da cultura, que atingiu a região central do Brasil (CÂMARA, 2012). Com esta expansão, registrou-se crescimento em área plantada por três décadas (BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017). Dada importância da cultura, em 1975 criou-se a EMBRAPA Soja (APROSOJA BRASIL, 2018).

Contudo, o cultivo atual da oleaginosa, em quase todo o território nacional é consequência de pesquisas que abrangem os todos os aspectos genéticos, técnicos, produtivos e mercadológicos (CÂMARA, 2012; APROSOJA BRASIL, 2018). Adicionado e concomitante a todos estes fatores de expansão, o uso de cultivares transgênicas, a consolidação da pecuária nacional, a globalização do mercado, foram decisivos para a que a soja se tornasse a comódite de maior importância mundial (BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017; EMBRAPA SOJA, 2018). Sua importância alicerça-se também, em seu amplo espectro de produtos industrializados a partir de seus grãos (BENAVIDES; SALAZAR; DIWEKAR, 2013; RIGO *et al.*, 2015; CASTANHEIRA *et al.*, 2015).

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial, com 35,82 milhões de hectares e produtividade média de 3.206 kg ha⁻¹. O consumo interno na safra 2018/2019 chegou a 44 milhões de toneladas. As exportações, somados óleo, farelo e grão, alcançaram patamares de U\$ 40,9 bilhões (EMBRAPA SOJA, 2019).

Possui seu cultivo em quase todos estados da federação, do Rio Grande do Sul à Roraima, com 35,82 milhões de hectares. Sendo que no Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás, está concentrada 68,09% da área cultivada (EMBRAPA SOJA, 2019). Além disso, as estatísticas em torno da cultura são muito promissoras. Nacionalmente, para os próximos 10 anos é projetado aumento na produção em torno de 33% e de 10 milhões de hectares (MAPA, 2018).

2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

Com a expansão e o fomento da cultura da soja, o emprego de pesquisas, que abrangem aspectos genéticos, técnicos e mercadológicos, para alcançar maior desempenho produtivo, tornou-se efetivo (CÂMARA, 2012; BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017; EMBRAPA SOJA, 2018; APROSOJA BRASIL, 2018). Contudo, a cultura é dependente do emprego de práticas culturais para que responda produtivamente (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2013).

Entre os fatores limitantes à produtividade, as doenças que a acometem são um dos mais expressivos. Mais de 50 patógenos (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2013), com grande diversidade etiológica causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides (ALMEIDA *et al.*, 1997; HENNING *et al.*, 2005; GRIGOLLI, 2014) podem acometer a cultura. As perdas variam de 15 a 100% em alguns casos (OLIVEIRA; ROSA, 2014). Estas oscilam de acordo com o ano agrícola, as condições climáticas, a cultivar e o manejo empregado (ALMEIDA *et al.*, 1997; EMBRAPA SOJA, 2013; GRIGOLLI, 2014).

Fatores como a monocultura e/ou sucessão de culturas, a utilização de sementes não certificadas (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2013), a expansão da área de plantio - que possibilita ter a cultura a campo durante todo o ano - favorecem a sobrevivência de patógenos, aumentam o potencial de inóculo⁵ (GRIGOLLI, 2014) e a disseminação dos mesmos. Assim, a combinação entre patógeno, hospedeiro e ambiente, que desencadeará as doenças, é favorecida, o que tem aumentado o número de doenças registradas na cultura (HENNING *et al.*, 2005; GRIGOLLI, 2014).

As principais doenças que acometem a cultura da soja podem ser classificadas em grupos. Alguns autores classificam de forma mais específica (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2013) outros mais abrangentes (ALMEIDA *et al.*, 1997; GRIGOLLI, 2014), cada um com enfoque diferenciado. Todavia a Embrapa Soja, que é o maior Centro de referência em pesquisa da cultura no país, classifica em doenças fúngicas foliares; doenças fúngicas da haste, vagem e

⁵ Fonte de propágulos do fungo (WINDHAM; WINDHAM, 2010).

sementes; doenças fúngicas radiculares; doenças bacterianas; doenças causadas por vírus e doenças causadas por nematoides.

Contudo, um dos fatos mais relevantes no que tange a doenças na cultura da soja, é que somente três não são propagadas via sementes (GODOY *et al.*, 2016). Assim, os enfoques em tecnologia de produção de sementes, bem como fitossanitário tem sido destaque em pesquisas na última década.

2.3 SEMENTES DE SOJA: ABORDAGEM FITOSSANITÁRIA

A semente é o insumo mais importante para a agricultura (JAFEE; SRIVASTAVA, 1992; MARCOS-FILHO, 2015), já que sua existência é a razão pela qual há a garantia de sobrevivência das espécies. A partir da sua descoberta houve o início da agricultura e, conseqüente fixação de civilizações (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Quando se trata da cultura da soja, devido a importância mundial e nacional (MAPA, 2018), este fato se acentua. Nacionalmente foram produzidas na última safra 3.069.575 t de sementes básicas (ABRASEM, 2019), ou seja, mais de 76 milhões de sacas de 40 kg.

No Brasil a produção de sementes é baseada na Lei 10.711/2003, a qual dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas e o Registro Nacional de Semente e Mudas (RENASEM) e dá outras providências (BRASIL, 2003). Para a produção de soja, especificamente, a Instrução Normativa Nº 45, de 17 de Setembro de 2013, determina os padrões de identidade e qualidade para a produção e, a comercialização de sementes de soja e outras culturas (BRASIL, 2013).

Esta legislação, vem de encontro às necessidade do setor sementeiro, no sentido de proteção de cultivares e valorização das sementes legitimadas por esta. Neste sentido, o Brasil conta com uma ampla rede de produtores de sementes de soja (ABRASS, 2019), portanto, a produção e utilização de sementes de qualidade são de fundamental importância para o setor sojícola.

Segundo Marcos-Filho (1998), sementes de qualidade são as que possuem um conjunto de características que determinam seu valor para a semeadura, indicando que o desempenho das sementes somente pode se indicado, de maneira

consistente, quando é considerada a interação dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários.

Atributos genéticos são as características de uma espécie ou cultivar, que são transmitidos pelas sementes às plantas que as gerarão. Quando com garantia de qualidade e procedência, as sementes tem capacidade de gerar plantas iguais as eleitas pelo seu multiplicador. Fisicamente, as sementes devem apresentar-se livres de impurezas e sujidades, as quais podem ser fontes de contaminantes, fitopatógenos e umidade, o que aumenta a deterioração destas (NAKAGAWA, 2009; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Quando aos atributos fisiológicos das sementes, avalia-se viabilidade e vigor⁶, citados como “capacidade teórica ou possibilidade de sucesso da semente manifestar suas funções vitais sob condições ambientais favoráveis” (MARCOS-FILHO, p. 565, 2015). Sendo, portanto, de suma importância a garantia de germinação e vigor desta. A avaliação destes atributos é realizada através de testes laboratoriais, permitindo a partir das interpretações, a tomada de decisões quanto a utilização dos lotes e a predição do desempenho deste a campo.

Como teste de viabilidade, o Teste de Germinação é padronizado pelas Regras de Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009a), o qual determina o valor das sementes para a semeadura, sendo que pela legislação, para sementes de soja certificadas (C1 e C2) e não certificadas (S1 e S2) é de no mínimo 80%. A avaliação de vigor pode ser realizada através de diversos testes, físicos, fisiológicos, bioquímicos, de resistência a estresse, de integridade das membranas e de desempenho de plântulas. Cada um possui um princípio e uma finalidade. No entanto, o objetivo da realização de testes de vigor é a detecção de diferenças no potencial fisiológico, que forneçam informações adicionais ao teste de germinação (KRZYZANOSWIKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Dada importância, adiciona-se que das culturas utilizadas na alimentação humana, em torno de 90% são propagadas via sementes, que são acometidas por fitopatógenos, também transmitidos por estas (HENNING, 2004). No Brasil, na década de 70 iniciaram-se os primeiros estudos de patologia de sementes

⁶ Soma daquelas propriedades que determina o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

(SOAVE, 1987).

Há diferentes tipos de associações entre patógenos e sementes: misturados, aderidos de forma passiva ou em tecidos internos destas (ANSELME, 1987; BRASIL, 2009b; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Estes dois primeiros são ditos como infestantes ou saprófitas (BRASIL, 2009b; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), sendo influenciados pelo manejo cultural, e principalmente pela anatomia das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Esta última associação é referida como infecção, sendo que quando infectadas, os fitopatógenos podem levar a produção de embriões anormais (ANSELME, 1987). No entanto, um patógeno pode ter mais de uma associação à sementes (BRASIL, 2009b). Sendo que em todas as associações, os fitopatógenos, normalmente causam deterioração à sementes, refletindo em menor viabilidade e vigor (BEWLEY; BLACK, 1994).

Dentre os fitopatógenos, fungos, bactérias, nematoides e vírus podem ser transmitidos via sementes. O maior número de espécies associadas à sementes são de fungos e, dentre os fitopatogênicos, há predomínio dos transmitidos pelas sementes de seus hospedeiros (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). A quantidade de inóculo e a sua localização nas sementes determinam a transmissibilidade para a planta. Alguns são infectados diretamente pela planta mãe, como é o caso do *Fusarium* spp., outros são transmitidos ainda na formação dos frutos ou após a sua maturação (ANSELME, 1987).

A semente é um excelente veículo para os fitopatógenos, uma vez que estas ficam em condições de temperatura e umidade controladas, o que garante a estes microrganismos, estado dormente de suas estruturas de propagação e futura introdução, ou reintrodução em lavouras (GOULART, 2010; MARCOS-FILHO, 2015). Neste sentido, testes de sanidade de sementes são ferramentas preventivas, devendo ter confiabilidade, resultados reproduzíveis em curto prazo e baixo custo. Também podem elucidar casos de baixa germinação de lotes (HENNING, 2004) e neste sentido, podem ser utilizados acertadamente, evitando transmissibilidade de fitopatógenos (ANSELME, 1987) e recomendado tratamento das mesmas (HENNING, 2004).

Para detecção de fungos em sementes de soja, o teste de papel filtro, ou *Blotter Test* é o mais utilizado e recomendado, uma vez que permite a observação

do fitopatógeno diretamente no hospedeiro (semente), em condições naturais de desenvolvimento (HENNING, 2004). Na cultura da soja, somente os agentes causais da ferrugem (*Phakopsora pachyrhizi*), do oídio (*Erysiphe difusa*) (HENNING, 2004) e da ferrugem américa (*P. meibomiae*) (GODOY *et al.*, 2016) não são transmitidos por sementes, o que enaltece o fato da utilização de sementes de qualidade e de procedência.

A detecção de patógenos associados as sementes, permite a tomada de decisão quanto a utilização do lote, bem como sobre a realização do tratamento destas. Atualmente, o tratamento de sementes é uma prática amplamente utilizada e recomendada, visando redução da introdução de patógenos em novas áreas, da transmissibilidade destes via sementes e aumento da produtividade (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; HENNING, 2004).

2.4 TRATAMENTO DE SEMENTES NA CULTURA DA SOJA

No manejo convencional⁷ da cultura, o controle de doenças de soja é realizado quase que exclusivamente de forma química (OLIVEIRA; ROSA, 2014). A soja encontra-se entre as culturas, que se respalda no uso de fungicidas para garantia de sua produtividade (ZAMBOLIM; JESUS JUNIOR, 2008). Apesar disso, o manejo integrado de doenças deve ser aplicado, mantendo as perdas abaixo do limiar de dano econômico, reduzindo a disseminação de inóculo, os custos/prejuízos econômicos e/ou ao ambiente (BERGAMIN FILHO, 2008). Neste sentido, o uso de sementes certificadas (HENNING, 2004), cultivares resistentes, cultivo em plantio direto, rotação de culturas (TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA, 2013; OLIVEIRA; ROSA, 2014) e evasão (BEDIN *et al.*, 2007), devem ser praticados.

No Brasil, as primeiras recomendações de uso de fungicidas no tratamento de sementes na cultura da soja são relatadas por Ferreira, Lehman, Almeida (1979). Estes autores citam o uso de Pentacloronitrobenzeno para o controle

⁷ Agricultura convencional tradicional requer grandes quantidades de insumos externos, como fertilizantes inorgânicos e agrotóxicos para sua manutenção (ROSSET *et al.*, 2014).

de podridões radiculares (*Rizoctonia* spp. e *F. solani*) e bissulfeto de tetrametil tiuran, no tratamento de sementes para controle de mancha púrpura (*Cercospora kikuchii*). Em 1984, autores começaram a citar em suas publicações as vantagens do uso de fungicidas na cultura, mesmo que em tratamentos de sementes (NASSER *et al.*, 1984).

Nas publicações da EMBRAPA, de 1984 a 1995, não se encontrou relato de recomendação de fungicidas para o controle de doenças de parte aérea na cultura. No entanto, novas doenças foram diagnosticadas e descritas. Este fato foi seguido pelo uso intensivo de fungicidas, que garantiu o controle destas, o aumento da produtividade, tornou a cultura dependente do uso destes. Da mesma forma que ocorreu a ampliação das áreas de cultivo, a introdução de novas tecnologias e mercados associados à cultura, sucedeu-se a evolução do uso e o desenvolvimento de moléculas fungicidas (EMBRAPA SOJA, 1996; OLIVEIRA; ROSA, 2014; BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017). Na década de 1970 surgiram os triazóis, e na década de 1990, as estrobirulinas, o grupo mais novo entre os fungicidas (ZAMBOLIN; JESUS JUNIOR, 2008).

Os autores supracitados discorrem que desde então, os fungicidas evoluíram, quanto as suas formulações, dosagens, a toxicidade, aos critérios de aplicação. Esta evolução refletiu os avanços que a tecnológica e produtiva expansão agrícola teve nas últimas décadas, acarretando em um maior incentivo de seu uso.

Seguindo esta evolução, o tratamento das sementes é essencial para garantir proteção contra doenças nos estádios iniciais da cultura. A semente é o principal meio de disseminação e introdução de patógenos em áreas não contaminadas (HENNING, 2004; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Além do aumento significativo de patógenos atrelados à cultura da soja (HENNING, 2005), o uso de sementes não certificadas (RAMPIM *et al.*, 2016), o manejo inadequado do solo, a falta de rotação de cultura (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004; REIS *et al.*, 2012), a redução de cultivares resistentes a certos patógeno (SOARES; ARIAS, 2016), tem agravado os danos e a propagação de alguns patógenos, principalmente os de solo, como o *Fusarium* spp.

O tratamento de sementes com fungicidas é orientação incontestável (OLIVEIRA; ROSA, 2014; SALVADORI *et al.*, 2016), pois assegura o estabelecimento

de estande, melhora o estabelecimento de plântulas, pois protege e controla patógenos transmitidos pelas sementes, reduz a possibilidade de introdução dos mesmos em áreas indenidas e diminuem a exposição das sementes à patógenos existentes no solo (HENNING, 2005; FRANÇA-NETO *et al.*, 2016; NUNES, 2016; REIS; REIS; CARMONA, 2019).

Às sementes são indicados tratamentos com fungicidas, inseticidas, nematicidas, micronutrientes, filmes de recobrimento, inoculantes e biológicos, devendo ser realizado nesta sequência (HENNING, 2005; FRANÇA-NETO *et al.*, 2016; NUNES, 2016).

Praticamente, todos os grupos químicos de fungicidas são recomendados para o controle de doenças na cultura da soja (SALVADORI *et al.*, 2016, REIS; REIS; CARMONA, 2019). Entre estes, destacam-se o dialquiditiocarbamato, que age privando as células fúngicas da necessidade de metais; os benimidazóis, agindo sobre as tubulinas; as estrubitulinas, que inibem a respiração mitocondrial; as fenilpirimidinas, interferindo na fosforilação oxidativa; o fenilpirrole, que inibe a fosforilação da glicose (REIS; FORCELINI; REIS, 2001, REIS; REIS; CARMONA, 2019) e as acilalaninatos agem sobre a síntese de ácidos nucleicos (ZAMBOLIM; VENÂNCIO; OLIVEIRA, 2007).

Os fungicidas aplicados às sementes podem ser sistêmicos e não sistêmicos. Os não sistêmicos formam uma camada protetora, evitando a colonização por fungos presentes no solo (REIS; FORCELINI; REIS, 2001; FRANÇA-NETO *et al.*, 2016) e impedindo que patógenos presentes no interior das sementes atinjam órgãos aéreos. Neste último caso, é necessário que sejam absorvidos pelo micélio para serem controlados. Quando sistêmicos, permanecem na superfície das sementes e, após a germinação destas, são absorvidos pela radícula e translocados na plântula (REIS; FORCELINI; REIS, 2001; REIS; REIS; CARMONA, 2019).

No entanto, o tratamento de sementes não melhora a qualidade de um lote que apresenta danos diversos (REIS; FORCELINI; REIS, 2001) e indica-se que seja realizado um teste de sanidade de sementes, para que se tenha subsídio nas decisões quanto à aplicação ou não do tratamento, o fungicida a ser utilizado e a mistura ou não de fungicidas, para aumentar o espectro de ação (REIS; REIS; CARMONA, 2019).

O tratamento é prática empregada em 98% das sementes de soja utilizadas no Brasil. Pode ser realizado com máquinas específicas, empresas produtoras de sementes, chamado de tratamento industrial de sementes (TSI), ou máquinas simples e/ou adaptadas, nas propriedades. O TSI é uma tecnologia recente, porém, consolidada, chegando a quase 100% das sementes certificadas comercializadas no país, por apresentar melhor qualidade e segurança no tratamento (NUNES, 2016).

Contudo, há necessidade de se entender especificamente cada tripé fitopatológico, planta-ambiente-patógeno, para que se efetive o controle e desonere os custos de produção. Conseguindo com isso maiores informações referentes à efetividade de controle e/ou redução de perdas com tratamentos de sementes, sejam químicos ou biológicos disponibilizados no mercado (HENNING, 2005; FRANÇA-NETO *et al.*, 2016; NUNES, 2016).

Cunha *et al.* (2015) em experimento no Sul do Rio Grande do Sul, testando fungicidas e inseticidas no tratamento de sementes, verificaram efeitos benéficos em diversas fases do crescimento e do desenvolvimento da cultura, porém, não houve efeito sobre a produtividade em plantas de soja. Já em condições de laboratório, Rocha *et al.* (1997) encontraram redução de até 82% de *F. semitectum* e 48,5% de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja tratadas com benomyl + tiram, em comparação com as testemunhas. Em campo, relataram o aumento do estande de plantas e produtividade com os mesmos tratamentos.

