

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

MARCIÉLI DA SILVA

**COMPATIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS NO  
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS DE SOLO E DESEMPENHO DE  
SEMENTES DE SOJA**

TESE

PATO BRANCO

2020

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MARCIÉLI DA SILVA**

**COMPATIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS NO CONTROLE  
DE FITOPATÓGENOS DE SOLO E DESEMPENHO DE SEMENTES DE SOJA**

**TESE**

**PATO BRANCO  
2020**

MARCIÉLI DA SILVA

**Compatibilidade e eficiência de produtos biológicos no controle de fitopatógenos de solo e desempenho de sementes de soja**

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

Orientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti  
Coorientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaró  
Coorientador (a): Prof. Dra. Anelise Tessari Perboni

PATO BRANCO  
2020

## Ficha catalográfica

S586c Silva, Marciéli da.  
Compatibilidade e eficiência de produtos biológicos no controle fitopatogênicos de solo e desempenho de sementes de soja / Marciéli da Silva. -- 2020.  
182 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti  
Coorientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaró  
Coorientadora: Profa. Dra. Anelise Tessari Perboni  
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2020.  
Inclui bibliografia

1. Pragas agrícolas – Controle biológico. 2. Bacillus subtilis. 3. Trichoderma harzianum. 4. Soja. I. Possenti, Jean Carlo, orient. II. Mazaró, Sergio Miguel, coorient. III. Perboni, Anelise Tessari, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDD (22. ed.) 630

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



## **TERMO DE APROVAÇÃO DE TESE N° 66**

A Tese de Doutorado intitulada “Compatibilidade e eficiência de produtos biológicos no controle de fitopatógenos de solo e desempenho de sementes de soja” defendida em sessão pública pela candidata **Marciéli da Silva**, no dia 07 de julho de 2020, foi julgada para a obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitotecnia, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA:

<b>Dr. Francisco Amaral Villela - UFPEL/Pelotas</b>
---

<b>Dr. Geri Eduardo Meneghello - UFPEL/Pelotas</b>
--

<b>Dra. Cristiane Deuner - UTFPR/Pato Branco</b>
--

<b>Dra. Deborah Catharine De Assis Leite - UTFPR/Dois Vizinhos</b>
--

<b>Dr. Jean Carlo Possenti - UTFPR/Dois Vizinhos</b>
--

Este Termo de Aprovação encontra-se na pasta do aluno na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação realizada após a entrega da versão final, incluindo correções necessárias, permitindo o encaminhamento para análise e publicação no Repositório Institucional.

Assinado eletronicamente por

**PROF. DR. ALCIR JOSÉ MODOLO**  
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Agronomia

## **Dedicatória**

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, por toda força, coragem e fé que me concedeu;

Ao ensino público e a Fundação Capes, que nos permitem alcançar nossos objetivos e incentivam a educação de qualidade em nosso país;

Aos meus pais, meu esposo, meus amigos e colegas, que estiveram comigo ao longo desta jornada e também aos meus orientadores e demais professores que contribuíram para minha formação.

## **Agradecimentos**

Com o passar desses três anos de doutorado, muitas pessoas estiveram presentes e colaboraram para execução deste estudo, não há palavras suficientes para explicar o quão importante foi cada uma delas para que ocorresse a concretização do mesmo. Desta forma, entende-se o valor da parceria, da amizade, do apoio e do amor compartilhado pela pesquisa.

Inicialmente quero agradecer a Deus que nunca permitiu a desistência e sempre mostrou um novo caminho, uma nova oportunidade e maneiras para seguir, com fé, perseverança, dedicação e sabedoria.

Ainda não poderia faltar o agradecimento aos pais Edite da Silva e Antônio Lourenço da Silva, que apesar das dificuldades sempre incentivaram o estudo e sempre fizeram parte da caminhada. Nestas palavras também agradeço meu conjugue Cassio Fernando Foquesatto que esteve comigo todo esse tempo me apoiando, ajudando e incentivando, passou noites, sábados e domingos auxiliando nos trabalhos em laboratório e em casa.

Agradeço meus orientadores professor Dr. Jean Carlo Possenti e professor Dr. Sergio Miguel Mazaro que me acolheram e de imediato abriram as portas de seus grupos de pesquisa para que eu pudesse fazer parte. Além disso, sempre estiveram ao meu lado ao longo dessa pesquisa, e a abraçaram assim como eu e acreditaram que tudo daria certo. Assim, também agradeço minha co-orientadora professora Dra. Anelise Tessari Perboni por todas as conversas, correções e aprendizado.

Neste contexto, agradeço todos os professores que me orientaram desde a graduação professora Dra. Michele Potrich, professor Dr. Alfredo de Gouvea e professor Dr. Américo Wagner Júnior, pois fizeram parte de minha caminhada e contribuíram muito para minha formação.

Agradeço todos os professores, mestres e doutores que trazem o ensino até nós, nos ensinam a amar a pesquisa e a profissão, e contribuem para que a educação do país seja sempre melhor.

Agora lembro de todo o trabalho, juntar o quebra-cabeça e definir os tratamentos, repicar fungos, verter meio de cultura, todas as 3.000 Placas de Petri,

autoclavagem de placas e produtos, os 416 rolinhos de germinação e envelhecimento acelerado, as 208 linhas de emergência a campo repetidas duas vezes, todas as avaliações e muitas outras tarefas executadas ao longo dessa pesquisa. Seria impossível realizar sozinha, logo tive ajuda de pessoas incríveis, dedicadas e sabias que sempre estiveram me ajudando Thayllane de Campos Siega e Maikely Luana Feliceti, minhas colegas, ajudantes, companheiras de mate e amigas para a vida. Não tenho palavras que definam minha gratidão a todo o tempo que dedicaram a mim e ao trabalho, muito obrigada.

Além disso, temos os autointitulados “escravinhos da Marci”, Luana Carolini Tozetto, Ilana Niqueli Talino dos Santos, Renan Quisini, Andrei Regis Sulzbach, Giorgia Fabiani Lucini e Gustavo Rogerio e Silva fizeram parte de muitos dos trabalhos realizados no Laboratório Didático de Análise de Sementes e sempre estiveram a disposição para auxiliar e ajudar em novos estudos.

Agradeço aos demais colegas e amigos que estavam presentes auxiliando de uma forma ou outra Cristiane Deuner, Maira Schuster, Stheffani Lucca dos Santos, Claudia Manteli, Claudia Barberieri, Lilian de Souza Vismara, Edson Bertoldo e Cleiton Nicareta.

Agradeço a Capes pelo auxílio financeiro e também ao Brasil por nos proporcionar educação de qualidade e gratuita.

Agradeço a Coopertradição pelo fornecimento das sementes utilizadas para elaboração do trabalho.

Agradeço a Embrapa, em especial a pesquisadora Claudine Dinali Santos Seixas, pelo atendimento ao nosso pedido, fornecendo as cepas de fungos fitopatogênicos utilizados no estudo.

Agradeço a empresa **Ballagro Agro Tecnologia Ltda e Microquímica** pela doação dos produtos utilizados na pesquisa.

Muito obrigada a todos.



## Epígrafe

*“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável”.*

Galileu Galilei

*“Todo grande progresso da ciência resultou de uma nova audácia da imaginação”.*

John Dewey

*“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas”.*

Carl Sagan

*“As letras e a ciência só tomarão o seu verdadeiro lugar na obra do desenvolvimento humano no dia em que, livres de toda a servidão mercenária, forem exclusivamente cultivadas pelos que as amam e para os que as amam”.*

Piotr Kropotkin

## RESUMO

SILVA, Marciéli. Compatibilidade e eficiência de produtos biológicos no controle de fitopatógenos de solo e desempenho de sementes de soja. 182 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2020.

A aplicação de produtos fitossanitários tem como finalidade permitir a germinação de sementes infectadas com patógenos, controlar patógenos transmitidos pela semente e proteger as sementes dos fungos do solo. O objetivo do trabalho foi estudar a compatibilidade e eficiência de produtos biológicos no controle de fitopatógenos de solo e desempenho de sementes de soja. O mesmo foi conduzido nos Laboratórios de Fitossanidade e de Análises de Sementes e em casa de vegetação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus Dois Vizinhos* – PR, utilizando sementes da cultivar NS 6700 IPRO. Para todos os estudos foram testados, seguindo recomendação comercial, os produtos biológicos a base de *Trichoderma harzianum*; *Paecilomyces lilacinus*; *Bacillus subtilis*; *Azospirillum brasiliense* e *Bradyrhizobium japonicum*, também a combinação dos mesmos. O primeiro estudo foi realizado testando-se a compatibilidade dos produtos biológicos com os principais ingredientes ativos utilizados nos tratamentos de sementes disponíveis no mercado, este foi realizado através da aplicação de duas metodologias a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e com a utilização de sementes tratadas e dispostas em meio meio de cultura. O segundo estudo foi para verificar a eficiência de agentes de biocontrole, sobre os fungos de solo *Fusarium crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *Rizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Phomopsis longicolla*. Para isso, utilizou-se de duas metodologias ambas in vitro, sendo o método adaptado do círculo e a metodologia do confronto direto. O terceiro experimento foi para verificar os atributos de qualidade de sementes e desenvolvimento da cultura da soja de acordo com o tratamento de sementes com estes biológicos. O quarto experimento foi realizado em casa de vegetação, submetendo sementes tratadas com os produtos biológicos a solos contaminados com os patógenos, a fim de verificar a eficiência dos tratamentos na supressão de sintomas. Os dados foram tabulados sendo algumas variáveis qualitativas e as demais submetidos ao Teste de Normalidade de Lilliefors e à ANOVA pelo teste de análise de variância ( $p=0,05$ ) e ao teste de Tukey ou Scott-Knott ( $p=0,05$ ), com auxílio do software Genes<sup>®</sup>. Verificou-se que alguns produtos químicos utilizados para o tratamento das sementes podem interferir a eficiência dos agentes biológicos e que estes possuem potencial de controle dos fitopatógenos. Existem especificidades que devem ser consideradas, quanto a associação dos agentes biológicos e o alvo fitopatológico. Observou ainda, que não existe interferência no desempenho agrônômico de sementes de soja tratadas com produtos biológicos.