Outro fato a ser observado é a compatibilidade dos tratamentos com inoculantes. Pereira *et al.* (2010) verificaram que carbendazim + tiram e thiabendazole + tiram, reduziram a nodulação na cultura, o que pode ter sido em decorrência a incompatibilidade entre inoculante e tratamentos.

Contudo, o tratamento de sementes com fungicidas, como prática consolidada (HENNING, 2005), de baixo custo (HENNING *et al.*, 2010) tem apresentado aumentos significativos de produtividade (BALARDIN *et al.*, 2011) e redução de inóculos (ROCHA *et al.*, 1997). Acrescenta-se a isto o fato da evolução tecnológica ao desenvolvimento de novas moléculas com alta eficiência, que mesmo em baixas doses, podem promover a proteção adequadas as sementes (MARCOS-FILHO, 2015), devendo, portanto, ser permanentemente recomendada.

2.5 PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ (*Fusarium tucumaniae*) EM SOJA

Os fungos pertencentes ao gênero *Fusarium* são classificados como Anamorfos (não possuem ciclo sexuado) (GODOY *et al.*, 2016), possuem especificidade de parasitismo, pois cada forma especial é relacionada à patogenicidade de uma espécie hospedeira (SNYDER; HANSEN, 1940).

O *Fusarium* spp., na cultura da soja causa a podridão vermelha da raiz (PVR) ou síndrome da morte súbita. É agente causal de diversas doenças em várias outras culturas (KIMATI *et al.*, 1997). Desde que relatado, em 1972, o agente etiológico desta doença foi relatado como *F. solani* (Mart.) Sacc. (ROY *et al.*, 1989; RUPE, 1989; ALMEIDA *et al.*, 1997; BAHAR; SHAHAB, 2012) ou a sua forma f.sp. *glycine* (ALMEIDA *et al.*, 1997; ROY *et al.*, 1997).

No Brasil, foi observada a primeira vez em 1981 (ALMEIDA *et al.*, 1997). Na soja, possuem habilidade de colonização de raízes e plantas com grande potencial destrutivo (KILLEBREW *et al.*, 1988; ROY *et al.*, 1989). Perdas de produtividade chegaram a 37,78%, em lavouras do Rio Grande do Sul (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004).

Nos Estados Unidos, a PVR foi relatada no estado do Arkansas em 1970 e, posteriormente em outras regiões produtoras do país. Porém, naquela época, com etiologia não comprovada, relatou-se estar associada à *Heterodera glycyne* (ROY *et al.*, 1989).

Alguns autores indagavam sobre a possibilidade de haver outros patógenos associados à PVR. Hirrel (1987) encontrou bactérias patogênicas no xilema de plantas de soja com PVR. Bozzola *et al.* (1986), relataram que frequentemente há fungos não identificados associados com a PVR. Roy *et al.* (1989), relataram autores que afirmavam que *F. solani* causa a maioria, mas não todos os sintomas da PVR em soja, quando inoculado em casa de vegetação. No entanto, em 1989, Roy *et al.* (1989), comprovaram, pelo postulado de Koch que *F. solani* era o agente causal primário da PVR. Sendo que, outros patógenos podem infectar a planta posteriormente (ABNEY; RICHARDS; ROY, 1993).

Estudos mais recentes descrevem como o complexo de espécies de *Fusarium* causadores de PVR (AOKI; O'DONNELL; SCANDIANI, 2005; BAHAR;

SHAHAB, 2012). Aoki, O'donnell, Scandiani (2005) estudaram taxonomicamente, filogeneticamente e patologicamente e revelaram que quatro espécies distintas de *Fusarium* causam a PVR em soja, na América do Sul, sendo *F. brasilense*, *F. cuneirostrum*, *F. tucumaniae* e *F. virguliforme*, sendo que Godoy *et al.* (2016) citam também *F. crassistipitatum*.

Como características, fungos do gênero *Fusarium* possuem hifas septadas, produzem conídios⁸ em conidióforos livres, formam esporodóquios⁹ e têm esporos curvos (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011). Especificamente o *F. tucumaniae*, produz conídios esporodóquiais mais longos e estreitos. Possuem fácil disseminação através de conídios, que se transformam em clamidósporos¹⁰. Estas estruturas tornam-se o inóculo primário da PVR (ROY *et al.*, 1997).

Quando infectadas por *Fusarium* spp., causadores de PVR, as plantas de soja apresentam inicialmente manchas avermelhadas nas raízes, logo abaixo do colo da planta. Com a ampliação da mancha, esta se torna vermelho-arroxeadada à negra, envolvendo toda a raiz. O córtex no colo da planta necrosa, o lenho fica castanho claro e forma-se um anel avermelhado na base da planta, coberto por conídios (GODOY *et al.*, 2016).

Os sintomas na parte aérea são o aparecimento de “folhas carijó”, com manchas cloróticas e necróticas internervais e a região das nervuras permanece com coloração verde normal (ALMEIDA *et al.*, 1997; YORINORI, 1998), caracterizando-as por morte internerval (Figura 1), sendo que quando este fato acontece, já ocorreu a morte das raízes secundárias o que, por consequência, acarretará a morte da planta (ROY *et al.*, 1997). Pode ocorrer em reboleiras ou de forma generalizada (EMBRAPA SOJA, 2010).

É uma doença muito invasiva, principalmente se atingir a planta nas fases iniciais. Quando atinge um nível elevado de colonização até o florescimento,

⁸ Esporos assexuais (MASSOLA JÚNIOR, 2018).

⁹ É uma estrutura fúngica caracterizada por um estroma (massa tecidual compacta) do qual emerge um aglomerado de conidióforos, cuja forma é semelhante a uma almofada (MASSOLA JÚNIOR, 2018).

¹⁰ Estruturas especializadas de resistência presente em muitos fungos fitopatogênicos, constituído por uma única célula com citoplasma condensado e parede espessa, de formato esférico ou oblongo, são formados nas hifas terminais ou intercalares (AMORIN; PASCHOLATI, 2018).

reduz a fixação de vagens e grãos. Se a colonização for posterior ao florescimento, a redução ocorrerá no número de vagens, de grãos por vagem e peso de grãos (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004). Além da alta umidade do solo, temperaturas amenas, em torno de 15 °C favorecem o aumento dos sintomas nas raízes. De 22 °C à 24 °C, beneficiam o progresso dos sintomas na parte aérea (SCHERM; YANG, 1996).

Vários trabalhos estudando PVR foram realizados (BOZZOLA *et al.*, 1986; ROY *et al.*, 1989; ABNEY; RICHARDS; ROY, 1993), constatando-se que plantas cultivadas em áreas irrigadas e úmidas são mais propensas ao ataque de *F. solani*. Este fato é mais agravado quando as plantas se encontram no estágio V₃, quando comparado ao V₈ (ROY *et al.*, 1989).

Figura 1 – Sintomas de Podridão Vermelha da Raiz em Folhas de Soja (Folha carijó).



Fonte: Mazaró (2019).

A indicação de controle de PVR em soja é baseada na utilização de práticas culturais, como rotação de culturas e utilização de plantas de cobertura (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004; REIS *et al.*, 2012), no emprego de cultivares resistentes (GÁSPERI; PRESTES; COSTAMILAN, 2003) e no tratamento de sementes (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004; HENNING, 2004; REIS *et al.*, 2012).

Há variações de resistência entre as cultivares (YORINORI; NOMURA,

1994; GÁSPERI; PRESTES; COSTAMILAN, 2003). Gásperi, Prestes, Costamilan (2003) testaram a reação de 30 cultivares de soja à PVR, por meio de dois métodos de inoculação, conforme o nível de severidade. Este teste gerou uma classificação em relação a severidade, sendo altamente susceptível (mais de 90% de severidade), suscetível (76 à 90%), moderadamente susceptível (51 à 75%), moderadamente resistente (26 à 50%) e resistente (0 à 25%).

Quanto ao manejo mais adequado, há variações entre os locais, o tipo de rotação e manejo do solo empregado (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004; REIS *et al.*, 2012).

O tratamento de sementes com tiofanato metílico, carbendazim, carboxina + tiram e piraclostrobina são indicados como tendo um bom controle sobre *Fusarium* spp. (SALVADORI *et al.*, 2016). Comprovadamente, existe transmissibilidade de *F. solani* de sementes às plantas, mesmo que em concentrações de 0,5% de inóculo armazenado juntamente com as sementes (BALARDIN *et al.*, 2005).

2.6 INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO E USO DE BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA

A introdução de microorganismos às sementes baseia-se na indicação de uma das primeiras publicações de McNew (1960), a qual cita que o estímulo à antibiose é uma das medidas que devem ser adotadas para doenças radiculares. Sendo a rizosfera a zona ao redor da raiz, com uma composição diferenciada do restante do solo e tem sido o centro de estudos recentes que visam a produtividade de culturas (HIDALGO, 2018), portanto, aumentando-se a presença de microorganismos benéficos à ela, poderão haver ganhos às plantas, pela colonização da mesma e/ou por redução de fiopatógenos.

Neste aspecto, existem diferentes tipos de interação entre os microorganismos inoculados às sementes, estas são chamadas relações ecológicas entre estes e, entre estes e as plantas, no solo. As interações mais importantes ocorrentes são a simbiose, que ocorre entre indivíduos de espécies diferentes que permite vantagens recíprocas (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007); a antibiose,

quando uma espécie prejudica o desenvolvimento da outra através da liberação de substâncias no ambiente o parasitismo, quando um microrganismo coloniza e utiliza-se do corpo do outro em favor próprio e, a competição, quando competem por fatores do meio que se encontram (DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA-USP, 2019).

Assim são inoculados, ou seja, ocorre a aplicação nas sementes de microrganismos, que colonizam a rizosfera e o córtex radicular, simbiotes e associativos às plantas (HIDALGO, 2018) e/ou promotores de controle biológico de algum fitopatógeno (GÖRGEN *et al.*, 2009).

Entre os primeiros estão as bactérias fixadoras de nitrogênio (N), no caso da soja as do gênero *Bradyrhizobium* e diversas outras associativas, conhecidas como bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como é o caso das do gênero *Azospirillum* (HIDALGO, 2018). Entre os promotores de controle biológico, conhecidos também como bioprotetores, destaca-se a utilização de *Trichoderma* spp. (GÖRGEN *et al.*, 2009), assim, a inoculação na cultura da soja faz-se imprescindível.

O N é fundamental às funções vitais das plantas (TAIZ; ZIEGER, 2013). As pertencentes à família *Fabaceae*, obtêm este elemento através do processo de fixação biológica de N (FBN). Na cultura da soja, pressupõe-se que para cada 1.000 kg de grãos produzidos, demanda 80 kg de N (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007).

É através da simbiose, com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que a cultura da soja obtém o N que demanda para seu desenvolvimento (VARGAS; SUHET; 1992; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). O *Bradyrhizobium* é uma proteobacteria, gram negativa¹¹, aeróbias, quimiorganotróficas¹², possui forma de bastonetes, com tamanho que varia de 0,5-0,9 µm x 1,2-3,0 µm, movendo-se por um flagelo polar único ou dois a seis flagelos (SOMASEGARAM; HOBEN, 1994), conhecidamente usada em inoculantes na cultura da soja traz resultados positivos em relação à produtividade e redução de custos (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007).

Os inoculantes são insumos baratos e disponíveis no mercado, podendo ser encontrados na forma líquida, géis ou turfosos. A forma líquida é a mais veiculada

¹¹ São aquelas cujas paredes celulares não perdem a cor azul-arroxeadada quando submetidas a descoloração, após a coloração com violeta genciana (ABCMED, 2014).

¹² Organismos que obtêm energia a partir de compostos químicos orgânicos (MADIGAN; MATINKO; STAHL; 2010).

e usual e pode ser aplicada via sementes ou em sulco (VIEIRA NETO, 2008; BRACCINI, 2014). São recomendadas quatro estirpes para a cultura da soja, duas da espécie *B. elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019 (=29W) e duas da espécie *B. japonicum* (SEMIA 5079 ou CPAC 15 e SEMIA 5080 ou CPAC 7), sendo obrigatório o uso de ao menos duas destas nos produtos comerciais (BRASIL, 2014).

Com a inoculação destas bactérias às sementes, ocorre a colonização do sistema radicular via pelos e há a formação dos nódulos (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000; SANTOS; REIS, 2008), onde ocorre a FBN.

O processo de infecção do *Bradyrhizobium* nas raízes inicia com o reconhecimento bactéria-hospedeiro, ativado por substâncias excretadas pelas plantas, regulado por um complexo aparato gênico, sobretudo por proteínas NodD (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000; BROUGHTON *et al.*, 2006), seguindo com a constante troca de substâncias entre os envolvidos (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000; BROUGHTON *et al.*, 2003; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Entre as substâncias excretadas pelas plantas os flavonóides são os mais importantes no processo simbiótico, ativando a expressão gênica (Nod, Nol e Noe) (KISS *et al.*, 1998; PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000; BROUGHTON *et al.*, 2003; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Após a quimiotaxia¹³ que ocorre entre a bactéria e a planta, inicia-se o cordão de infecção, onde a bactéria se adere ao pelo radicular (SMIT; KIJNE; LUGTENBERG, 1989). Este processo é dependente de outras substâncias, que induzem desenvolvimento do nódulo, entre estas estão os exopolissacarídeos (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000), as lecitinas (HIRSCH, 1999) e os lipooligossacarídeos (BROUGHTON, 2006).

Já na planta, ocorrem alterações anatômicas nos tecidos radiculares, especialmente o córtex, originando o nódulo (GERAHTY *et al.*, 1992), à partir de então, inicia-se efetivamente a FBN. As bactérias simbiotes, através da dinitrogenase, quebram a tripla ligação existente entre os átomos de N₂, presente no ar difundido no solo, reduzindo-o a NH₃. Imediatamente, é incorporado o íon H⁺, passando à NH₄, disseminado na planta (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007).

Estas reações ocorrem devido a enzimas nitrogenase, a nitrato redutase,

¹³ Atracção de microrganismos por exsudatos radiculares (GOULD, 2010).

que convertem N_2 a NH_3 na FBN (BROCH; RANNO, 2010) e leghemoglobina nos nódulos (SFREDO; OLIVEIRA, 2010). A nodulação das raízes fica ativa até o início da senescência, podendo fornecer para as plantas até 250 kg ha^{-1} (HUNGRIA; CAMPO, MENDES, 2007).

Diferentes respostas em relação ao tipo de aplicação, ao tipo de manejo e de solo foram estudadas. Com inoculante a base de *Bradyrhizobium* aplicado na semente, em Latossolo Vermelho típico, acrescentou até 135 kg ha^{-1} em relação a testemunha (BARBARO *et al.*, 2009). Em áreas cultivadas em Latossolo Vermelho amarelo, em Rio Verde - GO, quando aplicado em sulco na dose recomendada, em área anteriormente cultivada com soja, o número de nódulos totais e viáveis foi superior a inoculação via sementes em 16,37% e 21,13%, respectivamente (VIEIRA NETO *et al.*, 2008).

Em experimento em primeiro cultivo, em área de cerrado, quando aplicado por pulverização em cobertura, 18 dias após a emergência, cresceu 1.088 kg ha^{-1} em relação ao tratamento sem inoculação, mas não superior a inoculação via sementes que acrescentou 1.822 kg ha^{-1} , em relação ao mesmo tratamento. Comparando-se a aplicação foliar e via sementes a diferença foi de 734 kg ha^{-1} (ZILLI *et al.*, 2008).

Outro fato de relevância é o estudo dos metabólitos de como o lipooligossacarídeos produzido por *Rhizobium tropici* e *B. diazoefficiens*, que possuem capacidade de melhorar a eficiência de *Bradyrhizobium* e *A. brasilense* na soja (MARKS *et al.*, 2013; MARKS *et al.*, 2015).

Além da inoculação convencional, a coinoculação que é aplicação de *Bradyrhizobium* mais *Azospirillum*, é uma técnica que está sendo propagada, com resultados significativos (BÁRBARO *et al.*, 2008; BARBARO *et al.*, 2009; PARDINHO; PRIMIERI, 2015; BRACCINI *et al.*, 2016).

Usualmente inoculadas e encontradas na rizosfera de plantas da família Poaceae, bactérias do gênero *Azospirillum*, são classificadas como BPCV (MARTÍNEZ-VIVEROS *et al.*, 2010; HIDALGO, 2018) e fixam N por associação (OKON, LABANDERA-GONZALES, 1994; HUNDRIA, 2011). São bactérias de vida livre, que colonizam o córtex radicular (MARTÍNEZ-VIVEROS *et al.*, 2010; HIDALGO, 2018). Através da expressão do gene NifH, que codifica a proteína dinitrogenase

(HIDALGO, 2018), que reduz o N₂ atmosférico em amônia, fixam pequenas parcelas de N às plantas (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994; HUNGRIA, 2011; MARTÍNEZ-VIVEROS *et al.*, 2010).

A maior contribuição das bactérias do gênero *Azospirillum* é a promoção de crescimento das plantas. O estímulo à produção de fito hormônios, como o ácido indol acético, ácido indol butírico (MARTÍNEZ-VIVEROS *et al.*, 2010; HUNGRIA, 2011; HIDALGO, 2018) e enzimas hidrolíticas (MOSTAJERAN; AMOOAGHAIE; EMTIAZI, 2007) resultam no aumento do sistema radicular, maior absorção de nutrientes, tolerância à seca e incremento de produtividade (BASHAN; HOLGUIN; 1997; DOBBELAERE *et al.*, 2001; BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004).

Yasuda *et al.* (2009) encontraram aumento da resistência de arroz ao fungo patogênico *Magnaporthe oryzae* e à bactéria *Xanthomonas oryzae*. Outros estudos, usando células e metabólitos de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 aplicados por diferentes métodos resultaram em maior expressão de genes de PR-1 SAR e PRP-4 ISR (FUKAMI *et al.*, 2017) e conseqüentemente maior resistência a doenças (SANKARI *et al.*, 2011).