**Palavras-chave:** Controle biológico, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Glycine max*.

## ABSTRACT

SILVA, Marciéli. Compatibility and efficiency of biological products in the control of soil phytopathogens and soybean seed performance. 182 f. Thesis (Doctorate in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Plant Production), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2020.

The application of phytosanitary products aims to allow the germination of seeds infected with pathogens, to control pathogens transmitted by the seed and to protect the seeds from soil fungi. The objective of the work was to study the compatibility and efficiency of biological products in the control of soil phytopathogens and soybean seed performance. The same was carried out in the Phytosanitary and Seed Analysis Laboratories and in a greenhouse at the Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Dois Vizinhos – PR, using seeds from cultivar NS 6700 IPRO. For all studies, biological products based on *Trichoderma harzianum* were tested, following commercial recommendation; *Paecilomyces lilacinus*; *Bacillus subtilis*; *Azospirillum brasiliense* and *Bradyrhizobium japonicum*, also their combination. The first study was carried out by testing the compatibility of biological products with the main active ingredients used in seed treatments available on the market, this was carried out through the application of two methodologies the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and with the use of treated seeds and disposed in a medium of culture. The second study was to verify the efficiency of biocontrol agents, on the soil fungi *Fusarium crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *Rizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phomopsis longicolla*. For this, two methodologies were used both *in vitro*, the method being adapted from the circle and the methodology of direct confrontation. The third experiment was to verify the attributes of seed quality and development of soybean culture according to the treatment of seeds with these biologicals. The fourth experiment was carried out in a greenhouse, subjecting seeds treated with biological products to soils contaminated with pathogens, in order to verify the efficiency of treatments in suppressing symptoms. The data were tabulated with some qualitative variables and the others submitted to the Lilliefors Normality Test and to ANOVA by the analysis of variance test ( $p = 0.05$ ) and the Tukey or Scott-Knott test ( $p = 0.05$ ). It was found that some chemicals used for seed treatment can interfere with the efficiency of biological agents and that they have potential to control phytopathogens. There are specificities that must be considered, regarding the association of biological agents and the phytopathological target. He also observed that there is no interference in the agronomic performance of soybean seeds treated with biological products.

**Key words:** Biological control, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Glycine max*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microplaca estéril de 96 poços, com microdiluições de tratamentos químicos de sementes. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	45
Figura 2 – Spot test adaptado utilizado para revelar o resultado obtido com a microdiluição seriada. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	46
<b>Figura 3</b> - Crescimento de <i>Trichoderma harzianum</i> (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	48
Figura 4 - Crescimento de <i>Paecilomyces lilacinus</i> (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	49
Figura 5 - Crescimento de <i>Bacillus subtilis</i> (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	49
Figura 6 - Crescimento de <i>Azospirillum brasiliense</i> (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	50
Figura 7 - Crescimento de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	50
Figura 8- Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico <i>Trichoderma harzianum</i> . UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	53
Figura 9 - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico <i>Paecilomyces lilacinus</i> . UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	55
Figura 10 - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico <i>Bacillus subtilis</i> . UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	57
Figura 11 - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico <i>Azospirillum brasiliense</i> . UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	59
Figura 12 - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico <i>Bradyrhizobium japonicum</i> . UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	61
Figura 13 – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>F. crassistipitatum</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	70

Figura 14 - Crescimento micelial de <i>F. crassistipitatum</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72, 96, 120, 144 e 168 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	73
Figura 15 - Crescimento micelial de <i>F. crassistipitatum</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	75
Figura 16 – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>F. tucumaniae</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	76
Figura 17 - Crescimento micelial de <i>F. tucumaniae</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	79
Figura 18 - Crescimento micelial de <i>F. tucumaniae</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	81
Figura 19 - Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>R. solani</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	83
Figura 20 - Crescimento micelial de <i>R. solani</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	86
Figura 21 - Crescimento micelial de <i>R. solani</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	88
Figura 22 – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>M. phaseolina</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	90
Figura 23 - Crescimento micelial de <i>M. phaseolina</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	93
Figura 24 - Crescimento micelial de <i>M. phaseolina</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	95
Figura 25 - Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>S. sclerotiorum</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	96

Figura 26 - Crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	99
Figura 27 - Crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020. ....	101
Figura 28 – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de <i>P. longicolla</i> em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	103
Figura 29 - Crescimento micelial de <i>P. longicolla</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	106
Figura 30 - Crescimento micelial de <i>P. longicolla</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes de biológico. UTFPR, <i>Campus Pato Branco</i> , 2020.....	108

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos químicos utilizados no tratamento de sementes de soja de acordo com a dose recomendada pelo fabricante. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	43
Tabela 2 - Produtos comerciais à base de agente biológico e dose utilizada. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	43
Tabela 3 – Porcentagem de crescimento de <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Azospirillum brasiliense</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i> em sementes submetidas a tratamentos químicos de forma em separado. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	48
Tabela 4 – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico <i>Trichoderma harzianum</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	53
Tabela 5 – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico <i>Paecilomyces lilacinus</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	55
Tabela 6 – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico <i>Bacillus subtilis</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	56
Tabela 7 – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico <i>Azospirillum brasiliense</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	59
Tabela 8 – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico <i>Bradyrhizobium japonicum</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	61
Tabela 9 – Produtos e doses utilizados no trabalho in vitro para controle dos fungos <i>Fusarium tucumaniae</i> (CMES 25), <i>Fusarium crassistipitatum</i> (CMES 24), <i>Rizoctonia solani</i> (CMES 1861), <i>Macrophomina phaseolina</i> (CMES 1574), <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (CMES 2131) e <i>Phomopsis longicolla</i> (CMES 1582). UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	67

Tabela 10 – Equação, ponto de máxima (P. máx.) (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de <i>F. crassistipitatum</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	72
Tabela 11 - Média do crescimento micelial final de <i>F. crassistipitatum</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	74
Tabela 12 – Equação, ponto de máxima (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de <i>F. tucumaniae</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	78
Tabela 13 - Média do crescimento micelial final de <i>F. tucumaniae</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. .	80
Tabela 14 – Equação, ponto de máxima (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de <i>R. solani</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	85
Tabela 15 - Média do crescimento micelial final de <i>R. solani</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. .	87
Tabela 16 – Equação, ponto de máxima (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de <i>M. phaseolina</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	92
Tabela 17 - Média do crescimento micelial final de <i>M. phaseolina</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. .	94
Tabela 18 – Equação, ponto de máxima (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado, referentes ao crescimento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	98
Tabela 19 - Média do crescimento micelial final de <i>S. sclerotiorum</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	100
Tabela 20 – Equação, ponto de máxima (x e y) e R <sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de <i>P. longicolla</i> . UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	105
Tabela 21 - Média do crescimento micelial final de <i>P. longicolla</i> (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	107
Tabela 22 – Peso de mil sementes, grau de umidade e porcentagem de germinação da cultivar NS 6700 IPRO. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	116
Tabela 23 - Produtos e doses utilizados no tratamento de sementes para avaliação dos atributos de qualidade de sementes de soja. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	116
Tabela 24 - Comparação de médias das variáveis porcentagem de plântulas normais e anormais do teste de germinação e envelhecimento acelerado em experimento com 26 tratamentos biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020. ....	120



Tabela 25 - Comparação de médias da variável das variáveis porcentagem de emergência, comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), com 26 tratamentos biológicos. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	122
Tabela 26 – Transformações utilizadas para as variáveis emergência final (%), comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas (%). UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	130
Tabela 27 - Comparação de médias da variável sintomas (%) ( <i>F. tucumaniae</i> , <i>R. solani</i> e <i>P. longicolla</i> ). UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	132

## ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Informações de hábito de crescimento, região recomendada, grupo de maturidade relativa, acamamento, fertilidade, cor e doenças referentes a cultivar NS 6700 IPRO. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	115
--	-----

## SUMARIO

1 INTRODUÇÃO .....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	22
2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA .....	23
2.2.1 Podridão vermelha da raiz.....	24
2.2.2 Podridão de carvão .....	25
2.2.3 Podridão radicular de <i>Phomopsis</i> .....	26
2.2.4 Rizoctoniose .....	27
2.2.5 Mofo-branco .....	28
2.3 QUALIDADE DE SEMENTES .....	29
2.4 TRATAMENTO DE SEMENTES .....	31
2.6 CONTROLE BIOLÓGICO .....	32
2.6.1 <i>Trichoderma</i> sp. ....	33
2.6.2 <i>Paecilomyces lilacinus</i> .....	35
2.6.3 Rizobactérias promotoras de crescimento .....	36
2.6.3.1 <i>Bacillus subtilis</i> .....	37
2.6.3.2 <i>Azospirillum</i> sp. ....	38
2.6.3.3 <i>Bradyrhizobium</i> sp.....	39
3 ASSUNTO 1 – COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO CONVENCIONAL DE SEMENTES DE SOJA COM AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO .....	41
3.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 1 .....	41
3.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 1 .....	42
3.2.1 Local de realização .....	42
3.2.2 Ensaio sobre compatibilidade entre os produtos químicos x biológicos no tratamento das sementes de soja .....	42
3.2.3 Ensaio sobre a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 1 .....	47
3.4 CONCLUSÕES SOBRE O ASSUNTO 1 .....	63

4 ASSUNTO 2 – PRODUTOS BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE FUNGOS DE SOLO PATOGÊNICOS A SOJA .....	64
4.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 2.....	64
4.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 2 .....	66
4.2.1 Local de realização .....	66
4.2.2 Patógenos utilizados .....	66
4.2.3 Tratamentos .....	66
4.2.4 Método do circulo adaptado .....	68
4.2.5 Teste de pareamento direto .....	69
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 2.....	70
4.4 CONCLUSÕES SOBRE O ASSUNTO 2.....	111
5 ASSUNTO 3 – ATRIBUTOS DE QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA SUBMETIDAS A TRATAMENTOS BIOLÓGICOS .....	112
5.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 3.....	112
5.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 3 .....	114
5.2.1 Local de realização .....	114
5.2.3 Avaliação dos atributos de qualidade de sementes de soja .....	116
5.2.3.1 Percentagem de germinação .....	117
5.2.3.2 Emergência Das Plântulas Em Campo (EC) .....	118
5.2.3.3 Índice De Velocidade De Emergência (IVE).....	118
5.2.3.4 Tempo médio de emergência (TME).....	118
5.2.3.5 Comprimento De Plântulas.....	118
5.2.4 Análise Estatística .....	119
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 3.....	119
5.4 CONCLUSÃO ASSUNTO 3 .....	126
6 ASSUNTO 4 – AGENTES BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA PARA O CONTROLE DE FUNGOS DE SOLO .....	127
6.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 4 .....	128
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	136
REFERENCIAS.....	137
APÊNDICE .....	175

Apêndice A – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis Sementes com <i>T. harzianum</i> (%), Sementes com <i>P. lilacinus</i> (%), Sementes com <i>B. subtilis</i> (%), Sementes com <i>A. brasiliense</i> (%), Sementes com <i>B. japonicum</i> (%). UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	176
Apêndice B – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis <i>F. crassistipitatum</i> , <i>F. tucumaniae</i> , <i>R. solani</i> , <i>M. phaseolina</i> , <i>S. sclerotiorum</i> e <i>P. longicolla</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 e 96 horas), conduzido no delineamento inteiramente casualizado. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	176
Apêndice C – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis de crescimento micelial final: <i>F. crassistipitatum</i> , <i>F. tucumaniae</i> , <i>R. solani</i> , <i>M. phaseolina</i> , <i>S. sclerotiorum</i> e <i>P. longicolla</i> em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25 e T26), conduzido no delineamento inteiramente casualizado. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	177
Apêndice D - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis porcentagem de plântulas normais, anormais e mortas da germinação, porcentagem de emergência a campo, índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), comprimento de plântulas número de plântulas normais, comprimento total e comprimento de raiz. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020.....	178
Apêndice E - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos <i>F. tucumaniae</i> e <i>R. solani</i> , respectivamente. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	179
Apêndice F - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos <i>M. phaseolina</i> e <i>S. sclerotiorum</i> , respectivamente. UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	180
Apêndice G - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos <i>P. longicolla</i> . UTFPR, <i>Campus</i> Pato Branco, 2020. ....	180

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max*) é de grande importância na economia mundial, com aumento gradativo no seu consumo em consequência do crescimento da população, visto que o grão é o principal componente para fabricação de ração animal e na alimentação humana (HIRAKURI; LAZAROTTO, 2011; SEAB, 2013).

O segundo maior produtor e exportador mundial do grão é o Brasil, com área cultivada de aproximadamente 36.843,5 milhões de hectares e produção de 120,3 milhões de toneladas de grãos na safra 2019/2020 (CONAB, 2020).

O aumento da produção e consequentemente das áreas de plantio, aliados ao monocultivo da soja, favoreceu em grande escala o aumento na incidência de pragas e doenças, pois para a introdução do ecossistema agrícola ocorre a retirada da vegetação natural, causando significativas mudanças na estrutura microbiana do solo. Desta forma, acredita-se que as funções ecológicas sejam prejudicadas devido à redução da diversidade de plantas e microbiota do solo, bem como, pelo uso acentuado de insumos químicos em larga escala (MASSENSINI et al., 2015). Surgem então, frequentes populações de microrganismos com alta densidade populacional que com o tempo tornam-se patogênicos às culturas de interesse (VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2015).

O maior grupo de patógenos radiculares é constituído pelos fungos, os quais ocorrem em todos os sistemas agrícolas e são causadores de doenças nas principais espécies cultivadas. Muitos destes são saprófitos, ou seja, podem viver em restos culturais de plantas introduzidas, mesmo em períodos longos de rotação de culturas. Outros produzem estruturas do tipo agregados miceliais, esclerócios, oósporos, clamidosporos ou outros, capazes de resistir a adversas condições ambientais e continuarem viáveis mesmo sem a planta hospedeira. Estas características evidenciam o quão árduo é a eliminação total de fungos fitopatogênicos habitantes do solo em áreas infectadas (WHEELER; RUSH, 2001) e a quão altos podem ser os prejuízos causados por estes fitopatógenos devido a drástica redução no rendimento de inúmeras culturas (VAN BRUGGEN; FINCKH, 2016).

A cultura da soja é acometida por muitas doenças causadas por fungos de solo e entre estas é possível citar: Podridão Vermelha da Raiz (PVR) ou Síndrome da Morte Súbita (SMS) (complexo *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.) (AOKI; O'DONNELL; SCANDIANI, 2005); mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) (GARCIA; JULIATTI, 2012); podridão de carvão (*Macrophomina phaseolina*) (ALMEIDA et al., 2014); seca da haste e da vagem (*Phomopsis* spp.); podridão radicular de *Phytophthora* (*Phytophthora sojae*) e mela ou requeima (*Rhizoctonia solani*) (HENNING et al., 2014). As mesmas podem atacar durante todas as fases da cultura, reduzindo significativamente a produtividade dessa cultura, limitando a lucratividade e a sustentabilidade da propriedade rural (GARCIA; JULIATTI, 2012).

Na safra de 1991/1992 o tratamento de sementes de soja com fungicidas não atingia 5% da área semeada. Com o passar dos anos, se tornou uma prática muito utilizada pelos sojicultores, alcançando estimativas de 95% de adoção (HENNING et al., 2010). Contudo, o uso destes produtos de forma errônea pode ocasionar fitotoxicidade às sementes e às plântulas, impacto ambiental, pelo excesso de produtos empregados e o aumento da pressão de seleção de patógenos resistentes a moléculas de fungicidas, reduzindo sua eficiência (REIS; CASA; MEDEIROS, 2001).

Entretanto, o emprego de métodos alternativos que garantam a rentabilidade da atividade do produtor e que auxiliem na diminuição do uso de produtos químicos que podem causar riscos à saúde humana e ambiental, se torna alternativa muito viável em meio ao cenário descrito (BONETT et al., 2013).

Dentre estes métodos, destaca-se o uso de produtos de origem biológica capazes de controlar patógenos da cultura, auxiliar no crescimento e desenvolvimento de plântulas e na disponibilidade de nutrientes.

Os fungos do gênero *Trichoderma* se encontram na rizosfera das plantas, possuem alta capacidade de colonização das raízes, são resistentes e controladores naturais de microrganismos fitopatógenos (MACHADO et al., 2012).

O *Paecilomyces lilacinus* está sendo difundido como agente de controle biológico por ser parasita de nematoides de galha e de fungos patogênicos de plantas (MONFORT et al., 2005). Além disso, promove o crescimento das culturas e altera as populações e a composição de microrganismos no solo (YU et al., 2015; HU et al., 2018).

O microrganismo *Bacillus subtilis* é uma bactéria habitante natural do solo, descrita como rizobactéria promotora do crescimento de plantas, podendo produzir antibióticos, enzimas e fitohormônios que beneficiam as plantas e atuam no controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER; LIFSHITZ; ZABLOTOWICZ, 1999).

As bactérias diazotróficas como as do gênero *Bradyrhizobium* e do gênero *Azospirillum* fazem a fixação biológica de N, dispensando a adubação mineral, além disso, podem estimular a produção de hormônios vegetais resultando no crescimento das plantas (HUNGRIA, 2011; MASCIARELLI et al., 2013; TAIZ; ZIEGER, 2013). Devido ao grande potencial de uso e a escassez de informações na literatura utilizando *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* como biocontroladores de fitopatógenos, torna-se de grande valia o estudo dos mesmos para esse fim.

Além do uso de produtos biológicos propriamente ditos, cabe destacar que as combinações de muitos organismos antagonistas podem gerar resultados ainda melhores do que o uso individual dos mesmos. Diversos organismos podem favorecer o aumento do nível do controle biológico, pois somam diferentes mecanismos de ação. As combinações podem impor proteção em períodos e/ou condições diferentes, favorecendo em nichos distintos ou mesmo se complementando (SRIVASTAVA et al., 2010).

Assim, o trabalho teve por objetivo estudar o uso individual e a compatibilidade entre produtos biológicos e sua eficiência no controle de fitopatógenos de solo e desempenho agrônômico de sementes de soja.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CULTURA DA SOJA

A soja é uma planta herbácea da classe Magnoliopsida (Dicotiledônea), ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Glycine* L. Possui grande variabilidade genética, tanto no ciclo vegetativo, como no reprodutivo, podendo ser influenciada pelo meio ambiente. Apresenta sementes lisas, ovais, globosas, nas cores amarela, preta ou verde. O hilo geralmente é marrom, preto ou cinza (SEDIYAMA et al., 2016).

A domesticação desta espécie teve origem no nordeste da Ásia (China e regiões adjacentes) e a sua disseminação ocorreu pelas navegações, do Oriente para o Ocidente (CHUNG; SINGH, 2008).