Na cultura da soja a coinoculação entre *Bradyrhizobium* e *A. brasilense*, tem resultado em ganhos de até 13,51% no rendimento de grãos, em relação ao tratamento sem inoculação e 8,99%, quando comparado a inoculação tradicional (BARBARO *et al.*, 2009). Manteli *et al.* (2019), encontraram incremento de 23,59% da coinoculação (*B. japonicum* + *A. brasilense*) em relação à testemunha e 12,07% em relação à inoculação com *B. japonicum*. Benintende *et al.* (2010), em experimento em solo argiloso, na Argentina, constataram aumento no peso de nódulos nos estádios V₄, V₅ e R₄ e no rendimento da cultura, comparando a coinoculação e a inoculação, em dois anos seguintes de cultivo. Outros trabalhos obtiveram equiparação de resultados entre a inoculação e coinoculação (GITTI, 2015).

Esta técnica pode ser realizada diretamente na semente (BENINTENDE *et al.*, 2010), ou em sulco (BRACCINI *et al.*, 2016). No sulco, a massa de nódulos, o número de nódulos no estágio reprodutivo, o teor de N no grão e a produtividade, não diferiram da inoculação tradicional (BRACCINI *et al.*, 2016).

Já o uso do *Trichoderma*, como parasita de outros fungos, data de 1932, estudado por Weindling, que realizou experimentos e publicou sobre o tema também

em 1934, em 1936 e 1941, sendo amplamente citado (CHINCHOLKAR; MUKERJI, 2007; MACHADO *et al.*, 2012). Este fungo possui ação polivalente sobre outros organismos e na planta, sendo classificado como parasita, hiperparasita, micoparasita (MELO, 1998; HARMAN, 2000), possuindo competição (HARMAN, 2000), gerando antibiose (STADNIK; BETTIOL, 2000), induzindo a resistência (SNEH; ICHEILEVICK-AUSTER, 1998; ROMEIRO, 2007) e promovendo o crescimento vegetal (HARMAN *et al.*, 2004; CARVALHO FILHO *et al.*, 2008).

Outro termo, bioagente (MACHADO *et al.*, 2012), também é usado, uma vez que apresentam ação na produção de fito hormônios (MACHADO *et al.*, 2012). A inoculação das sementes com *Trichoderma* é recomendado, uma vez que este pode evitar a infecção das sementes e da planta por fitopatógenos (LUCON, 2009), pois crescem rapidamente juntamente com o sistema radicular (MACHADO *et al.*, 2012). Em sementes de feijão, isolados de *T. harzianum* mostraram-se antagonistas a *F. oxysporum in vitro* (CARVALHO *et al.*, 2011). Em algodão (FARIA ALBUQUERQUE; CASSETARI NETO, 2003) o tratamento de sementes com *T. harzianum*, teve o mesmo desempenho na germinação e emergência que tratamentos químicos com carboxin + thiram e carbendazin + thiram possibilitam melhores em algodão.

Para a cultura da soja, não há muitas publicações e relatos quanto ao uso de tratamento de sementes com *Trichoderma*. Entre alguns trabalhos, quando as sementes foram tratadas com *T. viride*, visando controle de *Pratylenchus brachyurus*, houve redução na população e no nível populacional do nematoide em relação às não tratadas, porém, não foi o tratamento de melhor desempenho (BORTOLINI *et al.*, 2013). Zivanov, Laloseic, Jevtic. (2013) inoculando sementes com isolados de *Trichoderma* spp., encontraram potenciais antagonistas à *Sclerotinea scletotiorum* e efeitos positivos significativos na germinação, comprimento da raiz e vigor de sementes de soja.

O que tem se destacado na soja, em relação aos estudos com *Trichoderma*, são trabalhos visando controle de patógenos de solo de difícil controle como a *S. scletotiorum* (GÖRGEN *et al.*, 2009).

Especificamente com *Fusarium*, encontrou-se estudos *in vitro* realizados na Espanha, com o patógeno específico da cultura do arroz, *F. verticillioides*, onde a houve antagonismo de *T. harzianum* sobre o patógeno (SEMPERE; SANTAMARINA,

2009). Também, verificaram-se estudos de antagonismo *in vitro* com 112 isolados *Trichoderma* e *F. sambucinum*, que causa a podridão seca na batata na China (RU; DI, 2012).

Ikeda (2013) cita que as misturas entre produtos podem levar ao antagonismo, que é a ação da mistura é inferior à soma das qualidades individuais de cada formulação; ao sinergismo dado quando a ação da mistura é superior à soma das qualidades individuais de cada formulação e; efeito aditivo, que acontece quando a ação da mistura de produtos é a soma das qualidades individuais de cada formulação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados quatro estudos, com, algumas metodologias em comum. Assim, descreve-se estas e distingue-se as especificidades para cada estudo.

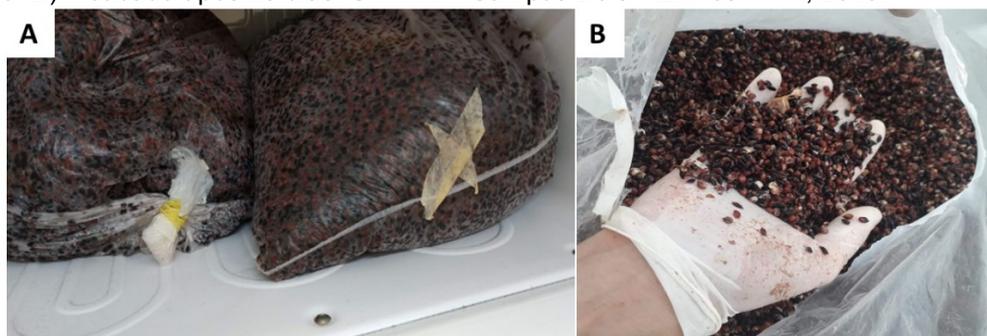
3.1 OBTENÇÃO DO FITOPATÓGENO E PREPARO DO INÓCULO

A espécie de *Fusarium*, utilizada em todos os estudos foi cedida pela Embrapa Soja, por meio do Acordo de Transferência de Material Genético 20900.19/0030-5, identificada como *F. tucumaniae* CMES 25. Foi recebida na forma de fragmentos de meio de cultura. Estes foram repicados e mantidos em meio de cultura Batata Dextrose e Ágar (BDA – 200 g, 20 g, 20 g), em placas de Petri, incubadas em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) ± 25 °C, com 8 horas luz.

Como inóculo para todos os experimentos, adaptou-se a metodologia utilizada por Balardin *et al.* (2005). O isolado de *F. tucumaniae* purificado foi multiplicado em grãos de sorgo (*Sorghum sudanense* L.) esterilizados. A esterilização foi realizada com embebição dos grãos em 80% do peso em água destilada. Na sequência, postos em sacos para autoclave e esterilizados com três autoclavagens (121 °C), durando 30 minutos cada, sendo o material revolvido entre estas.

Após, serem resfriados em temperatura ambiente, para cada quilograma de grãos esterilizados, adicionou-se 21,28 cm² de colônia de *F. tucumaniae*, com 10 dias. Incubando-os em BOD ± 25 °C, com 8 horas de luz, por 15 dias, mexendo a cada dois dias para auxiliar na homogeneização a colonização (Figura 2).

Figura 2 - Inóculo de *Fusarium tucumaniae* Preparado com Sementes de *Sorghum sudanense*. A) Em Incubação. B) Incubado após 23 dias. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

3.2 CULTIVAR E SEMENTE UTILIZADA

A escolha da cultivar baseou-se em teste prévio, para o qual foram semeadas sete cultivares, em copos plásticos de 400 mL, contendo solo de barranco. Após, colocou-se no solo, fragmentos de palitos infectados com colônias de *F. tucumaniae*, a uma distância de 1 cm das sementes. Manteve-se o solo com alta umidade e em temperatura ambiente. Após sete dias, observou-se que a cultivar TMG 7262 RR foi a mais suscetível ao patógeno, pois apresentava lesões de colo e de raiz, o que ocasionou a morte das plantas.

Esta cultivar, conforme Tropical Melhoramento e Genética S.A. (2019), possui como principais características fenológicas: maturação relativa: 6.2, crescimento semideterminado¹⁴, flor branca, pubescência cinza, hilo marrom claro, 184 g de peso de mil grãos. Quanto à reação a doenças é resistente ao cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), a ferrugem asiática, mancha "olho-de-rã" (*C. sojae*), a podridão radicular de fitóftora (*Phytophthora sojae* - raça 1), a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis*); moderadamente resistente a o Oídio (*Microsphaera diffusa*) e suscetível à nematoides das galhas (*Meloidogyne javanica* e *M. incognita*), das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e de cisto (*H. glycines*).

As sementes da cultivar foram cedidas por uma empresa multiplicadora de sementes, devidamente inscrita no RENAME. A categoria utilizada foi C1, peneira 6,5 mm, produzida na safra 2018/2019. A amostra média resultante do processo de amostragem do lote de sementes no armazém pesou 40 kg. Chegando ao laboratório, esta foi guardada em câmara fria, com temperatura e umidade relativa controlada (7 °C e 20%, respectivamente).

Imediatamente antes dos experimentos, caracterizou-se a amostra de sementes. Realizou-se a homogeneização da amostra média utilizando homogeneizador de sementes modelo Gamet, retirando-se as devidas amostras de trabalho com pesos compatíveis para a condução dos ensaios.

A partir de então, determinou-se o peso de mil sementes (PMS) pela da metodologia descrita em Brasil (2009), 183,1 g. Realizou-se o teste de germinação

¹⁴ Apresentam atributos tanto do tipo determinado como do indeterminado.

por rolo de papel, descrito nas Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009a), obtendo-se dados médios do lote em porcentagem (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das Análises Fisiológica e Sanitária da Amostra de Sementes Utilizada nos Experimentos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Germinação - 92%		Anormais - 7%		Deterioradas - 1%	
-----Vigor-----					
Massa Seca de Plântula (g)	Comprimento de Raiz (cm)	Comprimento de Parte Aérea (cm)	IVE	VE (dias)	CVE
11,44	22,85	7,85	50,87	11,10	58,90
-----Incidência de Patógenos (%)-----					
<i>Cercospora kikuchii</i>	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Chaetomium</i> spp.
63,5	1	5	14,5	6	1

IVE: Índice de Velocidade de Emergência. VE: Velocidade de Emergência. CVE: Coeficiente de velocidade de Emergência.

Avaliou-se também o Comprimento de Plântula, onde se semearam quatro repetições de 25 sementes, a $\frac{2}{3}$ da altura do papel Germitest®, com as mesmas condições do teste de germinação. Cinco dias após a semeadura, mediu-se com auxílio de papel milimetrado, o comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR), das plântulas consideradas normais. Considerou-se CPA, do hipocótilo até a inserção dos cotilédones e CR, da ponta da raiz até o início do hipocótilo (Tabela 1).

Com as plântulas medidas no teste de Comprimento de Plântula, sem os cotilédones, avaliou-se a Massa Seca de Plântula (MSP). As mesmas foram postas em sacos de papel, numa estufa de ar forçado a 60 °C, até obtenção de peso constante, colocando-as na sequência em dessecador, até resfriarem e realizou-se a pesagem das mesmas, em balança de precisão, determinado a MSP (Tabela 1) (adaptado de NAKAGAWA, 1999).

Realizou-se também o teste de Emergência de Plântulas, em solo num canteiro revolvido, com quatro repetições de 100 sementes, distribuídas em sulcos com 3 cm de profundidade e irrigadas de forma manual, diariamente. As contagens de plântulas emergidas foram efetuadas diariamente, até 14 dias após a semeadura. Determinou-se o Índice de Velocidade de Emergência (IVE), a Velocidade de Emergência (VE dias) e o Coeficiente de Velocidade de Emergência (CVE) (Tabela 1), pelas fórmulas de Manguire (1962), Edmond, Drapala (1958) e Roos, Moore III citados por Nakagawa (1999), respectivamente:

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots + \frac{En}{Nn}$$

$$VE = \frac{(N1E1) + (N2E2) \dots + (NnEn)}{E1 + E2 + \dots + En}$$

$$CVE = \frac{E1 + E2 + \dots + En}{N1E1 + N2E2 + \dots + NnEn} \times 100$$

Onde E é o número de plântulas emergidas diariamente e N o tempo (dias da contagem).

Para o teste de Sanidade de Sementes, adaptou-se a metodologia descrita em Brasil (2009) em 10 gerbox esterilizados com álcool 70%, contendo duas folhas de papel de mata-borrão esterilizadas (120 °C por 15 minutos), embebidas três vezes seu peso em água destilada, semeou-se de forma equidistante, 20 sementes, sem assepsia superficial. Os gerbox foram incubados em câmara BOD, ± 25 °C, sob regime de 12 horas de luz. Após sete dias, examinou-as, uma a uma, sob microscópio estereoscópico com aumento de 20 vezes e os microrganismos foram identificados, com auxílio de Brasil (2009b) e anotados (Tabela 1).

3.3 ESTUDO 1 – DOSE INIBITÓRIA MÍNIMA DOS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES SOBRE OS BIOLÓGICOS E O *Fusarium tucumaniae*

Este estudo foi realizado no Laboratório de Fitossanidade, da UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Neste, testou-se a compatibilidade dos produtos fitossanitários utilizados no tratamento de sementes, sobre *B. japonicum*, *A. brasilense*, *T. harzianum* e efeito sobre *F. tucumaniae*, totalizando 10 tratamentos e mais uma testemunha para cada microrganismo (Tabela 2).

Como fonte de *B. japonicum* utilizou-se inoculante comercial o qual possuía SEMIA 5079 e 5080, e tinha como garantia 5×10^9 UFC mL⁻¹, na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes, adicionando 1 mL kg⁻¹ de água. Para *A. brasilense*, o inoculante

comercial continha as cepas Ab V5 e AbV6 e garantia mínima de 2×10^8 UFC mL⁻¹, na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes de soja. O produto com *T. harzianum* utilizado era pó molhável, continha o isolado IBLF 006, com garantia de 1×10^{10} UFC g⁻¹, na recomendação de 0,5 g kg⁻¹ de sementes, adicionados 1 mL kg⁻¹ de água.

Tabela 2 – Produtos Fitossanitários Utilizados no Teste de Compatibilidade *in vitro* com Produtos Biológicos e *Fusarium Tucumaniae*. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Princípio Ativo	Dose (mL kg ⁻¹)	H ₂ O* (mL kg ⁻¹)
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	2,5 + 2,0	2,5 + 2,0
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	2,0	3,0
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	3,5 + 1,8	1,5 + 3,2
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	2,0 + 1,0	3,2 + 3,0
Imidacloprido – Tiodicarbe	2,5	2,5
Carbendazim – Tiram	2,0	2,0
Bifentrina – Imidacloprid	3,5	1,5
Tiofanato Metílico – Fluazinam	1,8	3,2
Tiametoxam	2,0	3,0
Metalaxil-M – Fludioxonil	1,0	4,0

*Utilizada na Calda.

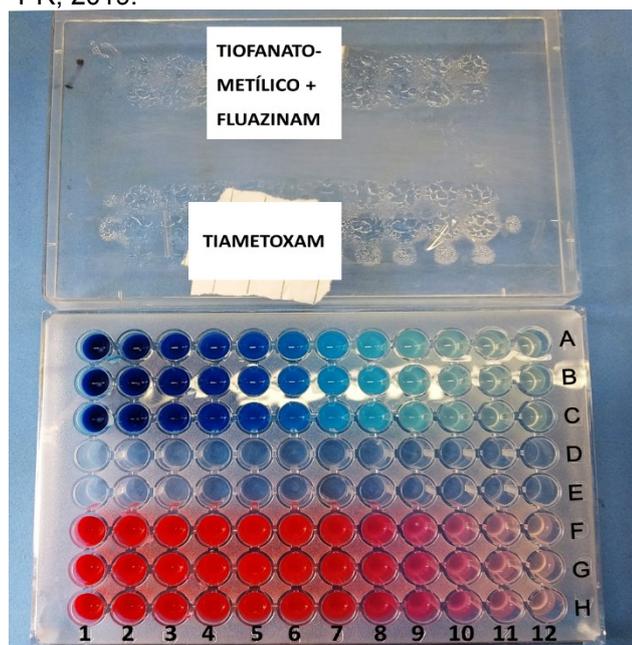
O estudo foi realizado através do teste de microdiluição em calda. Para o mesmo, inicialmente preparou-se uma calda com cada produto fitossanitário, considerando a recomendação de dose e de adição de água destes, com água destilada e esterilizada. Preparou-se soluções com *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum*, equivalente a turvação da escala 0,5 McFarland (1907) em solução salina estéril (0,9 % NaCl). Para *F. tucumaniae*, utilizou-se colônia purificada, com 10 dias de cultivo em BDA, adicionando à esta 1 mL de salina estéril (0,9 % NaCl) e 100 µL de Tween®, espalhando-os sobre a mesma, recolhendo após o sobrenadante, utilizado para composição da solução.

Em microplacas estéreis de 96 poços, com colunas e linhas indicadas (Figura 3) adicionou-se 200 µL de caldo Batata Dextose (BD) (200 g L⁻¹; 20 g L⁻¹) em cada poço. No primeiro poço, de cada repetição acrescentou-se 200 µL da calda de cada produto fitossanitário, em triplicada. A partir desta, fez-se 12 diluições seriadas para cada tratamento (Figura 3).

Após, adicionou-se em cada poço, 10 µL da suspensão salina com cada microrganismo (Figura 4). Posteriormente foram levemente homogeneizados. Em seguida, incubou-se as microplacas a 25 °C por 24 horas, para *B. japonicum* e *A. brasilense* e, por 48 horas para *T. harzianum* e *F. tucumaniae*. Como testemunhas, 10 µL da suspensão salina com cada microrganismo, foi incubada somente em caldo BD.

Após o período de incubação observou-se o crescimento microbiano, com leitura por espelho na escala de turvação 0,5 de McFarland (1907), com auxílio de iluminação no fundo das placas, observando crescimento dos microrganismos nas mesmas.

Figura 3 - Microplaca de 96 Poços Contendo Dois Tratamentos com 12 Diluições Seriadas. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

Figura 4 – Adição da Suspensão Salina com Microrganismo na Microplaca de 96 Poços Contendo Dois Tratamentos com 12 Diluições Seriadas. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

Determinou-se a dose inibitória mínima (DIM) de cada produto fitossanitário, sobre cada microrganismo testado, conforme o protocolo padronizado

pela *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2002).

Os dados foram descritos diretamente na DIM para cada tratamento sobre cada microrganismo.