O primeiro relato do cultivo de soja no Brasil ocorreu no estado da Bahia no ano de 1882 (BLACK, 2000). Logo após, foi inserida por japoneses em São Paulo (SP). Em 1891, no Instituto Agrônomo de Campinas, foi realizada a adaptação de cultivares para utilização como planta forrageira, assim também ocorreu nos Estados Unidos da América. Entretanto, a primeira distribuição de sementes de soja para produtores paulistas se deu apenas em 1900 e 1901 (EMBRAPA SOJA, 2004).

A expansão da fronteira agrícola, incremento do comércio internacional, mecanização das lavouras bem como o surgimento da agricultura comercial no Brasil, foram fortemente impulsionados pela cultura da soja. Do mesmo modo, incentivou a agroindústria nacional, favorecendo o avanço da avicultura e da suinocultura brasileira (EMBRAPA SOJA, 2004).

A implantação de programas de melhoramento de soja no Brasil permitiu o progresso da cultura para as regiões de baixas latitudes, por meio do desenvolvimento de cultivares mais adaptadas através da incorporação de genes que atrasam o florescimento mesmo em condições de fotoperíodo indutor, atribuindo a característica de período juvenil longo (KIIHL; GARCIA, 1989).

A cultura da soja tem grande importância na economia mundial. Seu consumo aumenta gradativamente em consequência do aumento da população, pois seus grãos são utilizados na indústria química e de alimentos e pela agroindústria, na produção de óleo vegetal e rações para alimentação animal. Além disso, podem ser abordados como fonte alternativa de biocombustível (COSTA NETO et al., 2000; BIZARI et al., 2017).

Existem mais de 200 produtos disponíveis nas prateleiras dos supermercados, que levam em sua formulação um ou mais ingredientes a base de, destacando-se o óleo, que atende a quase 85% da demanda nacional por óleo alimentício de soja (UNITED STATES, 2017).

Tanto a literatura, como a experiência prática e por vezes não bem-sucedidas dos agricultores, tem apontado o aumento na incidência de pragas e doenças na cultura da soja. Estas, podem atacar durante todas as fases da cultura, reduzindo significativamente a produtividade das lavouras, limitando a lucratividade e a sustentabilidade da propriedade rural (GARCIA; JULIATTI, 2012).

## 2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

A cultura da soja passa constantemente por surtos de ataque de doenças, que podem ocorrer durante todo o seu ciclo. A severidade pode variar de ano para ano entre propriedades de uma mesma região e, até mesmo, entre talhões de uma mesma propriedade, sendo dependente da cultivar, época de plantio, tecnologia empregada e, sobretudo, das condições do clima em cada safra (YORINORI et al., 2009; DHINGRA; SILVA JUNIOR; RODRIGUES, 2013).

No Brasil há ocorrência de aproximadamente 45 doenças, das quais 28 são ocasionadas por fungos, oito por vírus, três por bactérias, três por nematóides e outras três de etiologia desconhecida (EMBRAPA SOJA, 2000). As perdas podem ser de 15 a 100% em algumas situações, pois sofrem alterações conforme o ano agrícola, as condições climáticas, a cultivar e o manejo empregado (ALMEIDA et al., 1997; OLIVEIRA; ROSA, 2014; GRIGOLLI, 2014).

As doenças estão entre os principais fatores que comprometem o rendimento de uma cultura. Vários são os agentes fitopatogênicos que causam enfermidades nos cultivos, os quais levam a perdas de produção e danos às plantas afetadas (EMBRAPA SOJA, 2011).

Os patógenos causadores de doenças em soja podem ser divididos em patógenos de parte aérea e patógenos de solo. Os considerados de parte aérea causam sintomas em partes visíveis como nas hastes, cotilédones, vagens, mas especialmente nas folhas, se disseminando na forma de pústulas, manchas de diversos formatos e cores ou evoluindo para lesões, podendo ser de aspecto necrosado, de cancro, gerando desfolha prematura ou a não formação de grãos (SARAN, 2013).

Quando as doenças são causadas por patógenos habitantes do solo, os sintomas iniciam na raiz e na haste, mas com o desenvolvimento da doença atingem toda a planta. Como sintomas visíveis é possível citar o estrangulamento da haste no nível do solo, podridão mole e aquosa abaixo do nível do solo ou seca que decompõe o tecido lenhoso, lesões no colo da planta em diferentes colorações, folhas necróticas entre as nervuras das folhas (folha carijó), escurecimento da medula da haste e da raiz, murcha e tombamento da plântula (HENNING, 2005; SARAN, 2013; HENNING et al., 2014).

Dentre os fitopatógenos que causam doenças à cultura da soja merecem destaque o complexo *Fusarium solani*; *Macrophomina phaseolina*; *Phomopsis longicolla*; *Rizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

### **2.2.1 Podridão vermelha da raiz**

O primeiro relato da síndrome da morte súbita ocorreu em 1971 em Arkansas, nos Estados Unidos (RUPE, 1989; RUPE; WEIDEMANN, 1986). No Brasil, a mesma foi relatada pela primeira vez na safra 1981/82 em São Gotardo, Minas Gerais e depois no Distrito Federal e foi intitulada podridão vermelha da raiz (PVR) (YORINORI et al., 1993; NAKAJIMA; MITSUEDA; CHARCHAR, 1996). Os danos causados por essa doença alcançaram perdas de até 70% da produção em 1996 (YORINORI, 1997).

O agente causal da PVR foi identificado e caracterizado como *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., classificado como fungo mitospórico (Hifomiceto), antiga divisão Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae (ROY et al., 1989; RUPE, 1989). Após o mesmo foi reclassificado como *Fusarium solani* f. sp. *glycines* (ROY, 1997). Mas, em outros estudos foi evidenciado que haviam diferenças cabíveis para separá-los em quatro espécies: *Fusarium brasiliense*, *Fusarium cuneirostrum*, *Fusarium tucumaniae* e *Fusarium virguliforme* (AOKI; O'DONNELL; SCANDIANI, 2005).

O início da infecção deste patógeno na planta de soja, causa uma mancha avermelhada mais visível na raiz principal comumente localizada um a dois centímetros abaixo do nível do solo. Essa mancha vai aumentando o tamanho e contornando a raiz e muda a coloração do vermelho-arroxeadada para castanho-avermelhada a quase negra (HENNING et al., 2014).

Acima do nível do solo, o tecido lenhoso da haste passa a ter coloração castanho-claro. Na parte aérea ocorre o amarelecimento prematuro das folhas e necrose entre as nervuras, acarretando em um sintoma conhecido como folha "carijó". Em plantas muito atacadas, pode ocorrer desfolha prematura e abortamento de vagens (HENNING et al., 2014).

### **2.2.2 Podridão de carvão**

O fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid é importante fungo habitante natural do solo, mas pode ser transmitido via sementes. O mesmo é capaz de infectar mais de 500 espécies de plantas, entre culturas de grande importância econômica como soja, feijão, milho, algodão, girassol, amendoim e mamona (PURKAYASTHA et al., 2006; KHAN, 2007; GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012).

Esse patógeno é considerado de alta temperatura, pois com o aumento desta no ar e no solo de 28 para 35 °C e em situações de déficit hídrico, a gravidade da doença aumenta (PEARSON et al., 1984; GARY et al., 199). Em condições favoráveis, o fungo causa diversas doenças, como queima de plântulas, podridão de coleira, podridão de caule, podridão de carvão e podridão de raiz (BABU et al., 2007).

As plantas de soja sofrem a infecção deste microrganismo em diferentes estágios de desenvolvimento, porém, os sintomas surgem sobretudo na fase de florescimento e enchimento de grãos, em forma de reboleiras na lavoura (GUPTA; SHARMA; RAMTEKE, 2012). Os sintomas são lesões necróticas nas raízes, caule, ramos e pedúnculos. Quando o fungo chega até as vagens, invade os grãos, assim se for um campo de multiplicação de semente, estas tornam-se a principal fonte de disseminação (DHINGRA; SINCLAIR, 1978).

Além disso a podridão de carvão, é uma doença difícil de controlar devido à natureza do patógeno causal. Em geral, *M. phaseolina* que invade as raízes do hospedeiro já em estágio inicial, uma a duas semanas após a germinação, mas os sintomas surgem apenas em plantas desenvolvidas (PEARSON et al., 1984).

### **2.2.3 Podridão radicular de *Phomopsis***

Também conhecida por podridão radicular *de geográfico*, devido aos contornos irregulares das lesões no tecido vegetal, é a principal podridão radicular que afeta a soja no sul do Brasil. Seu agente causador é o fungo *Diaporthe phaseolorum*, anamorfo: *Phomopsis phaseoli* (*Diaporthe phaseolorum* var. *Sojae* (Cooke & Ellis), também agente causal da podridão de vagens e caules (GHISSI; REIS; DEUNER, 2014).

Em um levantamento dos danos causados pela podridão radicular na cultura de soja no sul do Brasil, a podridão radicular causada por *Phomopsis sp* foi encontrada como a mais frequente (GHISSI; REIS; DEUNER, 2014). Os sintomas primários são observados quando a raiz principal é cortada longitudinalmente, evidenciando a morte da madeira de cor branca, que mostra linhas definidas, porém, sem desenho definido. As plantas que manifestam os primeiros sintomas secundários já apresentam os sintomas geográficos na raiz principal. Os sintomas primários podem ser observados mesmo após a colheita mecânica em tocos de plantas mortas (GHISSI; REIS; DEUNER, 2014).

Além disso, o complexo *Diaporthe/Phomopsis* está ligado a muitas doenças, destas onde é possível citar a seca da haste e da vagem, o cancro da haste e a podridão da semente (MORGAN-JONES, 1992). Geralmente, o cancro da haste é uma doença de

desenvolvimento lento, matando a planta dentro de 50 a 80 dias (YORINORI, 1990). Todavia, em cultivares mais suscetíveis, o desenvolvimento é mais rápido e pode ocasionar perda total dos campos de soja (SOLDERA et al., 2008).

São conhecidas três denominações de *Diaporthe phaseolorum* e somente uma espécie anamórfica denominada *Phomopsis longicolla* (ATHOW; CALDWELL, 1954; KULIK; SINCLAIR, 1999). O *Phomopsis longicolla* TW Hobbs (sin. *Diaporthe longicolla*) foi identificado pela primeira vez em 1985. É um fungo que causa decomposição (PSD) e perda de qualidade de sementes de soja (HOBBS; SCHMITTHENNER; KUTER, 1985), sendo transmitido pelas mesmas.

Os sintomas nas sementes incluem enrugamento, alongamento, rachaduras e muitas vezes, as mesmas ficam com aspecto esbranquiçado, causando redução na germinação e na emergência a campo. O fungo pode acarretar em grandes perdas de produção (SINCLAIR, 1995). Quando a doença se manifesta em ambiente quente e úmido durante o período de maturação fisiológica das sementes, favorece o crescimento do patógeno e o desenvolvimento de PSD (BALDUCCHI; McGEE, 1987; RUPE, 1990; BAIRD; ABNEY; MULLINIX, 2001).

#### **2.2.4 Rizoctoniose**

A *Rhizoctonia solani* Kühn (fase anamórfica de *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) é um fungo necrotrófico habitante do solo, ataca muitas espécies vegetais, acarretando o tombamento e podridões de raiz e de colo. No Brasil, pode causar perdas consideráveis a muitas plantas cultivadas, como soja (*Glycine max* (L.) Merr.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.) e amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.) (YORINORI, 1977; ALMEIDA et al., 1980; CERESINI; FENILLE; SOUZA, 1996; CERESINI; SOUZA, 1997).

Geralmente, este fungo é encontrado na forma micelial, pois não produz esporos e utilizam como forma de sobrevivência no solo, a formação de estruturas globulosas denominadas escleródios ou esclerócios (KRUGNER; BACCHI, 1995). Esses escleródios podem sobreviver no solo por, no mínimo, um ano (PÁDUA et al., 2007).

Na cultura da soja este patógeno causa doenças como a rizoctoniose, mela ou requeima da soja, podridão da raiz e da base das hastes e tombamento ou morte em reboleiras. Entre os fungos causadores de tombamento, este é considerado o mais danoso, devido à amplitude de ataque ocasionando o tombamento de pré-emergência e o tombamento de pós-emergência. Com a agressividade que ataca a lavoura, pode haver a necessidade de ressemeadura do estande (GOULART, 2001; YANG, 2015).

Em plântulas emergidas do solo, os sintomas em sua maioria surgem na região do colo. No início surgem manchas encharcadas, as quais tornam-se escuras rapidamente podendo avançar para lesões deprimidas igualmente de coloração escura, causando a constrição do caule. Assim como, o caulículo enfraquecido ocorre o tombamento da plântula, que logo após é colonizada e decomposta pelo fungo (ALMEIDA et al., 2005; BEDENDO et al., 2011).

### **2.2.5 Mofo-branco**

O mofo-branco é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, se prolifera com maior intensidade em períodos chuvosos, com alta umidade relativa do ar e temperatura amena (MEYER; CAMPOS, 2009; CAMPOS et al., 2010). O patógeno possui mais de 600 espécies hospedeiras, tais como: soja (*Glycine max*), algodoeiro (*Gossypium* spp.), leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), girassol (*Helianthus annuus*), mentruz (*Lepidium virginicum*), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), entre outros. Todavia, gramíneas não são hospedeiras (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005; LEITE, 2005).

Na cultura da soja, a doença foi constatada pela primeira vez em 1975, no sul do estado do Paraná, causando perdas de até 70% de plantas infectadas em lavouras destinadas a produção de sementes (FERREIRA; LEHMAN; ALMEIDA, 1981). Nesta cultura, o patógeno ataca com maior frequência a haste principal, as hastes laterais e as vagens. Os sintomas iniciais observados são manchas de aspecto encharcado, que evoluem em condições de alta umidade relativa do ar, formando o micélio branco do fungo com presença de escleródios pretos, podendo evoluir até a morte da planta (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; HENNING, 2009).

A partir dos escleródios que se formam do micélio, ocorre à contaminação da cultura que será plantada na próxima safra, em consequência da sua queda no solo, contaminação física no lote de sementes, ou até mesmo pelo contato com máquinas agrícolas (MEYER; CAMPOS, 2009; CAMPOS et al., 2010).

O manejo do mofo-branco deve ser efetuado visando à redução dos escleródios no solo e/ou redução da taxa de progresso da doença. Nesse contexto, é primordial a utilização de sementes com qualidade sanitária comprovada e tratadas com fungicidas químicos. Também são práticas recomendadas a formação de palhada para cobertura uniforme do solo, rotação com culturas não hospedeiras, emprego de controle fitossanitário em pós emergência e a limpeza de máquinas e equipamentos após utilização em área infestada difícil de ser adotada na prática (MEYER et al., 2014).

### 2.3 QUALIDADE DE SEMENTES

A semente é o insumo mais importante para a agricultura (MARCOS-FILHO, 2015). Esta difere do grão comercial, pela forma de produção, pois é produzida com finalidade de semeadura, sob cuidados especiais. Seu processo de produção exige um amplo e rigoroso sistema de controle interno de qualidade por parte das empresas produtoras, além do cumprimento de leis e normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e outros órgãos fiscalizadores, que exigem padrões mínimos de qualidade e controle do processo produtivo, visando garantir produção certificada (ABRASEM, 2019).

Para a agricultura, a germinação e o vigor das sementes, implicantes da qualidade destas, possuem em última análise, a importância fundamental e a essência da sua existência (BEWLEY; BLACK, 1994). Desta maneira, a semente, que além de ser utilizada na sua expressão econômica como fonte de alimentos para pessoas e animais, também é utilizada para a reprodução dos vegetais. Nesta última análise, nota-se que os componentes de qualidade dos grãos e das sementes, não são os mesmos (MARCOS-FILHO, 2015).



A expressão qualidade de sementes é usada para refletir, portanto o valor total destas para seu uso, que é a semeadura. E neste aspecto, o papel principal da semente, é dar origem à uma nova planta, o que justifica a necessidade de ter alta qualidade (ELIAS et al., 2012). Desta maneira, a qualidade de um lote de sementes é o resultado do somatório dos atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos (PESKE; BARROS; SCHUCH, 2012; SEDIYAMA et al., 2013). Logo, para ser considerada de alta qualidade a semente de soja deve apresentar altas taxas de vigor (maior que 75%), germinação (acima de 80%) e sanidade, além de pureza física e varietal garantidas (FRANÇA-NETO et al., 2010). Esses fatores são responsáveis pelo desempenho da semente no campo, somado ao correto estabelecimento da população de plantas, contribuem para que níveis mais altos de produção sejam alcançados (KRZYZANOWSKI, 2004).

A alta pureza genética da cultivar é de grande importância, pois permite que a mesma expresse todos os seus atributos de qualidade agrônômica, tais como: ciclo, produtividade, resistência a doenças, tipo de grão, qualidades da semente e organolépticas (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING 2018). Quando se adquire sementes de soja, requer garantias de que estas sejam realmente da cultivar de interesse. Ainda, é importante que a semente seja geneticamente pura e livres de misturas com sementes de outras cultivares, espécies cultivadas, silvestres e nocivas (LORINI, 2017).

A qualidade física da semente é primordial para seu bom desenvolvimento a campo, no que se refere a germinação e emergência de plântula. Ainda, propiciam número adequado de plantas a campo para atingir altos níveis de produtividade (KRZYZANOWSKI, 2004).

A qualidade sanitária da semente é fundamental, já que pode afetar negativamente a qualidade fisiológica da semente, assim como a sanidade da lavoura. Pois fungos como *Phomopsis spp.*, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium spp.* (fitopatógenos) e *Aspergillus spp.* (fungos de armazenamento), ao infectarem a semente, causam redução do vigor e da germinação (HENNING, 2005; LUCCA FILHO; FARIAS, 2012).

A qualidade fisiológica das sementes é outro atributo de elevada importância para que a mesma possa desempenhar as funções vitais (ZIMMER, 2012). Sementes de baixa qualidade fisiológica podem ocasionar reduções na velocidade e emergência total, desuniformidade de emergência, menor tamanho inicial de plântulas, menor acúmulo de matéria seca e na área foliar (SCHUCH et al., 2009).

Além disso, é comprovado que sementes de alta qualidade proporcionam maiores ganhos. Kolchinski, Schuch e Peske (2005) verificaram que utilizando sementes de alto vigor, os ganhos no rendimento de grãos são de 20 a 35%, quando comparado ao uso de sementes de baixo vigor.

Assim, o controle de qualidade de sementes da soja é de fundamental importância dentro do contexto das cadeias produtivas para melhor desenvolvimento de culturas e altas rentabilidades (DOS SANTOS et al., 2014).

## 2.4 TRATAMENTO DE SEMENTES

O tratamento de sementes consiste na aplicação de processos e substâncias que preservem ou aperfeiçoem o seu desempenho, permitindo que as culturas expressem todo seu potencial genético. Sendo assim, inclui a aplicação de defensivos (fungicidas e inseticidas principalmente), produtos biológicos, inoculantes, estimulantes e micronutrientes, ou mesmo a submissão a tratamento térmico ou outros processos físicos às sementes. No sentido mais restrito, refere-se à aplicação de produtos químicos eficientes contra fitopatógenos (MENTEN; MORAES, 2010; PESKE; BAUDET, 2012).