3.4 ESTUDO 2 - PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL *IN VITRO* DE *Fusarium tucumaniae*

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade, da UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos. Realizou-se um experimento *in vitro*, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para este, sementes de soja da cultivar descrita foram tratadas com produtos fitossanitários e biológicos, combinados ou não, nas devidas doses comerciais, totalizando 24 tratamentos (Tabela 3), mais a testemunha (sem tratamento).

O experimento foi realizado em placas de Petri (90 mm) contendo \pm 20 mL de BDA e montado em câmara de fluxo laminar. Próximo ao centro destas foi disposto um disco de 0,5 cm de diâmetro de colônia de *F. tucumaniae* (BDA, \pm 25 °C, 12 horas luz, 8 dias) e, paralelamente a este (\pm 0,5 cm de distância), afixada no meio de cultura, uma semente de soja, com o devido tratamento (Figura 5).

Sobre o disco de *F. tucumaniae* demarcou-se duas linhas, uma em direção a semente e outra perpendicular à esta. As mesmas foram utilizadas como referências para medições do crescimento da colônia em direção à semente e lateralmente (Figura 6). Estas foram realizadas até a testemunha tomar toda a placa, em uma das direções. Calculou-se a área total da colônia de *F. tucumaniae* (cm³).

Verificou-se a distribuição normal dos dados, observando-se a necessidade da transformação dos mesmos. Estes foram transformados por $\log(x)$ confirmando-se então a normalidade pelo teste D'Agostino¹⁵, com auxílio do programa BioEstat5.0 (AYRES *et al.*, 2007). Na sequência, aplicou-se análise da variância e o

¹⁵ Este teste baseia-se nas medidas de simetria e curtose e o p-valor é calculado pelo Qui-Quadrado com dois graus de liberdade. Deve ser utilizado para amostras iguais ou maiores que 20 unidades, com uma ou k amostras (AYRES *et al.*, 2007).

Teste de comparação de médias Skott-Knott¹⁶($p < 0,05$) com auxílio do software Assistat 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Tabela 3 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Tratamento de Sementes no Estudo de Crescimento Micelial de *Fusarium Tucumaniae*, *in vitro*. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Produtos Fitossanitários e Biológicos	Dose
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	2,5 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	2 mL kg ⁻¹
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	3,5 mL kg ⁻¹ + 1,8 mL kg ⁻¹
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	2 mL kg ⁻¹ + 1 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i>	2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	2 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*

*Cada produto com sua respectiva dose.

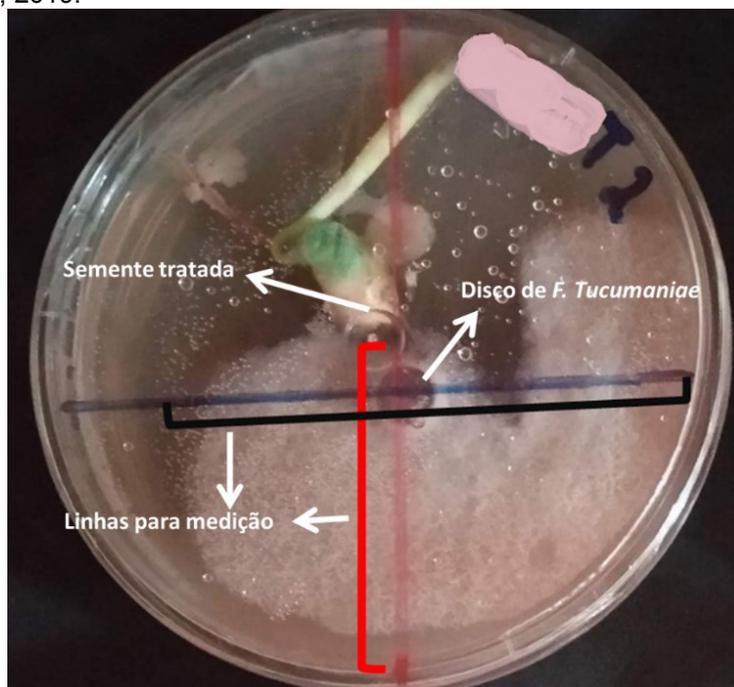
16 Separa as médias dos tratamentos em grupos homogêneos, assim minimizando soma de quadrados dentro e maximizando entre os grupos e sem sobrepor esses grupos (SKOTT; KNOTT, 1974).

Figura 5 - Detalhe da Montagem do Experimento em Placas de Petri. À Esquerda da Placa o Disco de *Fusarium tucumaniae* e a Direita a Semente Tratada Sendo Fixada no Meio de Cultura. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

Figura 6 - Placa do Experimento Indicando os Detalhes da Montagem e Leitura. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

3.5 ESTUDO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA INFESTADAS COM *Fusarium tucumaniae* E SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos e em barracão de armazenagem de insumos de uma cooperativa no município de Marmeleiro – PR. Foi realizado em três etapas, em delineamento inteiramente casualizado.

No laboratório, na primeira etapa, após a caracterização da amostra (Descrito no item 3.2), 30 kg de sementes, foram acomodados em sacos de algodão, subdivididos em amostras de 3 kg. Metade das amostras foi infestada com 3% de inóculo de sorgo infectado com *F. tucumaniae* (Descrito em 3.1), este, seco em estufa de ar forçado por 8 horas a 25 °C. Após, foram guardadas em armazém de insumos, por 23 dias. Diariamente, anotaram-se as temperaturas ambiente máxima e mínima, obtendo-se como mínima 12 °C e máxima 26 °C.

Passado este período, na segunda etapa, em laboratório, analisou-se a viabilidade, o vigor e a sanidade das sementes infestadas e não infestadas (Tabela 4), conforme as metodologias Descritas em 3.2. Após estas, metade das amostras, infestadas e não infestadas, receberam tratamentos com os produtos fitossanitários (Tabela 5). Estes foram realizados em sacos plásticos e dosados com auxílio de micropipeta. Na sequência, foram armazenadas por mais 23 dias, nas mesmas condições da primeira armazenagem.

Na terceira etapa, novamente no Laboratório Didático de Análise de Sementes, após o armazenamento, montou-se um experimento conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 25. Sendo o Fator 1, a infestação ou não das sementes com *F. tucumaniae* e o Fator 2, 24 tratamentos de sementes, combinando produtos fitossanitários e biológicos (Tabela 6), mais uma testemunha (sem tratamento). Sendo considerada como repetição experimental, cada amostra em cada teste.

Tabela 4 - Resultados da Análise Fisiológica e Sanitária das Sementes Infestadas com *Fusarium tucumaniae* e Armazenadas por 23 Dias. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

-----Não infestadas-----						-----Infestadas-----					
Germinação		Anormais		Deterioradas		Germinação		Anormais		Deterioradas	
90%		8%		2%		88 %		6%		6%	
-----Vigor-----						-----Vigor -----					
MSP (g)	CR (cm)	CPA (cm)	IVE	VE (dias)	CVE	MSP (g)	CR (cm)	CPA (cm)	IVE	VE (dias)	CVE
11,93	6,16	10,42	50,98	11,08	59,07	10,95	5,78	9,58	42,74	11,18	50,56
-----Incidência de Patógenos (%)-----						-----Incidência de Patógenos (%)-----					
<i>Fusarium</i> spp.		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Aspergillus</i> spp.		<i>Fusarium</i> spp.		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Aspergillus</i> spp.	
5		3,5		14		13,5		1		14,5	
<i>Cercospora kikuchii</i>		<i>Chaetomium</i> spp.		<i>Rhizopus</i> spp.		<i>Cercospora kikuchii</i>		<i>Chaetomium</i> spp.		<i>Rhizopus</i> spp.	
59		2		2		48		1,5		5	

MSP: Massa Seca de Plântula. CR: Comprimento de Raiz. CPA: Comprimento de Parte Aérea. IVE: Índice de Velocidade de Emergência. VE: Velocidade de Emergência. CVE: Coeficiente de Velocidade de Emergência.

Tabela 5 – Produtos Fitossanitários Utilizados no Tratamento de Sementes antes do Armazenamento. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Princípio Ativo	Dose
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	2,5 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	2 mL kg ⁻¹
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	3,5 mL kg ⁻¹ + 1,8 mL kg ⁻¹
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	2 mL kg ⁻¹ + 1 mL kg ⁻¹

A partir destes, as amostras foram submetidas aos testes de Germinação, Comprimento de Plântula, Massa Seca de Plântula, Emergência de Plântula e Sanidade de Sementes, conforme descrito no item 3.3. Para o teste de sanidade computou-se somente as sementes com presença de *Fusarium* spp., em porcentagem.

Os dados foram submetidos a testes de normalidade. Quando não atendendo este pressuposto, realizou-se transformações, sendo utilizadas as seguintes: Germinação x^2 , IVE $\log(x)$, VE $\log(x)$ e para MSP $1/\sqrt{x}$. A seguir, confirmou-se então a normalidade pelo teste D'Agostino e Lilliefors¹⁷, com auxílio do programa BioEstat5.0 (AYRES *et al.*, 2007). Após foram submetidas ao teste de comparação de médias Skott-Knott ($p < 0,05$) com auxílio do software Assistat 7.7 (SILVA, AZEVEDO, 2016). A variável porcentagem de sementes com *Fusarium* spp., não teve distribuição

¹⁷ Prova não-paramétrica de aderência destinada a comparar o grau de concordância entre a distribuição acumulada de um conjunto de valores de uma amostra com a distribuição teórica acumulada esperada (AYRES, *et al.* 2007).

normal, sendo aplicada estatística descritiva para a mesma.

Tabela 6 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Tratamento de Sementes no Estudo Qualidade de Sementes. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Produtos Fitossanitários e Biológicos	Dose
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	2,5 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	2 mL kg ⁻¹
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	3,5 mL kg ⁻¹ + 1,8 mL kg ⁻¹
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	2 mL kg ⁻¹ + 1 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i>	2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	2 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*

**Cada produto com sua respectiva dose.

3.6 TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE A INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ EM SOJA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos modelo duas águas, com cobertura de policarbonato

transparente, dotada de sistema de controle de temperatura e fotoperíodo. Realizado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema bifatorial, 2 X 25. O Fator 1 constituiu-se no modo de aplicação dos produtos biológicos, inoculados na semente ou aplicados em sulco; o Fator 2, pelos tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e biológicos, combinados ou não (Tabela 7).

Utilizou-se como substrato solo de barranco, conduzido em vasos com capacidade para 3 L, com 1 cm de pedras britas ao fundo, para evitar adensamento do solo. Em cada vaso adicionou-se 2,5% do peso do solo em inóculo de sorgo infectado (Descrito no item 3.1) (Figura 7), minturando-os após. Uma hora antes da semeadura, as sementes (Descritas no item 3.3) receberam os tratamentos com os produtos fitossanitários e no momento da semeadura com os biológicos (Tabela 7), nas doses comerciais. Em seguida, semeou-se, a 3 cm de profundidade, três sementes por vaso, com 5 cm de espaçamento entre estas.

Para aplicação em sulco, após dispor as sementes nos mesmos, aplicaram-se com borrifador os produtos biológicos. Este, foi previamente calibrado para calda equivalente a 50 L ha⁻¹, conforme recomendação comercial.

A irrigação foi realizada manualmente com regador, observando-se cuidadosamente uma distribuição homogênea. A umidade relativa do ar e a temperatura foram medidas a cada duas horas, com Datalogger modelo AK172, observou-se que a temperatura mínima no período 3 °C e a máxima de 41,1 °C, com média de 20,8 °C e umidade relativa que oscilou de 29,9% a 99,2 %, com média de 78,52%.

O experimento foi conduzido por 97 dias, até a testemunha apresentar os sintomas de folha carijó. Neste momento, as plantas foram cortadas a ± 3 cm acima do solo, para facilitar o manuseio do sistema radicular. As raízes das plantas foram cuidadosamente desagregadas do solo, retiradas, lavadas e secas. Estas foram identificados, postas em sacos plásticos e guardadas em geladeira por uma semana.

Em seguida, fragmentos de raízes com sintomas, de todas as plantas, foram preparados para o plaqueamento recebendo duas lavagens, a primeira em álcool etílico (70%), por ± 30 segundos e a segunda em água esterilizada, por ± 5 segundos. Sendo retirado o excesso de água em papel filtro esterilizado. Após, estes fragmentos foram postos em placas de Petri, em meio BDA. Estas foram deixadas em

BOD (± 25 °C), por sete dias. Este procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar.

Tabela 7 – Produtos Fitossanitários e Biológicos, Utilizados no Estudo de Incidência de *Fusarium tucumaniae*, em Soja. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Produtos Fitossanitários e Biológicos	Dose
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	2,5 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	2 mL kg ⁻¹
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	3,5 mL kg ⁻¹ + 1,8 mL kg ⁻¹
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	2 mL kg ⁻¹ + 1 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i>	2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	2 mL kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	2 mL kg ⁻¹ + 2 mL kg ⁻¹ + 0,5 g kg ⁻¹
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	*
Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	*

*Cada produto com sua respectiva dose.

Observou-se em cada fragmento de raízes, se houve a ocorrência do crescimento de colônia de *F. tucumaniae* (Figura 8), caracterizando a incidência do mesmo.

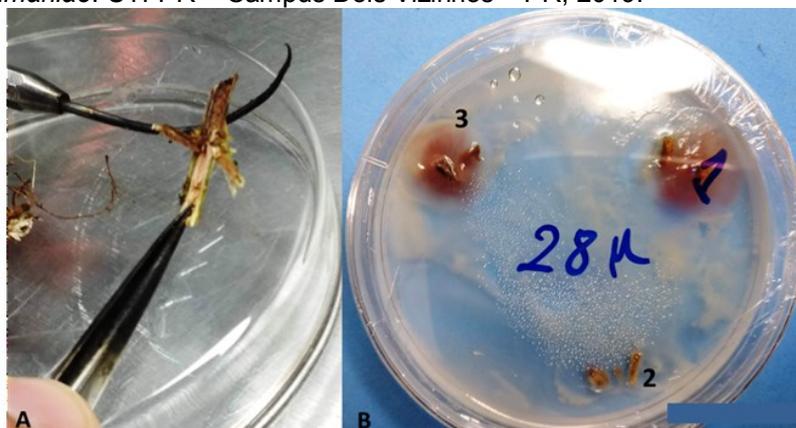
Figura 7 - Inóculo de Sorgo Contendo *Fusarium tucumaniae* Adicionado ao Solo dos Vasos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

Os dados de incidência foram submetidos à testes de normalidade e por não atenderem este pressuposto, realizou-se transformações recomendadas. Mesmo assim, confirmou-se a distribuição não normal dos mesmos. Decidiu-se portanto, pelo agrupamento dos tratamentos, conforme o tipo de produtos aplicados.

Figura 8 - Detalhes do Plaqueamento de Raízes. A) Corte da Raiz com Sintoma. B) Raízes Plaqueadas em DBA após Sete Dias, Identificadas com a Repetição do Experimento e Crescimento das colônias de *Fusarium tucumaniae*. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.



Fonte: Manteli (2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDO 1 – TESTE DE COMPATIBILIDADE *IN VITRO* DOS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS SOBRE OS BIOLÓGICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES E *Fusarium tucumaniae*

Os produtos fitossanitários testados apresentaram inibição aos produtos biológicos utilizados no tratamento de sementes e ao *F. tucumaniae*. A testemunha, não apresentou inibição em nenhuma das diluições (Tabela 8), o que confirma a viabilidade dos produtos biológicos testados e do *F. tucumaniae*.

Para *A. brasilense*, observou-se que com diluições de $1/12$ das doses de todos os produtos fitossanitários testados, mesmo que inseticidas, foram suficientes para inibir seu crescimento, sendo, portanto, considerado o mais sensível entre os microrganismos testados (Tabela 8). O *A. brasilense* é uma bactéria gram negativa que apresenta diversos mecanismos de resistência, como cistos, microaerófilos, pleomorfismo, resistindo a estresse hídrico (MOREIRA *et al.*, 2010) e meios salinos (NÓBREGA *et al.*, 2004). Em relação a salinidade do meio um isolado de *Azospirillum* spp. tolerou até 50 g L^{-1} de NaCl, se mostrando um dos mais resistentes neste aspecto entre 72 isolados testados (NÓBREGA *et al.*, 2004). Mas, mesmo com todas estas características, não resistiu ao contato direto com nenhum dos produtos testados, em nenhuma das diluições.

O *B. japonicum*, teve menor sensibilidade que o *A. brasilense*, sendo que o inseticida Imidacloprid + Tiodicarbe o fungicida Tiofanato Metílico – Fluazinam, tiveram inibição somente a partir da diluição de $1/9$ e, o fungicida Metalaxil-M + Fludioxonil, inibiu somente a partir da diluição de $1/6$, ou seja, foram menos tóxicos a este microrganismo que os demais produtos testados (Tabela 8). Mesmo sendo uma proteobactéria, gram negativa e por isso, possuir como componente principal da parede celular um complexo de lipopolissacarídeos, os quais são importantes para a manutenção da estabilidade da membrana celular (SOMASEGARAN; HOBEN, 1994), não aumentou a resistência à entrada/contato com os produtos.

Bashan, Holguin (1997) relataram há aumento da espessura da camada de lipopolissacarídeos, quando bactérias gram negativas são expostas a estresses,

como o salino. Ou seja, podem se tornar mais resistentes nestes casos. Vale ressaltar que não foi aferida a condutividade elétrica das caldas aplicadas para averiguar a salinidade das mesmas, no entanto, sugere-se que esta seja uma das explicações, pois Vieira, Krzyzanowski (1999) afirmam que há aumento da condutividade elétrica quando aplicado tratamento às sementes. Além de que Ferreira *et al.* (2013), relataram que há redução das UFC de *Bradyrhizobium* spp. inoculado em sementes de soja tratadas, manual ou industrialmente, com inseticidas, fungicidas e polímeros, no entanto, até quatro dias este microrganismo ainda se apresenta viável.