O uso dessas substâncias no tratamento de sementes tem por objetivos principais erradicar ou reduzir a baixos níveis os fungos presentes, proporcionar a proteção destas e das plântulas contra fungos do solo e, eventualmente, da parte aérea na fase inicial do seu desenvolvimento (FRANÇA-NETO, 2009). Também serve para promover condições de uniformidade na germinação e emergência, evitar o desenvolvimento de epidemias no campo, proporcionar maior sustentabilidade à cultura pela redução de riscos na fase de implantação e promover o estabelecimento inicial da lavoura com uma população ideal de plantas (FRANÇA-NETO, 2009). Além disto, o

tratamento das sementes busca ser uma prática agronômica de apoio para evitar a ressemeadura da cultura, conforme evidenciaram Goulart, Paiva e Andrade. (1995), Menten (1995) e Henning (1996).

Dessa forma, no Brasil aproximadamente 100% das sementes de soja em lavouras convencionais (não orgânicas) na safra 2017/18 receberam tratamento químico (RICHETTI; GOULART, 2019). A escolha do produto para utilização no tratamento deve levar em consideração a segurança ambiental e toxicológica do mesmo, associada a garantia de uma proteção eficaz contra amplo espectro de pragas e doenças, tudo isso com custo benefício interessante para o produtor (JULIATTI, 2010). Aliado a isso, a eficiência do tratamento de sementes visando o controle de patógenos depende do tipo e localização do patógeno, do vigor da semente e da disponibilidade de substâncias e processos adequados (MENTEN; MORAES, 2010; QUEIROGA et al., 2012).

Todavia, problemas de poluição do meio ambiente e efeitos tóxicos de produtos químicos sintéticos aos organismos não alvo estimularam pesquisas em torno do potencial de pesticidas de origem biológica (AMADIOHA, 2000). Além disto a resistência fúngica aos fungicidas, resultam em severas perdas quantitativas e qualitativas de produção, ameaçando o suprimento e a segurança alimentar (SIEROTZKI; SCALLIET, 2013; SINGH et al., 2015).

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

## 2.6 CONTROLE BIOLÓGICO

Segundo Baker e Cook (1974), o controle biológico é a diminuição da densidade de inoculo ou da severidade da doença, ocasionada por um patógeno ou parasita, em suas condições de atividade ou dormência. Pode incluir de acordo com os autores, um ou mais organismos, sendo realizado naturalmente ou por meio da manipulação do

ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou mesmo pela introdução em massa de um ou mais antagonista.

Segundo Michereff (2001), o controle biológico de doenças é definido pela interação entre hospedeiro, patógeno e alguns não patógenos habitantes do sítio de infecção. Sendo que esses podem interferir limitando a atividade do patógeno e/ou aumentando a resistência do hospedeiro. Ainda pode ser definido por supressão de populações de patógenos vegetais por organismos vivos (HEIMPEL; MILLS, 2017).

O controle biológico faz parte do manejo de diversas culturas, e vem ganhando cada vez mais espaço, devido a qualidade dos produtos disponíveis e ao aumento dos mesmos no mercado (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018). Além disso, sua utilização faz com que diminua o uso de produtos químicos danosos ao meio ambiente possibilitando a conservação dos recursos naturais e o equilíbrio ecológico (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2000; SILVA; MELLO, 2007).

Esse tipo de controle é fundamentado na relação que há entre os organismos, que podem ser a antibiose, a competição e o parasitismo. Pode ocorrer competição por nutrientes, parasitismo direto ou até mesmo pela geração de metabólitos (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2000). Ainda, esses microrganismos são fungos vivos livres que são comuns nos ecossistemas do solo e das raízes (FOTOOHIYAN et al., 2017). Diversos são os microrganismos que podem ser utilizados no controle biológico de doenças e pragas dos cultivos, destacando-se entre eles alguns fungos e bactérias. Na sequência será realizada breve revisão literária a respeito dos microrganismos que foram usados na presente investigação científica.

### **2.6.1 *Trichoderma* sp.**

Fungo pertencente ao gênero *Trichoderma* do Filo Ascomycota e é a fase anamórfica do gênero *Hypocrea*, que pertence à ordem Hypocreales. Sua reprodução ocorre via assexuada pela produção de conídios (SPIEGEL; CHET, 1998; SAMUELS, 2006).

Morfológicamente este fungo possui como principal característica a presença de micélio apresentando coloração branca no início e com crescimento rápido, mas de acordo com seu desenvolvimento, se torna cotonoso e compacto com tufo verdes. Seus conidióforos são unicelulares, muito ramificados, solitários ou em tufo compactos com formato subgloboso, ovóide, elipsóide ou elíptica-cilíndrica, normalmente mostram-se eretos, formando um ângulo reto com a hifa vegetativa, possuem textura lisa ou rugosa e coloração hialina, verde-amarelo ou verde-escuro (mais comum) (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980). As áreas conidiais mostram-se em faixas concêntricas de coloração verde (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980). Possui micélio formado por hifas hialinas densamente ramificadas e de parede lisa. Apresenta clamidósporos em grande parte das espécies, intercalados nas hifas ou, ocasionalmente, terminais (MELO, 1991).

São fungos de vida livre não patogênicos que habitam o solo e possuem ação antagonista à muitos fitopatógenos, ação está relatada pela primeira vez em 1932 por Weindling, que logo recomendou sua aplicação no controle de doenças (SPIEGEL; CHET, 1998; MACHADO et al., 2012). Desde então, os fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais utilizados no controle de patógenos de plantas (GRAVEL; ANTOUN; TWEDDELL, 2007; SANTOS; MELLO; PEIXOTO, 2010; DRUZHININA et al., 2011; PAULA JÚNIOR et al., 2012; BOTELHO et al., 2013).

Os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* possuem diversas formas de ação inibidora agindo por mecanismos diretos e/ou indiretos (CASTILLO et al., 2011). Entre estes se pode citar a antibiose, que é um meio de inibição ou eliminação do patógeno pela produção de muitas substâncias tóxicas, metabólitos voláteis e não voláteis tais como ácidos harziânico e heptelídico e enzimas como alameticinas, tricholinas e glisopreninas (REINO et al., 2008). Outro mecanismo apontado, é a competição onde o antagonista e o patógeno disputam nutrientes e/ou espaço, impossibilitando a infecção na planta (MONTEIRO et al., 2010). Além destes, há o hiperparasitismo em que o antagonista degrada a parede celular do patógeno por secreção de enzimas líticas como quitinases, glucanases e proteases (CARVALHO et al., 2011a, CARVALHO et al., 2011b). Os mecanismos citados podem ocorrer concomitantemente aumentando a eficiência da ação antagônica (MORANDI; BETTIOL,

2009). Ainda, seu entendimento é de fundamental importância para definir o uso como biocontrole (HARMAN, 2004).

Quando ocorre do parasitismo do *Trichoderma* em fungos fitopatogênicos, podem ocorrer muitos eventos desde localização, reconhecimento, contato direto, desenvolvimento de estruturas em formato de gancho com apressórios, penetração, enovelamento e desenvolvimento de hifas paralelas (ABDULLAH; ALI; SULEMAN, 2008; MELO, 2009, ZHANG et al., 2016).

A relação entre planta e o *Trichoderma* acontece comumente nas raízes, em que o fungo coloniza a epiderme e as células do córtex e devido a muitos mecanismos bioquímicos ocorre à tradução de sinais de respostas de defesa da planta contra muitos patógenos (ZHANG et al., 2016).

### **2.6.2 *Paecilomyces lilacinus***

O gênero *Paecilomyces* inclui mais de 100 espécies de fungos conhecidas por suas múltiplas atividades e heterogeneidade de habitat (NGUYEN et al., 2016). Entre esses o *Paecilomyces lilacinus* rotineiramente isolado a partir de ovos de nematóides infectados no solo (RUMBOS; KIEWNICK, 2006). É uma das espécies mais estudadas do gênero, pois é parasita de ovos e cistos, oportunista sem preferência de hospedeiros (FIEDLER; SOSNOWSKA 2007). Possui ainda capacidade de causar infecções humanas e animais (PASTOR; GUARRO 2006; VAN SCHOONEVELD et al., 2008).

Este fungo é caracterizado por colônias vináceas. Formam micélio denso que dá origem a conidióforos, com filamentos nas extremidades onde os esporos se formam em longas cadeias (SAMSON 1974 apud SINGH et al., 2010).

Seu crescimento ocorre em muitos substratos, adapta-se a solos de diferentes pH e apresenta grande competitividade a campo (JACOBS; GRAY; CRUMP, 2003). É encontrado em muitas regiões do mundo, mas com maior frequência em regiões quentes. Sua presença tem sido detectada em diferentes tipos de hospedeiros e solos, cultivados ou não (FARIA; TIGANO, 1996; SOSA-GOMEZ, 2002).

O *P. lilacinus* está sendo difundido como agente de controle biológico por ser parasita de nematóides de galha e de fungos patogênicos de plantas (MONFORT et al., 2005). Além disso, promove o crescimento das culturas e altera as populações e a composição de microrganismos no solo (YU et al., 2015).

O fungo inicia seu desenvolvimento quando os conídios entram em contato com o nematóide. Assim que germinam, produzem enzimas capazes de dissolver a cutícula, fazendo um pequeno orifício através do qual o fungo começa a crescer no corpo do nematóide produzindo toxinas que o levam a morte (HU et al., 2018). Ainda, se reproduz formando milhões de conídios capazes de infectar outros nematóides (JATALA, 1985). O *P. lilacinus* também é capaz de penetrar os ovos dos nematóides e pode causar redução na eclosão, interferindo na aparência dos ovos e, algumas vezes, hifas de tamanhos diferentes crescem dentro destes e destroem o embrião (CABANILLAS; BARKER; DAYKIN, 1988).