Tabela 8 – Dose Inibitória Mínima de Produtos Fitossanitários, Sobre Produtos Biológicos Utilizados no Tratamento de Sementes de Soja (*Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum*) e *Fusarium tucumaniae*. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Produto Fitossanitário	DC (mL.kg ⁻¹)	<i>B. japonicum</i>		<i>A. brasilense</i>		<i>F. tucumaniae</i>		<i>T. harzianum</i>	
		DIM	DL	DIM	DL	DIM	DL	DIM	DL
1.	-	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
2.	2,5 + 2,0	0,208 + 0,166	1/12 + 1/12	0,208 + 0,166	1/12 + 1/12	0,416 + 0,333	1/6 + 1/6	0,277 + 0,222	1/9 + 1/9
3.	2,0	0,166	1/12	0,166	1/12	0,285	1/7	0,222	1/9
4.	3,5 + 1,8	0,291 + 0,150	1/12 + 1/12	0,291 + 0,150	1/12 + 1/12	0,291 + 0,150	1/12 + 1/12	0,437 + 0,225	1/8 + 1/8
5.	2,0 + 1,0	0,166 + 0,083	1/12 + 1/12	0,166 + 0,083	1/12 + 1/12	0,166 + 0,083	1/12 + 1/12	0,222 + 0,111	1/9 + 1/9
6.	2,5	0,277	1/9	0,208	1/12	0,277	1/9	0,277	1/9
7.	2,0	0,166	1/12	0,166	1/12	0,400	1/5	0,333	1/6
8.	3,5	0,291	1/12	0,291	1/12	0,291	1/12	0,291	1/12
9.	1,8	0,200	1/9	0,150	1/12	0,150	1/12	0,180	1/10
10.	2,0	0,166	1/12	0,166	1/12	0,250	1/8	0,200	1/10
11.	1,0	0,166	1/6	0,083	1/12	0,125	1/8	0,100	1/10

DC = Dose Comercial. DIM = Dose Inibitória Mínima. DL = Diluição da Dose que Controlou. Produtos Fitossanitários = 1: Testemunha. 2: Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram. 3: Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil. 4: Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam. 5: Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil. 6: Imidacloprido – Tiodicarbe. 7: Carbendazim – Tiram. 8: Bifentrina – Imidacloprid. 9: Tiofanato Metílico – Fluazinam. 10: Tiametoxam. 11: Metalaxil-M – Fludioxonil.

Para os fungos testados, em ambos os casos, o patógeno *F. tucumaniae* e o biocontrole *T. harzianum*, todos os produtos tiveram DIM maiores, se comparadas com as bactérias, ou seja, foram mais resistentes que estas (Tabela 8). Este fato pode ser justificado devido as paredes das hifas dos fungos, possuírem rigidez, devido a sua composição por β -glucanas e quitina, que é característica da ordem *Hypocreales* (MASSOLA JUNIOR, 2018), a qual pertencem os fungos avaliados. Este fato requer

maior importância, pois no caso do *T. harzianum*, é potencial agente biológico utilizado no controle de diversos fitopatógenos, apresentando, portanto, maior compatibilidade, uma vez que mesmo em contato direto com diversos produtos fitossanitários, apresentou sobrevivência. No entanto, não pode afirmar que tais produtos podem ser utilizados em associação com *T. harzianum* no tratamento de sementes, pois tal teste considera a sobrevivência do agente biológico, mas não quantifica as UFC.

Quando se observa a ação dos produtos fitossanitários testados, o Difentrina + Imidacloprid, aplicado isoladamente, mesmo sendo inseticida, foi o que apresentou maior inibição a todos os microrganismos, pois com a diluição de $1/12$, a mínima testada, não houve crescimento destes (Tabela 8). A sensibilidade destes microrganismos a este produto, pode estar ligada ao fato de que a aplicação foi diretamente sobre estes, não podendo ser feita relação com possíveis sítios de ação, já que se trata de inseticida, mas pode-se inferir que houve alteração química neste meio, o que matou estes microrganismos.

Todos os produtos fitossanitários testados apresentaram DIM menor que a dose recomendada, o que alerta para problemas de incompatibilidade (Tabela 8). No entanto, estes foram aplicados diretamente sobre os microrganismos testados e não sobre as sementes. Caso fossem aplicados sobre as sementes, o tipo de associação entre os microrganismos e estas, devem ser avaliados, se confirmam esses resultados. Segundo Brasil (2009b), quando são infectantes às sementes, os microrganismos estão presentes em tecidos internos à esta o que evitaria o contato deste com os produtos fitossanitários que tem ação de contato. No entanto, todos os produtos testados possuem moléculas de contato misturada às sistêmicas ou somente sistêmicas, o que corrobora com a explicação dada anteriormente sobre mudanças químicas, como a salinidade, que também causam efeito negativo sobre os microrganismos.

Analisando ainda o fato de que, com doses menores que as recomendadas, houve o controle de *F. tucumaniae*, podem-se sugerir novos estudos sobre isso. No entanto, neste contexto, sabe-se que a função dos produtos utilizados no tratamento de sementes não é somente a erradicação dos fitopatógenos associados a elas, mas também, a diminuição da exposição destas aos encontrados no solo (HENNING, 2005; FRANÇA-NETO *et al.*, 2016; NUNES, 2016). Assim, as

doses dos produtos fitossanitários utilizadas devem garantir a efetividade destas duas funções, uma vez que o solo é um ambiente com diversidade micro e microbiológica, dependente e sujeito a alterações de umidade, o que pode gerar perdas deste para o solo.

4.2 ESTUDO 2 - PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL *IN VITRO* DE *Fusarium tucumaniae*

Para o crescimento micelial observou-se diferença estatística entre os tratamentos aplicados às sementes (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultado da Análise da Variância para o Experimento de Crescimento Micelial. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Causa de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F calculado
Tratamentos	24	7,99718	0,33322	45,4481**
Resíduo	75	0,45899	0,00612	-----
Total	99	8,45617	-----	-----

** Significativo pelo Teste F ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Foram 11 tratamentos que apresentaram os maiores crescimentos miceliais: Testemunha, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil, Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam, *B. japonicum*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum*, Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram + *B. japonicum*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + *B. japonicum*, *B. japonicum* + *A. brasilense*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense*.

Nota-se, portanto, que o tratamento de sementes com estes produtos fitossanitários aplicados de forma isolada, ou quando acrescidos de *B. japonicum*, e alguns com *A. brasilense*, não possuem efetividade no controle micelial *in vitro* para *F. tucumaniae*. Este fato remete que ambas as bactérias testadas, não tem ação isolada ou sinérgica sobre o *F. tucumaniae*. O maior crescimento da testemunha indica a viabilidade da colônia de *F. tucumaniae* utilizada (Tabela 10).

Outra consideração a ser exposta é que todos os fungicidas testados

neste trabalho, mesmo sendo os de maior utilização em TSI, nenhum possui indicação para controle de PVR (STANDAK TOP, 2019; MAXIM XL, 2019; DEROSAL PLUS, 2019; CERTEZA, 2019), fato que indica a necessidade de estudos para desenvolvimento de misturas de moléculas e/ou produtos biológicos no controle deste importante fitopatógeno da soja.

Tabela 10 - Crescimento Micelial de Colônia de *Fusarium tucumaniae*, Após Sete Dias de Incubação Pareada com Sementes Tratadas com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – 2019.

Tratamentos	Área da Colônia (cm ³)
Testemunha	48,02 a
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	29,08 b
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	42,02 a
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	35,96 a
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	42,18 a
<i>B. japonicum</i>	48,74 a
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	31,51 b
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i>	42,83 a
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	41,15 a
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	40,20 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	50,27 a
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	14,42 c
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	39,36 a
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	31,43 b
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	43,85 a
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	11,41 d
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	8,05 e
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	3,75 e
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	10,89 d
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	22,62 b
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	29,47 b
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	12,26 d
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	17,75 c
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	9,92 e
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	28,30 b
CV (%)	5,62

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste Skott-Knott ($p < 0,05$).

CV (%): Coeficiente de Variação.

Todos os tratamentos com *T. harzianum* tiveram menores crescimentos miceliais, independentemente do produto fitossanitário ou biológico (Tabela 10). Em trabalho testando desinfetantes em estufas de produção de cogumelos comestíveis Togashi, Gisusi, Harada (1998), verificaram que há cepas de *T. harzianum* resistentes

a benzimidazóis, como o benomil. A relevância deste fato é que três dos quatro fungicidas testados neste experimento possuem benzimidazóis em sua composição, ou seja, pode-se justificar o fato de que os tratamentos com *T. harzianum* tenham incompatibilidade com estes fungicidas. O único fungicida que não tem benzimidazol é o Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil, o qual possui mistura de acilalaninato e fenilpirrol, sendo que quando aplicado isoladamente apresentou-se entre os maiores crescimentos miceliais, já quando acrescido de *B. japonicum* + *T. harzianum*, teve o segundo menor crescimento e, quando com *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum* o menor crescimento.

E o Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil, que também é uma mistura de dois grupos de fungicidas, Benzimidazol e Estrobitulina, quando aplicado sozinho teve o maior crescimento, mas quando com *B. japonicum* + *T. harzianum* apresentou o menor de todos os crescimentos, que não diferiu estatisticamente do Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram + *B. japonicum* + *T. harzianum*. Estes dois fatos, remetem a possibilidade de compatibilidade de *T. harzianum*, com outros grupos de fungicidas, sendo este fato confirmado também pelo teste de compatibilidade (Descrito em 4.1), o qual revelou que este fungo teve as maiores DIM, ou seja, foi um dos mais resistentes aos produtos testados.

A compatibilidade e *T. harzianum* e fungicidas também foi testada por Pandolfo (2007), que observou que trifloxistrobina + protioconazol foram os menos tóxicos à diversos isolados deste. Divergindo dos resultados encontrados por esta autora, aqui o Carbendazim - Tiram + *T. harzianum*, teve o menor crescimento micelial de *F. tucumaniae*, ou seja, pode ter ocorrido sinergismo entre os produtos fitossanitários e os biológicos.

O *T. harzianum* possui como composição de suas hifas β -glucanas e quitina, que é característica da ordem *Hypocreales* (MASSOLA JUNIOR, 2018), o que pode ter lhe conferido maior compatibilidade com os produtos fitossanitários e consequente ação sobre o *F. tucumaniae*. Além de que, este fungo possui ação polivalente sobre outros organismos, sendo classificado como parasita, hiperparasita, micoparasita (MELO, 1998; HARMAN, 2000), competidor (HARMAN, 2000) e antibiótico (STADNIK; BETTIOL, 2000).

Observando-se somente os tratamentos de sementes com biológicos,

pode-se inferir que o *T. harzianum* possui efeito supressor sobre o crescimento de *F. tucumaniae*. Esta comprovação é feita quando se analisa o tamanho das colônias com estas diferentes combinações aplicação de *B. japonicum*, com 48,74 cm³, *B. japonicum* + *A. brasilense*, com 50,27 cm³, *B. japonicum* + *T. harzianum* 11,41 cm³ e *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum* 29,47 cm³. Quando tratadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum* as médias estão entre as de segundo maior crescimento, mas isso representa 39,54% e 41,37% a menos de crescimento das colônias de *F. tucumaniae*, em relação ao *B. japonicum* e *B. japonicum* + *A. brasilense*, respectivamente. Já, quando se compara os valores obtidos com tratamento de *B. japonicum* + *T. harzianum*, esta redução em relação a *B. japonicum* é de 76,59% e em relação a *B. japonicum* + *A. brasilense* é de 77,3%. Estas comparações pressupõem que *T. harzianum* e *B. japonicum* tem efeito sinérgico sobre a redução de colônia de *F. tucumaniae*, enquanto *T. harzianum* e *A. brasilense*, não possuem efeito aditivo, ou até incompatibilidade.

Ribas *et al.* (2014) encontraram redução da cultura de *F. oxysporum* por antagonismo e inibição devido a emissão de metabólitos voláteis de *Trichoderma* spp. Entre os metabólitos isolados encontraram quitinase, glucanase e proteases, o que justificam tanto a ação sobre o *F. tucumaniae* quanto sobre o *A. brasilense*.

Uma análise conjunta dos dados permite afirmar que o uso de *T. harzianum* isolado ou associado com os fungicidas possui ação como biocontrole, sendo uma alternativa viável no tratamento de sementes para o manejo da podridão vermelha da raiz da soja.

4.3 ESTUDO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA INFESTADAS COM *Fusarium tucumaniae* E SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS

Para o teste de patologia de sementes, a presença de *F. tucumaniae* não teve distribuição normal com nenhuma das transformações de dados. Portanto, optou-se somente em apresentá-los (Tabela 11). Mesmo sem significância estatística, observa-se que com poucas exceções, as sementes infestadas apresentaram maior percentual de *F. tucumaniae* o que comprova a efetividade o inóculo, fato também

comprovado pela testemunha. Antes do tratamento com produtos fitossanitários, após serem armazenadas por 23 com o inóculo de *F. tucumaniae*, as sementes apresentaram aumento de 8,5% de sementes infectadas por *Fusarium* spp. (Tabela 12). E depois de armazenadas por mais 32 dias, a testemunha teve redução da infecção deste patógeno para 7%, ou seja, o inóculo perdeu parte da sua viabilidade.

Tabela 11 – Percentual de Sementes que Apresentaram Infecção com *Fusarium tucumaniae* no Teste de Patologia de Sementes, Após Infestação com *F. tucumaniae* e Tratamento com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Tratamentos de sementes	Não Infestadas	Infestadas
Testemunha	3,9	7,0
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	0,3	0,2
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	0,6	2,5
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	0,6	2,8
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	0,4	0,7
<i>B. japonicum</i>	1,8	2,3
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	0,1	0,8
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i>	1,4	1,5
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	0,3	0,9
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	0,4	0,3
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	0,8	2,0
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	0,2	0,2
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	2,0	2,7
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	0,3	0,5
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	0,3	0,5
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	2,0	1,6
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	0,2	0,1
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	1,2	1,3
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	0,1	0,5
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	0,2	0,5
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	1,1	2,1
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	0,2	0,9
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	1,8	0,0
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	0,5	1,0
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	0,0	0,0

Outra observação importante na incidência de *Fusarium* spp. no teste de patologia (Tabela 4), o tratamento Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, erradicou totalmente o

Fusarium spp. do lote de sementes**Tabela 12-** Resultado da Análise da Variância para o Experimento de Qualidade de Sementes. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

PG				
Causa de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F calculado
Fator1(F1)	1	260064,72000	260064,72000	0,4861 ns
Fator2(F2)	24	42605810,72000	1775242,11333	3,3181 **
Int. F1xF2	24	18945861,28000	789410,88667	1,4755 ns
Tratamentos	49	61811736,72000	1261464,01469	2,3578 **
Resíduo	15	80253380,00000	535022,53333	-----
Total	199	142065116,7200	-----	-----
CPA				
Fator1(F1)	1	1,45744	1,45744	2,0313 ns
Fator2(F2)	24	210,90556	8,78773	12,2479 **
Int. F1xF2	24	45,51263	1,89636	2,6430 **
Tratamentos	49	257,87562	5,26277	7,3350 **
Resíduo	15	107,62346	0,71749	-----
Total	199	365,49908	-----	-----
CR				
Fator1(F1)	1	0,21944	0,21944	0,1130 ns
Fator2(F2)	24	160,84670	6,70195	3,4501 **
Int. F1xF2	24	83,28674	3,47028	1,7865 *
Tratamentos	49	244,35289	4,98679	2,5672 **
Resíduo	15	291,37907	1,94253	-----
Total	199	535,73195	-----	-----
MSP				
Fator1(F1)	1	0,02431	0,02431	1,9391 ns
Fator2(F2)	24	2,61839	0,10910	8,7013 **
Int. F1xF2	24	0,55467	0,02311	1,8432 *
Tratamentos	49	3,19737	0,06525	5,2042 **
Resíduo	15	1,88075	0,01254	-----
Total	199	5,07812	-----	-----
IVE				
Fator1(F1)	1	0,02688	0,02688	0,7094 ns
Fator2(F2)	24	9,55784	0,39824	10,5111 **
Int. F1xF2	24	3,11775	0,12991	3,4287 **
Tratamentos	49	12,70247	0,25923	6,8421 **
Resíduo	150	5,68321	0,03789	-----
Total	199	18,38567	-----	-----
VE				
Fator1(F1)	1	0,00049	0,00049	0,1087ns
Fator2(F2)	24	0,93847	0,03910	8,6423**
Int. F1xF2	24	0,30499	0,01271	2,8086*
Tratamentos	49	1,24396	0,02539	5,6108**
Resíduo	150	0,67869	0,00452	-----
Total	199	1,92265	-----	-----
CVE				
Fator1(F1)	1	0,11926	0,11926	0,7538**
Fator2(F2)	24	39,72585	1,65524	10,4620 **
Int. F1xF2	24	13,08286	0,54512	3,4454 **
Tratamentos	49	52,92796	1,08016	6,8272 **
Resíduo	15	23,73216	0,15821	-----
Total	199	76,66012	-----	-----

** significativo pelo Teste F ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo pelo Teste F ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns: não significativo pelo Teste F ($p \geq 0,05$)

Nos testes de avaliação de qualidade de sementes, o Fator 1, ausência

ou presença de inóculo de *F. tucumaniae* no armazenamento de sementes de soja, não afetou o desempenho fisiológico das sementes, para nenhuma das variáveis estudadas, ou seja, não apresentou significância. O Fator 2, tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e biológicos, obteve resultado estatisticamente significativo, somente para a variável PG. Para as demais variáveis estudadas, CR, CPA, MSP, IVE, VE e CVE, houve interação entre os fatores, ausência ou presença de inóculo e tratamento de sementes (Tabelas 13 e 14).

A menor germinação ocorreu com a testemunha, que diferiu dos demais tratamentos, independente da presença de inóculo de *F. tucumaniae*, apresentando valor inferior ao mínimo permitido pela legislação, que é de 80%. Reis, Reis, Carmona (2019), explicam que quando há lotes com baixa germinação, esta pode ser melhorada com o tratamento de sementes, uma vez que fitopatógenos podem aumentar o número de sementes mortas. Este fato pode ser comprovado se observado o percentual de incidência de *Fusarium* spp. no teste de patologia (Tabela 11).

Todos os demais tratamentos, com produtos fitossanitários, com ou sem biológicos, tiveram desempenho maior que a testemunha. Pereira *et al.* (2009), encontraram que sementes tratadas com fludioxonil + mefenoxan e thiabendazole + thiram foram eficientes no controle de *Colletotrichum truncatum* e melhoraram o desempenho fisiológico de sementes de soja. Balardin *et al.* (2005) comprovaram que *F. solani* f.sp. *glycines*, possui transmissibilidade das sementes para as plântulas, o que justifica a utilização de tratamentos de sementes para tal finalidade.

O lote de sementes apresentava germinação de 92%, antes da infestação com *F. tucumaniae* e 32 dias após, mesmo não infestado 90% e infestado 88% e, quando armazenado por mais 32 dias, a germinação chegou a 78%. Ou seja, houve um decréscimo em seu potencial fisiológico com a presença do patógeno, pois o percentual de deterioração aumentou 4%, quer dizer, houve efeito negativo da presença deste, uma vez que pode ter favorecido a infecção das sementes e proporcionado a deterioração das mesmas. Marcos-Filho (2015), aponta que deterioração de sementes é contínua, irreversível, determinada por fatores por genéticos, pela composição química, pelo teor de água, condições de armazenagem e fungos saprófitas.

Contraopondo a situação aqui encontrada, o autor supracitado, relata que fungos de campo, como *Fusarium* spp., não causam deterioração às sementes, já que se desenvolvem somente com umidades a partir de 30%. Mas, corroborando com o resultado aqui encontrado Perreira *et al.* (2009), concluíram que *Colletotrichum truncatum*, foi controlado de forma eficiente pelo tratamento das sementes de soja com fludioxonil + mefenoxan e thiabendazole + thiram, sendo que estes melhoraram o desempenho fisiológico das sementes.

Assim, a justificativa mais plausível para a redução de germinação na testemunha, é que ocorreu deterioração das mesmas devido a presença do fitopatógeno, além do que, o inóculo era composto por grãos de sorgo, os quais podem ter servido de abrigo para fungos de armazenamento, já que as embalagens de algodão não foram desinfestadas.

Quando tratadas, as sementes tiveram maior potencial germinativo, o que contradiz a maioria dos estudos encontrados, já que pode ocorrer a fitotoxicidade, que segundo Reis, Reis, Carmona (2019) esta é definida como a propriedade de uma substância química causar injúria, ou efeito nocivo ou danoso à planta. Explicam ainda, que no caso de tratamento de sementes com fungicidas, pode ocorrer redução da emergência e desenvolvimento lento de plântulas.

Quanto ao tratamento com produtos fitossanitários e posterior armazenamento por 32 dias, há divergências entre autores. Neste aspecto, Krohn, Malavasi (2004), concluíram que à partir de quatro meses de armazenamento, sementes de soja tratadas com Carbendazin + Tiram, tiveram menor germinação e emergência. Ludwig *et al.* (2011), observaram que 60 dias após o tratamento com fungicida (Fludioxonil + Metalaxil) e inseticida (Thiametoxam), as sementes de soja tiveram redução de 10% na germinação.

Quanto a aplicação de produtos Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil e Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil, todos acrescidos de *B. japonicum* + *A. brasilense*, garantiram maior germinação das sementes na maioria dos tratamentos. Estes microrganismos podem ter competido com o *F. tucumaniae* e outros microrganismos na superfície das sementes, o que aumentou o número de germinadas. Já as combinações dos quatro produtos fitossanitários com *B. japonicum*, não diferiram entre si, apresentando o

segundo melhor desempenho. Este fato deve-se ao *B. japonicum* possuir efeitos benéficos às plantas somente quando em simbiose com estas.

Tabela 13 – Potencial de Germinação (PG), Comprimento de Parte Aérea (CPA), Comprimento de Raiz (CR), Massa Seca de Plântula (MSP) Após Infestação de Sementes com *Fusarium tucumaniae* e Tratamento com Produtos Fitossanitários e Biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Tratamentos de Sementes	PG (%)	CPA (cm)		CR (cm)		MSP (g)	
		Não Infestadas	Infestadas	Não Infestadas	Infestadas	Não Infestadas	Infestadas
Testemunha	78 c	7,27 Aa	7,92 Aa	13,89 Aa	14,28 Aa	0,55 Bb	0,41 Ae
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	93 a	6,82 Aa	7,32 Aa	13,32 Ba	15,34 Aa	0,56 Ab	0,67 Ab
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	88 b	7,51 Aa	7,34 Aa	14,30 Aa	14,14 Aa	0,58 Ab	0,61 Ac
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	87 b	6,74 Ba	8,06 Aa	14,77 Aa	14,32 Aa	0,61 Ab	0,62 Ac
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	90 a	4,83 Ac	3,91 Ad	15,43 Aa	12,59 Bb	0,68 Ab	0,68 Ab
<i>B. japonicum</i>	89 b	7,44 Aa	8,42 Aa	14,05 Aa	14,19 Aa	0,64 Bb	0,49 Ad
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	88 b	5,58 Ab	6,61 Ab	13,71 Aa	15,13 Aa	0,50 Ab	0,61 Ac
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i>	89 b	7,69 Aa	5,97 Bb	13,73 Aa	13,09 Ab	0,54 Ab	0,53 Ad
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	89 b	7,63 Aa	7,27 Aa	14,47 Aa	13,80 Aa	0,66 Ab	0,56 Ac
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	89 b	5,15 Ac	4,84 Ac	13,69 Aa	13,92 Aa	0,73 Aa	0,71 Ab
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	92 a	7,90 Aa	6,27 Bb	13,81 Aa	13,77 Aa	0,88 Aa	0,88 Aa
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	92 a	6,03 Ab	5,22 Ac	12,67 Ab	12,69 Ab	0,60 Ab	0,62 Ac
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	93 a	6,59 Aa	6,15 Ab	13,81 Aa	12,94 Ab	0,85 Aa	0,92 Aa
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	92 a	5,39 Bc	6,91 Ab	11,23 Bb	14,16 Aa	0,62 Ab	0,81 Bb
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	88 b	4,31 Ac	5,18 Ac	13,92 Aa	12,17 Ab	0,59 Ab	0,56 Ae
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	6,00 Ab	6,44 Ab	13,95 Aa	12,26 Ab	0,80 Aa	0,75 Ab
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	93 a	6,18 Ab	5,18 Ac	13,82 Aa	15,37 Aa	1,04 Aa	1,08 Aa
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	92 a	5,78 Ab	6,62 Ab	12,56 Ab	13,67 Aa	0,67 Ab	1,17 Ba
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	5,82 Ab	5,48 Ac	11,88 Ab	11,45 Ab	0,60 Ab	0,69 Ab
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	4,88 Ac	3,51 Ad	13,44 Aa	12,89 Ab	0,61 Ab	0,62 Ac
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	90 a	8,40 Aa	6,60 Ab	13,09 Aa	14,13 Aa	0,52 Ab	0,62 Ac

Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	5,97 Ab	5,45 Ac	11,90 Ab	12,47 Ab	0,51 Ab	0,50 Ae
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	7,03 Aa	6,09 Ab	13,31 Aa	11,02 Bb	0,54 Ab	0,57 Ac
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	92 a	6,41 Ab	6,65 Ab	11,63 Ab	11,15 Ab	0,59 Ab	0,73 Ab
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	88 b	5,35 Ac	5,04 Ac	14,56 Aa	14,37 Aa	0,58 Ab	0,65 Ac
CV (%)	9,14	13,52		10,37		8,89	

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo Teste Skot-Knott ($p < 0,05$), maiúscula na linha e minúscula na coluna. CV (%): Coeficiente de Variação.

Tabela 14 – Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Velocidade de Emergência (VE) e Coeficiente de Velocidade de Emergência (CVE) de sementes de soja após infestação com *F. tucumaniae* e tratamento com produtos fitossanitários e biológicos. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Tratamentos	IVE		VE (dias)		CVE	
	Não Infestadas	Infestadas	Não Infestadas	Infestadas	Não Infestadas	Infestadas
	Testemunha	25,395 Bb	25,714 Aa	11,33 Ab	11,22 Bb	29,998 Ac
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram	25,414 Ab	25,511 Aa	11,33 Ab	11,28 Ab	29,961 Ac	29,872 Ab
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil	25,830 Aa	25,472 Aa	11,18 Bc	11,33 Ab	29,160 Ac	29,850 Ab
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil	25,414 Ab	25,554 Aa	11,33 Ab	11,27 Ab	29,969 Bd	29,695 Ab
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam	25,124 Ac	25,318 Aa	11,41 Aa	11,35 Ab	30,537 Ab	30,157 Ab
<i>B. japonicum</i>	25,265 Ac	25,033 Ab	11,36 Ab	11,43 Aa	30,261 Ac	30,742 Aa
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i>	24,951 Bd	25,337 Aa	11,44 Aa	11,33 Bb	30,916 Aa	30,119 Bb
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i>	25,376 Ab	25,356 Aa	11,35 Ab	11,35 Ab	30,036 Ac	30,083 Ab
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i>	25,120 Bc	25,569 Aa	11,40 Aa	11,29 Bb	30,547 Ab	29,662 Bb
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	24,844 Bd	25,376 Aa	11,49 Aa	11,37 Bb	31,193 Aa	30,037 Bb
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	25,236 Ac	25,009 Ab	11,37 Ab	11,45 Aa	30,315 Ac	30,798 Aa
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	25,105 Ac	24,917 Ab	11,41 Aa	11,47 Aa	30,591 Ab	31,009 Aa
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	24,931 Ad	24,946 Ab	11,46 Aa	11,46 Aa	30,972 Aa	30,940 Aa
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	25,120 Ac	24,888 Ab	11,40 Aa	11,48 Aa	30,554 Ab	31,073 Aa
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i>	24,835 Ad	25,033 Ab	11,51 Aa	11,43 Aa	31,224 Aa	30,743 Aa
+ <i>A. brasilense</i>	25,047 Ac	25,033 Ab	11,43 Aa	11,43 Aa	30,710 Ab	30,731 Aa
<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>						

Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	25,105 Ac	25,202 Ab	11,41 Aa	11,39 Aa	30,578 Ab	30,380 Aa
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	24,893 Ad	25,047 Ab	11,48 Aa	11,43 Aa	31,051 Aa	30,702 Aa
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	24,931 Ad	25,124 Ab	11,46 Aa	11,42 Aa	30,970 Aa	30,546 Aa
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>	25,598 Aa	25,221 Bb	11,25 Bc	11,37 Ab	29,605 Bd	30,344 Aa
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	25,380 Ab	25,376 Aa	11,32 Ab	11,31 Ab	30,028 Ac	30,038 Ab
Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	25,265 Ac	25,409 Aa	11,36 Ab	11,31 Ab	30,255 Ac	29,977 Ab
Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	25,612 Aa	25,424 Aa	11,25 Ac	11,31 Ab	29,577 Ad	29,943 Ab
Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	25,772 Aa	25,434 Ba	11,20 Bc	11,32 Ab	29,270 Bd	29,923 Ab
Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	25,467 Ab	25,308 Aa	11,29 Ab	11,34 Ab	29,858 Ac	30,168 Ab
CV (%)	0,77		0,59		1,31	

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo Teste Skot-Knott ($p < 0,05$), maiúscula na linha e minúscula na coluna. CV (%): Coeficiente de Variação.

Entre os tratamentos com fungicidas e inseticidas, o Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam isolado ou com produtos biológicos foi o que teve a menor germinação de todos. Este fato pode ser justificado devido a presença de tiofanato metílico na sua formulação. Contudo este ativo é citado por alguns autores como redutor do desempenho das sementes de soja e o crescimento das plantas é reduzido quando as sementes são tratadas (PEREIRA *et al.*, 2009).

Por outro lado, vale ressaltar que o Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil tem em sua composição tiofanato metílico, o ativo que pode indicar que o efeito de fitotoxicidade pode não estar relacionado exclusivamente aos princípios ativos dos fungicidas, mas à algum componente inerte do produto comercial. Ainda que, este produto possui um fungicida do grupo químico das estrobirulinas, a piraclostrobina.

Segundo Reis, Reis e Carmona (2019), as estrobirulinas, além de fungicidas, podem apresentar melhor desempenho fisiológico sobre plantas, melhorando a taxa de fotossíntese líquida e produção de etileno, com o aumento da atividade da enzima nitrato redutase, da tolerância a estresse hídrico e por oscilação de temperatura. Porém, não é o que ocorre durante o processo da germinação.

A retomada do crescimento do embrião, decorrente do processo de embebição e conseqüente remobilização de reservas, exige de fato que estas estejam à disposição das células meristemáticas para poderem cumprir seu papel. Acaso estes tecidos estejam afetados pelo parasitismo de fungos, por exemplo, irá ocorrer nítida competição pelos nutrientes. Portanto, pode-se inferir que muito provavelmente a melhora no desempenho germinativo das sementes tratadas com Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil deva-se à supressão ou inibição da ação fúngica, do que propriamente à efeito potencializador do processo.

Para os demais testes realizados em laboratório CPA, CR e MSP, observou-se interação entre os fatores presença de inóculo e tratamentos de sementes (Tabela 12 e 13). Para CPA e CR, a testemunha apresentou com os maiores valores, no entanto, quando se analisa a MSP, foi classificada como a pior média entre os tratamentos (Tabela 13). Assim, pode-se inferir que estas plântulas eram estioladas, ou as sementes não tinham reservas transferir para as mesmas. Segundo Nakagawa (1999), o teste de MSP tem como objetivo determinar com certa precisão

a taxa de transferência de reservas para o embrião.

Desta forma, sementes que originam plântulas normais com maior peso médio de massa seca, são consideradas mais vigorosas. Ainda sobre MSP, o Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico - Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense* e Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, também apresentaram os menores valores, não diferindo da testemunha. Isto relaciona-se com o possível efeito fitotóxico dos fungicidas presentes nestes tratamentos, fluazinam + tiofanato metílico e Carbendazim + Tiram.

Quando observa-se o efeito da infestação com *F. tucumaniae*, não consegue-se inferir uma explicação plausível, já que por vezes as sementes não infestadas tiveram menor desenvolvimento e por outras as infestadas.

Para MSP (Tabela 13), os tratamentos com Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim - Tiram + *B. japonicum* + *T. harzianum*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *A. brasilense* e Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *T. harzianum*, são os maiores valores. O que pode-se deduzir é que há efeito do *A. brasilense* aplicado sobre estas plântulas, uma vez que, este possui efeito comprovado sobre o estímulo da produção de fito hormônios (HIDALGO, 2018).

No entanto, quando se observa os tratamentos com adição de *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, as médias de MSP são reduzidas, com exceção do Tiametoxam + Metalaxil-M - Fludioxonil. Este fato, novamente remete a possibilidade de haver incompatibilidade ou competitividade entre *A. brasilense* + *T. harzianum*, o que já foi observado no teste de crescimento micelial e pode ser observado nos testes de emergência, pois os tratamentos fitossanitários que tem *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, tem resultados menores dos que tem somente *B. japonicum* + *T. harzianum* ou *B. japonicum* + *A. brasilense*. A justificativa para esta incompatibilidade pode ser dada por Ribas *et al.* (2014), que concluíram que isolados de *Trichoderma* spp. produzem diversas enzimas, entre estas proteases, que podem inibir ou degradar a parede proteica do *A. brasilense*.

Quanto as variáveis de emergência de plântulas, IVE, VE e CVE, também houve a interação entre os fatores infestação e tratamentos de sementes (Tabela 12 e 14). As diferenças foram significativas estatisticamente, no entanto,

quando se trata de aspecto prático a VE, que é dada em dias, ou seja, quantos, as sementes levaram para emergir. Sendo assim esta diferença de valores é ínfimo, pois a diferença entre o maior valor apresentado 11,49 (a) e o menor 11,18 (c) significa 0,31 dias, ou seja, 7,44 horas. Este fator torna-se ainda menos expressivo, quando compara-se valores classificados com o menor VE (c) e o segundo maior (b) a diferença passa a ser de 4,56 horas. Sendo, portanto, uma variável de pouca expressividade para confrontação dos dados experimentais deste estudo.

Quando trata-se dos índices de emergência, dados por IVE e CVE (Tabela 14), Nakagawa (1999) e Elias *et al.* (2012), explicam que quanto maiores os valores, maior é a velocidade, subentendendo-se que as sementes são mais vigorosas. Nestes aspectos, não houve uma sequência de resultados que justifique as sementes infestadas e não infestadas com *F. tucumaniae*, apresentarem tais valores.

Para estas variáveis, quando se observa as sementes não infestadas, os produtos fitossanitários, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Piraclostrobrina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *T. harzianum* tiveram os menores IVE, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 14). Novamente pode-se inferir que este possui em sua composição tiofanato metílico, o que pode ter gerado fitotoxicidade. Este fato se repetiu, pois já havia ocorrido no teste de germinação de sementes e vale ressaltar que neste caso, ambos os produtos com este princípio ativo tiveram este efeito negativo. No entanto, quando se avalia CVE, não são estes produtos os que obtiveram um menor resultado.

Quando observa-se o percentual de germinadas para a testemunha, que foi o menor entre todos os tratamentos, nota-se que este resultado não foi notado para os testes de emergência de plântula. O IVE da testemunha, para sementes não infestadas, foi classificado como a segunda menor média, enquanto o IVE para sementes infestadas como a maior média. Isto mostra, quando exposto a condições ambientais, o patógeno infestante, *F. tucumanie*, encontrou dificuldades para agir sobre as sementes.

O solo, por ser um ambiente com microbiota abundante e variável, mostrou-se, neste caso antagônico à este fitopatógeno, o que não ocorreu por sua vez, durante o teste de germinação, realizado com substrato autoclavado. Este fato

se reafirma quando se observa os resultados das sementes tratadas com *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum*, pois também não mostraram-se com os maiores índices, o que indica competição com a microbiota do solo. Tal efeito, ratifica os resultados do teste de germinação.

4.4 TRATAMENTOS DE SEMENTES COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E BIOLÓGICOS SOBRE A INCIDÊNCIA DE PODRIDÃO VERMELHA DA RAIZ EM SOJA

Para a variável incidência de *F. tucumaniae* no sistema radicular da soja, os dados não apresentaram normalidade em nenhum teste (D'Agostino, Lilliefors, Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, Cramér-von Mises, Anderson-Darling, Kuiper, Watson) e devido a complexidade de interpretação dos resultados dos testes não paramétricos, pois são 25 tratamentos e dois fatores, optou-se por estatística descritiva dos mesmos, agrupando-se por tipo de tratamentos aplicados. Os dados apresentados estão em porcentagem de incidência, lembrando-se que foram avaliadas raízes das três repetições de cada tratamento (Tabela 15).

Haja vista, a não possibilidade do teste de comparação de médias para a incidência, observa-se na análise comparativa de grupos de tratamentos, que a testemunha, apresentou incidência de 100%, o que comprova a efetividade do inóculo utilizado no experimento.