### **2.6.3 Rizobactérias promotoras de crescimento**

A qualidade do solo está estritamente ligada aos microrganismos que ali vivem de forma livre ou em associação com plantas, sendo este entendimento fundamental para a sustentabilidade agrícola. A rizosfera é a região do solo que recebe influência direta das raízes permitindo proliferação microbiana e também onde se encontra o maior número de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas (RPCP) (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

As RPCP podem ser divididas de acordo com o grau de proximidade com a raiz e forma como ocorre a associação. As rizobactérias extracelulares, vivem na rizosfera ou no rizoplano (superfície entre raiz e o solo). Aquelas que existem entre os espaços intercelulares do córtex radicular são chamadas de endofíticas. E por sua vez, as rizobactérias intracelulares as quais permanecem dentro das células da raiz, comumente em estruturas especializadas como os nódulos, podem ser conhecidas como noduladoras (GRAY; SMITH, 2005).

Geralmente esses microrganismos entram na planta por aberturas ou ferimentos pré-existent nas raízes, devido a leve abertura ocasionada pela emergência de raízes laterais ou, por ferimentos feitos enquanto estas crescem e penetram no solo. Também é possível ocorrer a infecção por aberturas naturais tais como os estômatos e hidatódios, ou por danos causados por insetos, ou até por estruturas de fungos patogênicos, como os apressórios (AZEVEDO, 1998; SANTOS et al., 2011). A colonização pode ser por apenas um período ou por toda a vida da planta hospedeira (JABER; ENKERLI, 2016).

Acredita-se que todas as espécies vegetais possam estar infectadas com estes microrganismos, que podem estar em forma latente ou colonizando ativamente os tecidos local ou sistematicamente. Assim, é encontrá-los em órgãos e tecidos vegetais como folhas, ramos e raízes (AZEVEDO, 1998; PEIXOTO NETO et al., 2002; JABER; ENKERLI, 2016). Essa relação entre plantas e bactérias é complexa e pode promover diversos benefícios, como o controle de doenças e pragas e promoção do crescimento da planta (LOPEZ; SWORD, 2015; BARELLI et al., 2016).

No solo, muitos microrganismos desempenham atividades importantes na ciclagem de nutrientes, entre estes a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), feita por microrganismos procarióticos conhecidos como os diazotróficos (MOREIRA et al., 2010). A FBN é a conversão de  $N_2$  gasoso em  $NH_3$ , a qual é incorporada à compostos de carbono. As bactérias diazotróficas realizam este processo devido à enzima dinitrogenase ser capaz de romper a tripla ligação do  $N_2$  reduzindo-o a amônia (HUNGRIA, 2011).

#### 2.6.3.1 *Bacillus subtilis*

A bactéria *Bacillus subtilis* é habitante natural do solo e descrita como rizobactéria promotora de crescimento de plantas. É capaz de produzir antibióticos, enzimas e fitohormônios que beneficiam as plantas, além de poder ser utilizada no controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER; LIFSHITZ; ZABLOTOWICZ, 1999). O modo de ação utilizado por este microrganismo para controle de patógenos pode ser



antagônico pela produção de antibióticos e antifúngicos, como a iturina (ARAUJO; HENNING; HUNGRIA, 2005).

Em estudos desenvolvidos por Wang et al. (2009), verificou-se que a cepa CHM1 de *Bacillus sp.* é de fato, endofítica, devido a sua presença comprovada em colmos das plantas de arroz, ser inibitória para o crescimento dos fungos patogênicos. Estes autores, também verificaram que a cepa CHM1, chegou a promover o crescimento de plântulas de arroz e couve.

A *B. subtilis* é utilizada para sintetizar mais de 60 antibióticos, muitos polipeptídios, enzimas degradantes e compostos voláteis (PHAE; SHODA, 1991; FIDDAMAN; ROSSALL, 1993; LEIFERT et al., 1995; AHIMOUA; JACQUES; DELEUA, 2000; LEELASUPHAKUL; PRANOM; SOUWALAK, 2006). Além disso, é capaz de produzir endotoxinas que interferem no ciclo reprodutivo dos nematóides, principalmente na oviposição e eclosão dos juvenis (SHARMA; GOMES, 1996).

É relatada na literatura a eficiência de metabólitos produzidos a partir de estirpes de *B. subtilis* no controle de *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichois* e *Fusarium oxysporum*, patógenos das sementes de cana-de-açúcar, reduzindo de 50 a 60% o desenvolvimento do micélio do fungo (VILLA et al., 2007).

#### 2.6.3.2 *Azospirillum sp.*

A capacidade de fixação de N pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, foram descobertas em 1975 sendo estas inicialmente chamadas de *Spirillum*, e em seguida foi nomeado *Azospirillum* (DÖBEREINER; MARRIEL; NERY, 1976; TARRAND et al., 1978). São bactérias móveis e não patogênicas e atuam em mais de 130 espécies de plantas (BASHAN; LEVANONY, 1987; BASHAN, 1998; PEREG; DE-BASHAN; BASHAN, 2016).

As bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* além da FBN, podem produzir compostos promotores de crescimento ou induzir a planta a produzir estes compostos (RODRIGUES et al., 2012). São denominadas associativas facultativas por se aglomerarem na superfície das raízes, podendo penetrar no vegetal (DÖBEREINER;

BALDANI, 1982). Na literatura existem alguns relatos destes compostos, tais como auxina, ácido 3-indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988); citocininas (CACCIARI et al., 1989); e ácido giberélico (BOTTINI et al., 1989).

Esse gênero de bactérias possui mecanismos de ação diretos e indiretos como indução de resistência sistêmica a doenças, biossíntese de hormônios relacionados ao estresse, como ácido jasmônico, ácido abscísico e etileno e a biossíntese de compostos antimicrobianos (CASSÁN et al., 2015). Além disso, essas bactérias são capazes de produzir ácido indolacético (IAA), giberelinas (GA3) e zeatina (Z), que produzem alterações morfológicas e fisiológicas nos tecidos embrionários jovens de sementes de milho e soja (CASSÁN et al., 2009; GARCÍA et al., 2017). Ainda, estas bactérias identificam sinais da planta em condição de estresse, fazendo com que respondam em conjunto com esta, ocasionando aumento da tolerância contra fitopatógenos (COHEN et al., 2009).

Em termos de produtividade de milho, muitos autores relatam que há diferença neste atributo quando as plantas têm interação com *A. brasilense* (HUNGRIA et al., 2010; BRACCINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; MÜLLER et al., 2016).

Plantas de cevada apresentaram melhor crescimento em ambiente salino quando inoculadas com *A. brasilense* como verificado por Zawoznik et al. (2011). Em outro estudo onde sementes de milho foram inoculadas com bactérias do gênero *Azospirillum*, verificou-se melhor crescimento a campo comparadas com a sem tratamento (BRACCINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; QUADROS et al., 2014). Relatos de maior rendimento de grãos em soja diretamente influenciado pela inoculação com *A. brasilense* foram feitos por Cassán e Diaz-Zorita (2016).

#### 2.6.3.3 *Bradyrhizobium* sp.

Dentre as bactérias diazotróficas capazes de aumentar a produção da soja, destaca-se o gênero *Bradyrhizobium* (DA SILVA et al., 2011). Estes microrganismos infectam a planta formando nódulos em suas raízes, assim quebram a tripla ligação do

dióxido de nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>), deixando o mesmo em forma disponível para a planta (TAIZ; ZIEGER, 2013).

O nitrogênio requerido pela cultura da soja é totalmente suprido por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (HUNGRIA et al., 2005). Essas bactérias são classificadas pelo gênero *Bradyrhizobium*, com duas espécies, *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*. Sendo assim, a pesquisa recomenda quatro estirpes para a soja: *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019 (=29W) e *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 ou CPAC 15 e SEMIA 5080 ou CPAC7) (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

A associação entre as raízes da soja e as bactérias *B. japonicum* resulta na formação de órgãos específicos, chamados nódulos, onde ocorre a fixação de N. Os principais produtos da fixação em nódulos de soja, como as ureídes (alantoína e ácido alantóico), são exportados para o restante da planta, onde são incorporados em aminoácidos e proteínas. Assim, o número de nódulos efetivos (avaliados regularmente através de sua cor vermelho-rosa indicativa da presença de legemoglobina) é fundamental naquelas culturas nas quais o conteúdo de N depende principalmente da fixação biológica (WANG, MARTINEZ-ROMERO, 2000; MASCIARELLI; LLANES; LUNA, 2014; POMMERESCHE; HANSEN, 2017).

### **3 ASSUNTO 1 – COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO CONVENCIONAL DE SEMENTES DE SOJA COM AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO**

#### **3.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 1**

O ataque de fungos causadores de doenças na cultura da soja, possui grande influência na sua produção. Quando em condições ideais para seu desenvolvimento, a infecção e disseminação ocorre de forma muito rápida, causando perdas significativas de produção (RIBEIRO et al., 2017).

O uso de fungicidas se firmou como principal meio de controle de doenças fúngicas por ser de baixo custo, facilidade de manuseio e alta eficiência (XIA et al., 2006). Logo, a prática do tratamento de sementes de soja com fungicidas apresentou alto crescimento nos últimos anos, iniciando com somente 5% da área semeada na safra 1991/1992.

Baudet e Villela (2012), verificaram que em 90% das áreas de cultivo são usadas sementes revestidas com algum produto químico para proteger ou melhorar o seu desempenho no campo. E na safra 2017/18 segundo Richetti e Goulart (2019), este número passou a próximo de 100%, considerando além do uso de fungicida, também o uso do inseticida.