Quanto ao uso dos produtos biológicos, constatou-se a redução da incidência de *F. tucumaniae*, sendo a menor entre os tratamentos, 66,67%. O uso dos tratamentos fitossanitários apresentou média de incidência de 83,33% e o uso de biológicos de forma associada aos produtos fitossanitários, 70,83% quando aplicados em sulco e 60,42% quando aplicados nas sementes.

Os produtos fitossanitários aqui testados não possuem recomendação para *F. tucumaniae*. No entanto, os resultados encontrados mostram uma possibilidade de estudos da associação entre os princípios ativos testados, juntamente com os *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum*.

Tabela 15 - Incidência de *Fusarium tucumaniae* no Sistema Radicular de Plantas de Soja, Submetidas a Tratamentos de Sementes com Produtos Fitossanitários e Biológicos Aplicados em Sulco e nas Sementes. UTFPR – Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Tratamentos	% de incidência	
	Sulco	Semente
Testemunha ¹	100,00	100,00
Tratamentos com produtos biológicos ²	66,67	66,67
Tratamentos com produtos fitossanitários ³	83,33	83,33
Tratamentos com produtos fitossanitários + biológicos ⁴	70,83	60,42

¹ Sem tratamento

² Média dos tratamentos: *B. japonicum*, *B. japonicum* + *A. brasilense*, *B. japonicum* + *T. harzianum*, *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*.

³ Média dos tratamentos: Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico – Fipronil, Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam.

⁴ Média dos tratamentos: Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + *B. japonicum*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum*, Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + *B. japonicum*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum*, Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense*, Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + *B. japonicum* + *T. harzianum*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *T. harzianum*, Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + *B. japonicum* + *T. harzianum*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum* + *T. harzianum*, Imidacloprido - Tiodicarbe + Carbendazim – Tiram + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, Piraclostrobina - Tiofanato Metílico - Fipronil + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, Tiametoxam + Metalaxil-M – Fludioxonil + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*, Bifentrina - Imidacloprid + Tiofanato Metílico – Fluazinam + *B. japonicum* + *A. brasilense* + *T. harzianum*.

As reduções de incidência de 33,33% de *F. tucumanie* obtida nos tratamentos com produtos biológicos, 29,17% 39,58% quando associados aos produtos fitossanitários, demonstram o potencial dos microrganismos testados neste experimento. Inclusive, pode-se afirmar que a associação dos produtos fitossanitários e biológicos foi sinérgica, pois, quando se compara cada grupo isoladamente, a redução da incidência é menor.

Para volume radicular, não houve efeito significativo, sendo a média dos tratamentos foi de 2,61 cm³ para os tratamentos aplicados em sulco e 2,43 cm³ para os aplicados em sementes. O que se destacou nesta foi o alto CV 26,23%, dado devido a variação dos dados. Segundo Banzato, Kronka (2006), valores de coeficiente de variação abaixo de 15% indicam boa precisão experimental, demonstrando assim, a eficiência na execução e a confiabilidade dos resultados obtidos. Assim, sugere-se novo experimento utilizando metodologias diferentes que determinem de maneira mais consistente o volume radicular. Neste sentido Vasconcelos *et al.* (2003) indicaram diversas metodologias.

Corroborando com este trabalho, Bárbaro *et al.* (2009), também não encontraram diferença na massa se raízes de plantas de soja inoculadas e coinoculadas em comparação com a testemunha. Já Bracini *et al.* (2016), concluíram que a inoculação com *B. japonicum* e a coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense*, incrementaram o sistema radicular da soja. Este fato era esperado no presente trabalho, principalmente nos tratamentos com presença de *A. brasilense* e *T. harzianum*, devido a capacidade de estimular a produção de fito hormônios, como o ácido indol acético, ácido indol butírico (MARTÍNEZ-VIVEROS *et al.*, 2010; HUNGRIA, 2011; MACHADO *et al.*, 2012; HIDALGO, 2018) e incrementar o sistema radicular.

Quanto aos tratamentos com presença de *T. harzianum*, analisando os resultados promissores encontrados nos Estudos I e II (Descritos em 4.1 e 4.2), imaginava-se que este poderia proporcionar um incremento no sistema radicular, pelo controle conferido ao *F. tucumaniae*. Sendo que, as plantas inoculadas com este, poderiam apresentar maior número de raízes, pois estariam com menor incidência e severidade de PVR, devido a capacidade de parasitismo (MELO, 1998; HARMAN, 2000), competição (HARMAN, 2000) e antibiose (STADNIK; BETTIOL, 2000) que este possui. No entanto, o observado para este foi somente em relação a incidência, que foi reduzida com a presença do grupo de biológicos (Tabela 15).

5 CONCLUSÕES

Com a realização dos quatro estudos pode-se concluir que:

- **Estudo I - Dose inibitória mínima dos produtos fitossanitários utilizados no tratamento de sementes sobre os biológicos e o *Fusarium tucumaniae***

Os produtos fitossanitários testados inibem o crescimento dos agentes biológicos *B. japonicum*, *A. brasilense* e *T. harzianum*.

Nas doses comerciais recomendadas pelos fabricantes dos produtos utilizados no tratamento de sementes, não há compatibilidade dos produtos fitossanitários e os biológicos testados, sendo o *T. harzianum* o menos sensível.

A DIM para *F. tucumaniae*, está relacionada aos ingredientes ativos, sendo um fator importante na tomada de decisão na escolha do ativo para o tratamento de sementes,

- **Estudo II: Produtos fitossanitários e biológicos sobre o crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium tucumaniae***

O efeito dos agentes biológicos isolados ou associados com químicos possuem especificidades no controle de *F. tucumaniae*, sendo que o uso isolado ou associado de *T. harzianum* demonstrou maior potencial sobre no controle de *F. tucumaniae*.

- **Estudo III: Qualidade de sementes de soja infestadas com *Fusarium tucumaniae* e submetidas a tratamentos com produtos fitossanitários e biológicos**

As sementes não tratadas tiveram redução de viabilidade.

Os produtos fitossanitários não possuem efeito sobre a viabilidade das sementes de soja.

Os produtos fitossanitários possuem efeito sobre o vigor das sementes de soja.

- **Estudo IV: Tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e biológicos sobre a incidência de podridão vermelha da raiz em soja**

O tratamento de sementes com produtos fitossanitários isoladamente ou associado com biológicos reduz a incidência de PVR da soja, quando comparado com o não tratamento de sementes. No entanto, tais associações possuem

particularidades que merecem ser mais bem exploradas para uma recomendação no tratamento de sementes ou uso em sulco de cultivo da soja.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Depois da realização dos quatro experimentos apresentados, a principal consideração a ser feita é que há muito a que se pesquisar. Assim, a necessidade de novos estudos, com maior detalhamento nos âmbitos aqui pesquisados, fica clara.

Outro fato de destaque é que os produtos fitossanitários aqui testados não tem recomendação para controle de *F. tucumaniae*, mas mesmo assim, apresentaram-se promissores, uma vez que, principalmente *in vitro*, mas também por hora *in vivo*, apresentaram redução no crescimento e incidência deste fitopatógeno.

Referindo-se ao Estudo I, há a necessidade de se aprofundar nas interações produtos fitossanitários e biológicos.

Mencionando os Estudos II e III, sugere-se fazer um estudo mais detalhado quando a compatibilidade entre os biológicos *A. brasilense* + *T. harzianum*. Este deve ter como objetivo verificar qual a interação ecológica entre estes microrganismos, tanto *in vitro* como *in vivo*, considerando a estabilidade, o tempo de exposição dos mesmos às sementes tratadas e condições de solo.

Quando cita-se o Estudo IV, se evidencia a importância dos produtos biológicos, já que houve a redução da incidência de PVR na soja.

Contudo, os produtos biológicos possuem efeito negativo sobre o *F. tucumaniae*, efeito este, que deve ser estudado e especificado caso a caso. No entanto, deve-se observar a compatibilidade dos produtos fitossanitários com os microrganismos testados, para que não haja antagonismo destes.

REFERÊNCIAS

ABCMED, 2014. **Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas: o que são?** Disponível em: <<https://www.abc.med.br/p/587007/bacterias-gram-positivas-e-gram-negativas-o-que-sao-como-e-a-tecnica-de-gram-quais-as-vantagens-de-diferenciar-as-bacterias-gram-negativas-e-gram-positivas.htm>>. Acesso em: novembro de 2019.

ABNEY, T.S.; RICHARDS, T.L.; ROY, K.W. *Fusarium solani* from ascospores of *Nectria hematococca* causes sudden death syndrome of soybean. **Mycologia**. v.85, n.5. p.801-806, 1993.

ABRASEM. **Estatísticas**. Disponível em:<<http://www.abrasem.com.br/estatisticas/#>>. Acesso em: 12 de outubro de 2019.

ABRASS - Associação Brasileira dos Produtores de Sementes de Soja. **Associados**. Disponível em: <<https://abrasem.com.br/associados/>>. Acesso em: out 2019.

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A.A. Doenças da Soja (*Glycine max* L.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas cultivadas**. 3ª ed., Vol. 2, São Paulo: Ceres, 1997. p. 642-664.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. editores. **Manual de Fitopatologia. Volume 1** - Princípios e Conceitos. 4ª Edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2011. 704p.

AMORIN, L.; PASCHOLATI, S.F. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia Volume I**. 5ª Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. 573 p.

ANSELME, C. L. The Importance of Inoculum on Seeds in Relation to Other Sources. In: NASSER, L.C.; WETZEL, M.M.; FERNANDES, J.M. (Ed). **Seed Pathology: international advance course, proceedings**. Brasília: ABRATES, 1987. p. 32-37.

AOKI, T.; O'DONNELL, K.; HOMMA Y.; LATTANZI, A.R. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex - *F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. **Mycologia**. n.95, p.660-684, 2003.

AOKI, T.; O'DONNELL, K.; SCANDIANI, M.M. Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*. and *F. virguliforme*. **Mycoscience**. n.46, p.162-183, 2005.

APROSOJA. **A Soja**. Disponível em: <https://aprosojabrasil.com.br/a-soja/>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2018.

AYRES, M., AYRES Jr, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. A. S. **Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: IDSM, 2007. 364p.

BAHAR, M.; SHAHAB, H. Analysis of Iranian Isolates of *Fusarium solani* using morphological, pathogenicity and microsatellite DNA marker characterization. **African Journal of Biotechnology**. n.11, p.74- 82. 2012.

BALARDIN, C.R.; CELMER, A.F.; COSTA, E.C.; MENEGHETTI, R.C.; BALARDIN, R.S. Possible transmission of *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, causal agent of sudden death syndrome, through soybean seed. **Fitopatologia Brasileira**. n.30, p.574-581, 2005.

BALARDIN, R.S.; SILVA, F.D.L. da; DEBONA, D. DALLA CORTE, G., DALLA FAVERA, D.; TORMEN, N.R. Seed treatment with fungicides and insecticides as reducing the effects of water stress in soybean plants. **Rural Science**, n.4, p.1120-1126, 2011.

BALBINOT JUNIOR, A.A.; HIRAKURI, M.H.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; RIBEIRO, R.H. **Análise da área, produção e produtividade da soja no Brasil em duas décadas (1997-2016)**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 21p.

BANZATO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 247 p.

BÁRBARO, I. M.; BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade. **Infobibos 2008**. Acesso em: fevereiro 2018.

BÁRBARO, I.M.; MACHADO, P.C.; BÁRBARO JUNIOR, L.S., TICELLI, M., MIGUEL, F.B., SILVA, J.A.A. da. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e coinoculação **Colloquium Agrariae**, v.5, n.1, p.1-7, 2009.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum* - plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.

BASSO, S.M.S. Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de *Adesmia* dc. *elotus* L. 1999. 268 f. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) -

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

BEDIN, C.; MENDES, L.B.; TRECENTE, V.C.; LOPES, R.L.B.; BOSQUÊ, G.G. Técnicas disponíveis para o controle da ferrugem asiática na cultura da soja. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, n.12, 2007.

BENAVIDES, P. T.; SALAZAR, J.; DIWEKAR, U. Economic comparison of continuous and batch production of biodiesel using soybean oil. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v.32, p.11-24, 2013.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, v. 23, n.2, p.71-77, 2010.

BERGAMIN FILHO, A. Controle químico versus sustentabilidade na agricultura: o exemplo do *huanglobing* dos citros. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, A.A. da; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, F.A.; JESUS JUNIOR, W.C. **Produtos Fitossanitários (Fungicidas, Inseticidas, Acaricidas e Herbicidas)**. Viçosa: UFV, 2008. p. 1-22.

BERGAMIN FILHO, A.; KITAJIMA, E. W. A História da Fitopatologia. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia Volume I**. 5ª Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. 573 p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds Physiology of Development and Germination*. 3 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BORTOLINI, G.L. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.9, n.17; p.818. 2013.

BOZZOLA, J.J.; YOPP, J.; KRISHANAMANI, M.R.S.; RICHARDSON, J., MYERS, O.; KLUBEK, B. Ultrastructure os sudden death syndrome, a new disease in soybeans. **Proc. Electron Microscope Soc. American**. n.44, p.286-287, 1986.

BRACCINI, A.L. Co-inoculação e Modos de Aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e Adubação Nitrogenada na Nodulação das Plantas e Rendimento da Cultura da Soja. **Scientia Agrararia Paranaensis**, v.15, n.1, p.27-35, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003**. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças e dá outras providências. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/se-mentes-e-mudas/publicacoes-sementes-e>

mudas/LeiN10.711de5deagostode2003. pdf> Acesso em: out. 2019.

BRASILa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

BRASILb. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 200p

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2013, Seção I, p. 14. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/59354731/dou-secao-1-20-09-2013-pg-13>>. Acesso em: out de 2019.

BRASIL. **DECRETO Nº 8.384 DE 29 DE DEZEMBRO DE 2014**. Altera o Anexo ao Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, que aprova o Regulamento da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura. 2014.

BROCH, D.L.; RANNO, S.K. **Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja**. Mato Grosso do Sul: Fundação MS, 2010.

BROUGHTON, W.J.; ZHANG, F.; PERRET, X.; STAEHELIN, C. Signals Exchanged between Legumes and Rhizobium: Agricultural Uses and Perspectives. **Plant and Soil**, v.252, n.1, p.129-137, 2003.

BROUGHTON, W.J.; HANIN, M.; RELIC, B.; KOPCIŃSKA, J.; GOLINOWSKI, W.; SIMSEK, S.; OJANEN-REUHS, T.; REUHS, B.; MARIE, C.; KOBAYASHI, H.; BORDOGNA, B.; LE QUÉRÉ, A.; JABBOURI, S.; FELLAY, R.; PERRET, X.; DEAKIN, W.J. Flavonoid-inducible modifications to rhamnan O antigens are necessary for *Rhizobium* sp. strain NGR234-legume symbioses. **Journal of Bacteriology**, n.188, p.3654–3663. 2006.

CÂMARA, G. M. de S. **Introdução ao Agronegócio Soja**. Piracicaba: USP/ESALQ, 2012.

CAMPBELL, R.; GREAVES, M.P. Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: LYNCH, J. M. **The Rhizosphere**. New York: John Wiley. 1990. p. 11-34.

CARVALHO FILHO, M.R.; MELLO, S.C.M. de; SANTOS, R.P. dos; MENÊZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 226. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M.C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.1, p.28-34, 2011.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.

CASTANHEIRA, E. G.; GRISOLI, R. P. S.; COELHO, S. T.; SILVA, G. A. da; FREIRE, F. Life-cycle assessment of soybean-based biodiesel in Europe: comparing grain, oil and biodiesel import from Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 102, p. 188-201, 2015.

CERTEZA. Iharabras S.A. Indústrias Químicas. Sorocaba: Iharabras S.A. Indústrias Químicas, 2019. **Bula de produto fitossanitário**.

CHINCHOLKAR, S. B.; MUKERJI, K. G. (Ed.) **Biological control of plant diseases**. New York: Haworth Press, 2007. 270p.

CLSI. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Norma M27-A2. **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica**. 2.ed. Pennsylvania: NCCLS; 2002. 51p.

CUNHA, R. P., CORRÊA, M.F.; SCHUCH, L.O.B.; OLIVEIRA, R.C. de; ABREU JUNIOR, J. de S.; SILVA, J.D.G. da; ALMEIDA, T.L. de. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, n.45, p.1761-1767. 2015.

DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA. **Universidade de São Paulo**. Disponível em: <http://eco.ib.usp.br/populacoes_interacoes_print.htm>. Acesso em: novembro 2019.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, n.28, p.871-879, 2001.

DEROSAL PLUS. Bayer S/A. São Paulo: Bayer S/A, 2019. **Bula de produto fitossanitário**.

EDMOND, J.B.; DRAPALA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proc. American Horticultural Science**, v.71,

p.428-434, 1958.

ELIAS, S.G.; COPELAND, L.O.; MCDONALD, M.B.; BAALBAKI, R.Z. **Seed testing principles practices**. East Lansing, MI: Michigan State University Press, 2012. 354p.

EMBRAPA SOJA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 1996-1997. Documentos 97**. Londrina: Embrapa-Soja, 1996. 187p.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. Londrina: Embrapa Soja, Embrapa Cerrados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255 p.

EMBRAPA SOJA. **História da soja**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1/historia>. Acesso em: 22 de dezembro de 2018.

EMBRAPA SOJA. **Soja em Números (safra 2018/2019)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 13 de outubro de 2019.

FARIA, A.Y.K.; ALBUQUERQUE, M.C.de F. e; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. *Revista Brasileira de Sementes*, v.25, n.1, p.121-127, 2003.

FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO. A.L.; NEUMAIER, N. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, 2019. Disponível em: < <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONT000fzr67crj02wx5ok0cpoo6ar6pq9g5.html> >. Acesso em: outubro 2019.

FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. **Doenças da soja no Brasil**. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Circular Técnica n.1. Londrina, 1979.

FERREIRA, E.; NOGUEIRA, M.A.; FUKAMI, J.; GUNDI, J.S.; TERASSI, F.S.; CONCEIÇÃO, R.; HUNGRIA, M. **Recuperação e sobrevivência de *Bradyrhizobium* em sementes de soja tratadas com fungicidas e inseticidas**. Londrina: Embrapa Soja, 2013.

FRANÇA-NETO, J. DE B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PÁDUA, G.P. de; LORINI, I.; HENNING, F.A. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. **Documentos, 380**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p. Londrina: Embrapa Soja, 2016.

FREITAS, T.M. de Q.; MENEGHETTI, R.C.; BALARDIN. R.S. Dano devido à podridão vermelha da raiz na cultura da soja. **Ciência Rural**. v. 34, n. 4, p. 991-996, 2004.

FUKAMI J.; OLLERO F.J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express** n.7, 153, 2017.

GÁSPERI, A. C.; PRESTES, A. M.; COSTAMILAN, L. M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f.sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.544-547, 2003.

GERAHTY, N.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; JOSHI, P.A.; GRESSHOFF, P.M. Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. **Plant Science**, n.85, p.1-7, 1992.

GITTI, D. de C. Inoculação e Coinoculação na cultura da soja. **Tecnologia e Produção: Soja 2014/2015**. Maracaju, MS: Fundação MS, p.15-28, 2015.

GODOY, C.V; ALMEIDA, A.M.R.; CONSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C.; DIAS, W.P.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A.; YORINORI, J.T.; FERREIRA, L.P.; SILVA, J.F.V. Doenças da Soja. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5 ed., Volume 2.Ouro Fino: Ceres, 2016.

GÖRGEN, C.A.; SILVEIRA NETO, A.N. da; CARNEIRO, L.C.; RAGAGNIN, V.A.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1583-1590, 2009.

GOULART, A.C.P. Hora de tratar. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. n.135. p.22-25, 2010.

GOULD, A. B. Fungos Fitopatogênicos e Oomicetos. In: In: TRIGIANO, R.N.; WINDHAM, M.T.; WINDHAM, A.S. **Fitopatologia conceitos e exercícios de laboratório**. 2ª ed. Porto alegre: Artmed, 2010. p.103-120.

GRIGOLLI, J. F. J. **Manejo de Doenças na Cultura da Soja**. Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014. Fundação MT: Rondonópolis, 2014.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84, n.4, p.376-393, 2000.

HARMAN, G.E.; Petzoldt, R.; Comis, A.; Chen, J.; Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v.94, n.2, p.147-53, 2004.

HENNING. A.A.; ALMEIDA, A.M.R.; GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; YORINORI, J.T.;

CONSTAMILAN, L.M.; FERREIRA, L.P.; MEYER, M.C.; SOARES, R.M. DIAS, W.P. Manual de identificação de doenças da soja. **Documentos 256**. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

HENNING, A.A. Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais. **Documentos 264**. 2ª Ed. Londrina: Embrapa Soja, 2004.

HENNING, A.A.; FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; LORINI, I. **Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La Niña”**. Londrina: Embrapa Soja. 2010.

HIDALGO, M.G. Diversidad de genes bacterianos relacionados con promoción del crecimiento vegetal. Universitat Oberta de Catalunya. **Dissertação de Mestrado** (Máster de Bioinformática y Bioestadística Microbiología, biotecnología y biología molecular). 2018.

HIRREL, M.C. Sudden death syndrome of soybean: new insights into its development. **American Seed Trade Association**. 16 th Souybean Res. Conference. n.16, p.95-104. 1987.

HIRSCH, A.M. Role of lectins and rhizobial exopolysaccharides in legume nodulation. *Curr. Opin. Plant Biology*, n.2, p.320-326, 1999.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. **Circular Técnica 13**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. **Documentos n. 283**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, 2007. 80p.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Documentos, 325**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38p.

IKEDA F.S. Resistência de plantas daninhas em soja resistente ao glifosato. **Informe Agropecuário**, v.34, n.276, 2013.

JAFFEE, S.; SRIVASTAVA, J. Seed system development: the appropriate role of the private and public sectors. **World Bank. Discussion Papers, 167**. Washington D.C.: World Bank, 1992. 69p.

KILLEBREW, J.F.; ROY, K.W.; LAWRENCE, G.W.; MCLEAN, K.S.; HODGES, H.H. Greenhouse and field evaluation of *Fusarium solani* pathogenicity to soybean seedlings. **Plant disease**. n.72, p.2067-1070. 1988.

KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas cultivadas**. 3ª ed., Vol. 2, São Paulo: Ceres, 1997. 725p.

KISS, E.; MERGAERT, P.; OLÀH, B.; KERESZT, A.; STAEHELIN, C.; DAVIES, A. E.; DOWNIE, J.A.; KONDOROSI, A.; KONDOROS, E. Conservation of nolR in the *Sinorhizobium* and *Rhizobium* Genera of the *Rhizobiaceae* Family. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. v.11, n.12, p.1186-1195, 1998.

KRZYZANOSWKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999. 218p.

KROHN, N.G.; MALAVASI, M. de M. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com fungicidas durante e após o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.91-97, 2004.

LUCON, C.M.M, 2009. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em: fevereiro de 2018.

LUDWIG, M.P.; LUCCA FILHO, O.A.; BAUDET, L.; DUTRA, L.M.C.; AVELAR, S.A.G.; CRIZEL, R.L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p.395-406, 2011.

MADIGAN, M.T.; MATINKO, J.M.; STAHL, D.A. **Brock biology of microorganisms**. 13 ed. Benjamin Cummings, 2010. 1152p.

MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F. da; ANTONIOLLI, Z.I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n. 26, p.274-288, 2012.

MANGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2; p. 176-177, 1962.

MANTELI, C. **Imagens da condução de experimentos**. Dois Vizinhos-PR. 2019. Fotografia

MANTELI, C.; ROSA, G.M. da; CARNEIRO, L.V.; POSSENTI, J.C.; STEFENI, A.R.; SCHNEIDER, F.L. Inoculação e coinoculação de sementes no desenvolvimento e produtividade da cultura da soja. **Revista Cultivando o Saber**, v.12, n.2, p.111-122, 2019.

MARCOS-FILHO, J. Avaliação da qualidade de sementes de soja. In: **CAMARA, G.**

M. S. (Coord). Soja: Tecnologia da produção. Piracicaba: Publique, p. 206-243, 1998.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MARCOS-FILHO, J. Vigor e Desempenho de Sementes. In: **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MARKS, B.B.; MEGÍAS, M.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. **AMB Express**, n.3, v.21, 2013.

MARKS, B.B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F.J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, n.5, v.71, 2015.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M.A.; CROWLEY, D.E.; GAJARDO, G.; MORA, M.L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of soil science and plant nutrition**, n.10(3), p. 293-319, 2010.

MASSOLA JÚNIOR, N.S. Fungos Fitopatogênicos. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia Volume I**. 5ª Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p.107-141.

MAXIM XL. **Syngenta Proteção de Cultivos Ltda**. São Paulo: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, 2019. Bula de produto fitossanitário.

MAZARO, S.M. **Sintoma deolha carijó em soja**. Dois Vizinhos-PR. 2019, fotografia.

McFARLAND, M.D.J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. Philadelphia. **JAMA**. n.XLIX, v.14, p.1176-1178, 1907.

MCNEW, G.L. The nature, origin and evolution of parasitism. In: Horsfall, J.G., Dimond, A. E. Eds. **Plant Pathology**, Academic Press, v.2, p.2-66, 1960.

MERTZI, L.M.; HENNING, F.A.; ZIMMER, P.D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.13-18, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28** projeções de longo prazo. Brasília:

MAPA/ACE, 2018. 112p.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S. e Azevedo, J.L. (Ed.). **Controle Biológico**, v.1. Jaguariúna: Embrapa, p.17-60, 1998.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo**. Brasília: MAPA/ACE, 2018. 112 p.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, p.74-99, 2010.

MOSTAJERAN, A., AMOOAGHAIE, R., EMTIAZI, G. The participation of the cell wall hydrolytic enzymes in the initial colonization of *Azospirillum brasilense* on wheat roots. **Plant Soil**, n.291, p.239-248, 2007.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no crescimento de plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

NASSER, L. C. B.; ANJOS, J. R. N. dos; PERES, J. R. R.; MEDEIROS, A. C. de S.; SPEHAR, C. R.; URBEN FILHO, G.; SOUZA, P. I. de M. de. Fungicidas para tratamento de sementes de soja (*Glycine max*). **Comunicado técnico n. 40**. Londrina: Embrapa Soja, 1984.

NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; LIMA, A.S. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n.28, p.269-279, 2004.

NUNES, J. C. da S. Tratamento de sementes de soja como um processo industrial no Brasil. **Seed News**. Ano XX. n. 1. 2016.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1591-1601, 1994.

OLIVEIRA, A.C.B. de; ROSA, A.P.S.A. da. Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, Safras 2013/2014 e 2014/2015. In: **XL Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014.

PARDINHO, J.P.; PRIMIERI, C. Produtividade da soja em relação à inoculação e co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Revista Cultivando o Saber**. Edição

Especial, p.109-114, 2015.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; ROSA, M.C.M.; OLIVEIRA, G.E.; COSTA NETO, J. Tratamento fungicida de sementes de soja inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. **Ciência Rural**, v.39, n.9, p.2390-2395, 2009.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.M.; BOTELHO, F.J.E. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com *Bradyrhizobium*. **Agro@ambiente On-line**, v.4, p.62-66, 2010.

PERRET X.; STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W.J. Molecular Basis of Symbiotic Promiscuity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. n.64, p.180-201, 2000.

RAMPIM, L; LIMA, P.R.; HERZOG, N.F.M; ABUCARMA, V.M.; MEINERS, C.C.; LANA, M. do C.; MALAVASI, M. de M.; MALAVASI, U. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja comercial e salva. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.15, n.4, p.476-486, 2016.

REIS, E.F. dos; PELISSARI, A.; MORAES, A. de; OLIVEIRA, E.B. de; RUARO, L. Podridão vermelha da raiz da soja em cultivos com diferentes sistemas de manejo e coberturas do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 528-533, 2012.

REIS, E.M.; C.A. FORCELINI; A.C. REIS. **Manual de Fungicidas**. 4ª. Florianópolis: Insular, 2001. 176 p.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; CARMONA, M.A. **Manual de fungicidas: um guia para o controle químico racional de doenças em plantas**. 8. ed. Passo Fundo: Berthier, 2019, 264p.

RIBAS, P.P; MATSUMURA, A.T. dos S.; VAN DER SAND, S.T. Caracterização de isolados de *Trichoderma* e seu potencial para o controle biológico de patógenos do feijoeiro *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária GAÚCHA**, v. 20, n.1/2, p.97-104, 2014.

RIGO, A.A.; DAHMER, A.M.; STEFFENS, C.; STEFFENS, J. Characterization of soybean cultivars genetically improved for human consumption. **International Journal of Food Engineering**, v.1, n.1, 2015.

ROCHA, M. R. da; COSTA, G.O.; FILHO, N.A.P.; AZEVEDO, L.A.S. Eficiência de fungicidas para o tratamento de sementes de soja. In: **REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 19**, 1997. Jaboticabal, SP. Ata e resumos. Jaboticabal: UNESP. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1997. 220 p.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de doenças de plantas – procedimentos**. Viçosa: Editora UFV, 172 p. 2007.

ROOS, E.E.; MOORE III, F.D. Effect of seed coating n performance of lettuce seeds in greenhouse soil tests. **Journal American Society Horticultural Science**, v.98, n.6, p.573-576, 1975.

ROSSET, J.S.; COELHO, G.F.; GRECO, M.; STREY, L.; GONÇALVES JUNIOR, A.C. Agricultura convencional versus sistemas agroecológicos: modelos, impactos, avaliação da qualidade e perspectivas. **Scientia Agraria Paranaensis**. v.13, n.2, p.80-94, 2014.

ROY, K.W., LAWRENCE, G.W., HODGES, H.H., MCLEAN, K.S. & KILLEBREW, J.F. Sudden death syndrome of soybean: *Fusarium solani* as incitant and relation of *Heterodera glycines* to disease severity. **Phytopathology**. n.79, p.191-197. 1989.

ROY, K.W.; HERSHMAN, D.E.; RUPE, J.C.; ABNEY, T.S. Sudden death syndrome of soybean. **Plant Disease**, n.1, v. 81, n. 10, p.1100-1111. 1997.

RU, Z.; DI, W. *Trichoderma* spp. from rhizosphere soil and their antagonism against *Fusarium sambucinum*. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.18, p.4180-4186, 2012.

RUPE, J.C. Frequency and pathogenicity of *Fusarium solani* recovered from soybeans with sudden death syndrome. **Plant Disiase**. n.73, p.581-584, 1989.

SALVADORI, J.R.; BACALTCHUK, B.; DEUNER, C.C.; LAMAS JÚNIOR, G.L.C.; RIZZARDI, M.A.; LANGARO, N.C.; ESCOSTEGUY, P.A.V.; BOLLER, W. **Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, safras 2016/2017 e 2017/2018**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2016.

SANKARI, J.U.; DINAKAR S.; SEKAR, C. Dual effect of *Azospirillum* exopolysaccharides (EPS) on the enhancement of plant growth and biocontrol of blast (*Pyricularia oryzae*) disease in upland rice (var. ASD-19). **Journal Phytopatology**, n.3, p.16-19, 2011.

SANTOS, L.A.; REIS, V.M. **A formação do nódulo em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 14 p.

SCHERM, H.; YANG, X.B. Development os sudden death syndrome of soybean in relation to soil temperature and soil water matric potencial. **Phytopathology**. v.86, n. 6, p.642-649, 1996.

SEMPERE, F; SANTAMARINA, M.P. Antagonistic interactions between fungal rice pathogen *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg and *Trichoderma harzianum* Rifai. **Annuary Microbiology**, v.59, n.2, p.259-266, 2009.

SFREDO, G.J.; OLIVEIRA, M.C.N. de. Soja: molibdênio e cobalto. **Documento 322**.

Londrina: Embrapa Soja, 2010.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: **World Congress on Computers in Agriculture 7**, Reno- NV- USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics. Raleigh**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SMIT, G., KIJNE, J.W., LUGTENBERG, B.J.J. Roles of flagella, lipopolysaccharide, and a Ca⁺² dependent cell surface protein in attachment of *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae to pea root hair tips. **Journal of Bacteriology**, n.171, p.569-572. 1989.

SNEH, B. E.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. **Phytoparasitica**, n.26, p.27-38, 1998.

SNYDER, W. C.; HANSEN, H. N. The species concept in *Fusarium*. **American Journal of Botany**, v. 27, p. 64-67, 1940.

SOARES, R.M.; ARIAS, C.A.A. Seleção de Linhagens de Soja da Embrapa para Resistência a Doenças: Histórico de 2008 a 2014. **Documentos n. 376**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 41 p.

SOARES, R. M. **Árvore do Conhecimento – Soja**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_116_271020069134.html>. Acesso em: novembro de 2019.

SOAVE, J. The Situation of Seed Pathology in Brazil. In: NASSER, L.C.; WETZEL, M.M.; FERNANDES, J.M. (Ed). **Seed Pathology: international advance course**, proceedings. Brasília: ABRATES, 1987. p. 3-11.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. **Methods in Legume-Rhizobium Technology**. Springer-Verlag, New York. 1985, 367p.

STADNIK, M.J.; BETTIOL, W. Controle biológico de oídeos. In: MELO, I.S. AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Controle biológico**. v.3. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p.95-112, 2000.

STANDAK TOP. BASF SA. São Paulo: BASF SA, 2019. **Bula de produto fitossanitário**.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954p.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA – **Região Central do Brasil 2014.** – Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265p.

TOGASHI, I.; GISUSI, S.; HARADA, A. Antifungal activity of commercial disinfectants against a benomyl-tolerant strain of *Trichoderma harzianum*. **Journal Wood Science**, n.44, p.414-416, 1998.

TROPICAL MELHORAMENTO E GENÉTICA S.A. **TMG 7262RR**. Disponível em: <<http://www.tmg.agr.br/ptbr/cultivar/tmg-7262-rr>>. Acesso em: outubro de 2019.

VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de cerrados. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.15, n.3, p.343-347, 1992.

VASCONCELOS, A.C.M.; CASAGRANDE, A.A.; PERECIN, D.; JORGE, L.A.C.; LANDELL, M.G.A. Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n.5, p.849-858, 2003.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 4, p.1- 26.

VIEIRA NETO, S. A.; PIRES, F.R.; MENEZES, C.C.E. de; MENEZES, J.F.S.; SILVA, A.G. da; SILVA, G.P.; ASSIS, R.L. de. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.2, p.861-870, 2008.

WINDHAM, M.T; WINDHAM, A.S. Fitopatologia e perspectivas históricas. In: TRIGIANO, R.N.; WINDHAM, M.T.; WINDHAM, A.S. **Fitopatologia conceitos e exercícios de laboratório**. 2ª ed. Porto alegre: Artmed, 2010. p. 21-29.

YASUDA, M.; ISAWA, T.; MINAMISAWA, K.; SHINOZAKI, S.; NAKASHITA, H. Effects of colonization of a bacterial endophyte, *Azospirillum* sp B510 on disease resistance in rice. **Bioscic Biotechnol Biochem**, v.73, n.12, p.2595-2599, 2009.

YORINORI, J.T.; NOMURA, S.L. Cultivares de soja resistentes à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani*. **Fitopatologia Brasileira**. n.19, p.339, 1994.

YORINORI, J.T. Podridão vermelha da raiz da soja (SDS) (*Fusarium solani* f. sp. *glycines*) no Brasil e sua importância econômica. **Fitopatologia Brasileira**. v.23, p.298-299, 1998.

ZAMBOLIN, L.; VENANCIO, W.S.; OLIVEIRA, S.H.F. de. **Manejo da resistência de fungos a fungicidas**. Viçosa: UFV, 2007. 168p.

ZAMBOLIN, L.; JESUS JÚNIOR, W.C. O essencial dos fungicidas empregados no controle de doenças- parte básica. In: ZAMBOLIM, L.; PIKANÇO, M.C.; SILVA, A.A. da; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, F.A.; JESUS JUNIOR, W.C. **Produtos Fitossanitários (Fungicidas, Inseticidas, Acaricidas e Herbicidas)**. Viçosa: UFV, p. 77-145, 2008.

ZILLI, J. E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, n.4, p.541-544, 2008.

ZIVANOV, S.T.; LALOSEVIC, M.; JEVTIC, R. Impact of *Trichoderma* spp. on Soybean Seed Germination and Potential Antagonistic Effect on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesticides and Phytomedicine**, v.28, n.3, p.181-185, 2013.