No entanto, um dos fatores limitantes do uso indiscriminado do controle químico de doenças é o desenvolvimento da resistência de fungos aos fungicidas. A resistência por parte destes organismos, consiste em uma alteração herdável e estável quando aplicado um produto, provocando diminuição da sensibilidade (DELP; DEKKER, 1985). O surgimento de novas estirpes resistentes a moléculas químicas está fortemente associado ao intensivo uso desses compostos (PABLO et al., 2003).

No intuito de serem obtidas lavouras com plantas homogêneas, com bons desempenhos e altos rendimentos na colheita, outros produtos de proteção e estimuladores de crescimento são usados em conjunto com fungicidas no tratamento de sementes (ZANDONÁ et al., 2019). O manejo integrado de doenças, utilizando agentes de controle biológico, tais como fungos antagônicos aliado a fungicidas químicos pode

ser muito eficiente no controle de patógenos, além de causar diminuição no uso de pesticidas (PANDOLFO, 2007).

Ainda mais que já existem agentes bioprotetores comercializados com registro e recomendação para o tratamento sementes de soja. Por outro lado, são poucas as pesquisas relatando o uso desses produtos em conjunto com tratamentos químicos para este fim.

Dessa forma, o presente estudo foi elaborado com o objetivo de testar a compatibilidade dos produtos químicos utilizados no tratamento convencional de sementes de soja com os agentes de controle biológico *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasiliense* e *Bradyrhizobium japonicum*.

## 3.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 1

### 3.2.1 Local de realização

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitossanidade e Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Campus Dois Vizinhos*.

### 3.2.2 Ensaio sobre de compatibilidade entre os produtos químicos x biológicos no tratamento das sementes de soja

Foram utilizadas 40 sementes de soja da cultivar NS 6700 para cada tratamento. Estas foram pesadas em sacos de polietileno devidamente esterilizados e, receberam tratamento químico correspondente de acordo com a Tabela 1.

Após 60 minutos, as sementes com os oito tratamentos listados a seguir, receberam os produtos à base de agentes de controle biológico *Trichoderma harzianum*,

*Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasiliense* (Cepas AbV5 e AbV6) e *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5079 e Semia 5080).

**Tabela 1** - Produtos químicos utilizados no tratamento de sementes de soja de acordo com a dose recomendada pelo fabricante. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Doses mL de i.a / 100 kg de sementes	Volume de calda mL/100 Kg de sementes
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	500
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	500
3	Carbendazim + Thiram	200	400
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	500
5	Micronutriente + (Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe) + Carbendazim + Thiram + Polímero	100+300+200+100	400
6	Micronutriente + (Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam) + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil + Polímero	100+200+300+100	500
7	(Tiofanato metílico + Fluazinam) + Fipronil + Polímero	200+100+200	500
8	Sem tratamento	0	0

\*Micronutriente: extrato de algas + 2,3% Mo + 3,5% Zn.  
Fonte: Recomendações técnicas dos fabricantes (2020).

Os produtos biológicos foram utilizados conforme a sua recomendação comercial registrada para o tratamento de sementes de soja (Tabela 2).

**Tabela 2** - Produtos comerciais à base de agente biológico e dose utilizada. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Produto	Agente biológico	Dose utilizada
Ecotrich®	<i>T. harzianum</i>	1 g kg <sup>-1</sup> de semente
Nemat®	<i>P. lilacinus</i>	1 g kg <sup>-1</sup> de semente
Serenade®	<i>B. subtilis</i>	4 mL kg <sup>-1</sup> de semente
Azzofix®	<i>A. brasiliense</i>	4 mL kg <sup>-1</sup> de semente
Atmo®	<i>B. japonicum</i>	4 mL kg <sup>-1</sup> de semente

Fonte: Recomendações técnicas dos fabricantes (2020). Colocar a unidades formadoras de colônias.

Em câmara de fluxo laminar as sementes já tratadas foram separadas em quatro repetições de 10 sementes cada. Feito isso cada repetição foi alocada com auxílio de pinça esterilizada em Placas de Petri contendo aproximadamente 20 mL de meio de cultura estéril de batata, Dextrose, Agar - BDA, de modo aleatório, sem que as sementes entrassem em contato uma com a outra.

Este ensaio seguiu delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos e quatro repetições, sendo que para cada agente de controle biológico foi montado um experimento individual.

Decorridos três dias após a elaboração do experimento, avaliou-se a variável resposta por meio contagem das sementes onde havia crescimento do agente de controle biológico, com auxílio de uma lupa estereoscópica (aumento de 80x). Os resultados foram expressos em percentagem.

Após computado em planilha Excel® o conjunto de dados foi submetido a análise de normalidade de Lilliefors, confirmando a necessidade de transformação, os mesmos foram transformados através de BoxCox com programa Action Stat®. Confirmados os pressupostos dos modelos estatísticos, foram submetidos à ANOVA pelo teste de análise de variância ( $p=0,05$ ) e ao teste de médias Tukey ( $p=0,05$ ), com auxílio do software Genes® (CRUZ, 2016).

### **3.2.3 Ensaio sobre a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

A concentração inibitória mínima é a menor concentração de um agente antifúngico utilizada para inibir substancialmente o crescimento do organismo visualmente detectado (CLSI, 2002).

Utilizando-se do método de microdiluição de caldo, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de acordo com a norma 38 - A do CLSI (2002), comparou-se o efeito antimicrobiano dos tratamentos químicos (Tabela 1) contra os produtos à base de agentes de controle biológico (*Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasiliense* (Cepas AbV5 e AbV6) e

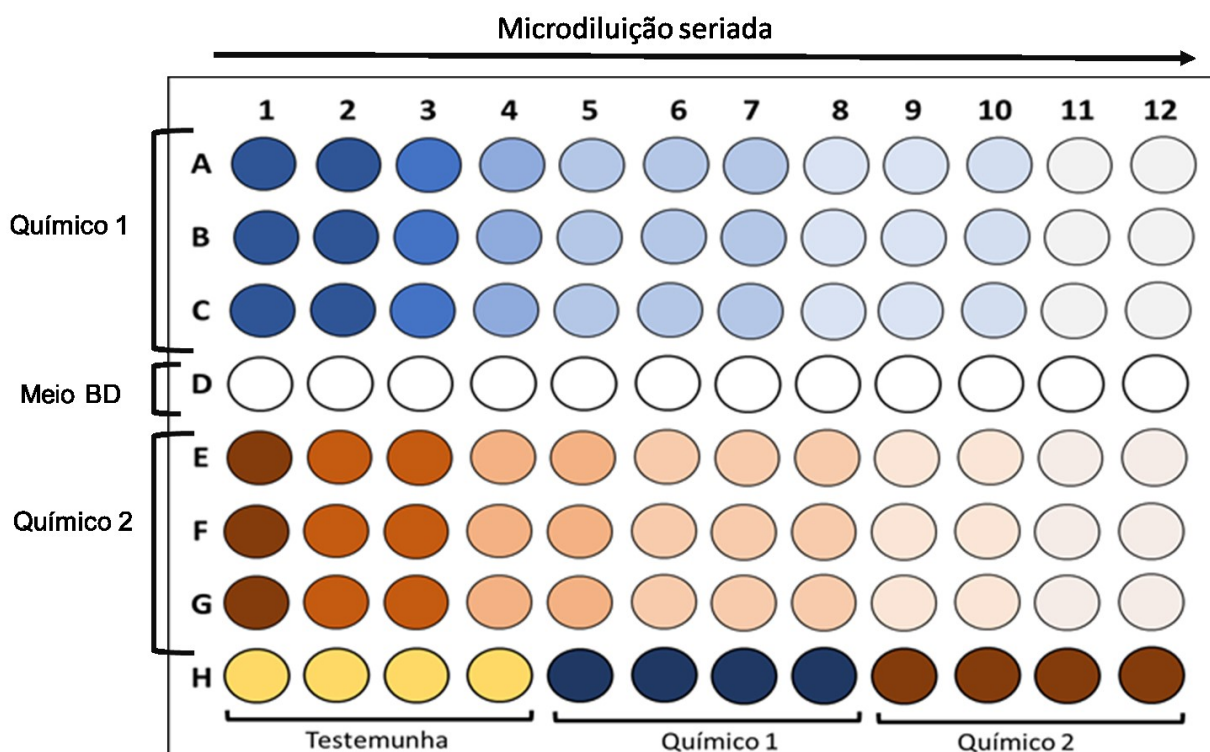
*Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5079 e Semia 5080), sendo da mesma forma, para cada produto biológico realizou-se um experimento individual.

Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar esterilizada com hipoclorito de sódio a 10%, álcool 70% (v/v), na sequência luz UV por 30 minutos. Utilizando-se tubos de ensaio devidamente esterilizados foram adicionados os produtos químicos na dose comercial recomendada pelo fabricante (Tabela 1).

A suspensão fúngica do produto a base de *T. harzianum* foi realizada em tubos de ensaio devidamente esterilizados utilizando-se a dose recomendada na bula de 0,1 g do produto para 500 ml. Para o *P. lilacinus* também foi utilizada a recomendação da bula sendo 0,1 g em 500 ml de água. Já para os produtos à base de *B. subtilis*, *A. brasiliense* e *B. japonicum* foram utilizados os produtos puros, sem adição de água.

O procedimento das microdiluições, deu-se em 20 microplacas estéreis e descartáveis de 96 poços, onde foram distribuídos 100 µL do meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI), em três fileiras (triplicata) para cada produto químico testado (Figura 1).

**Figura 1** – Microplaca estéril de 96 poços, com microdiluições de tratamentos químicos de sementes. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

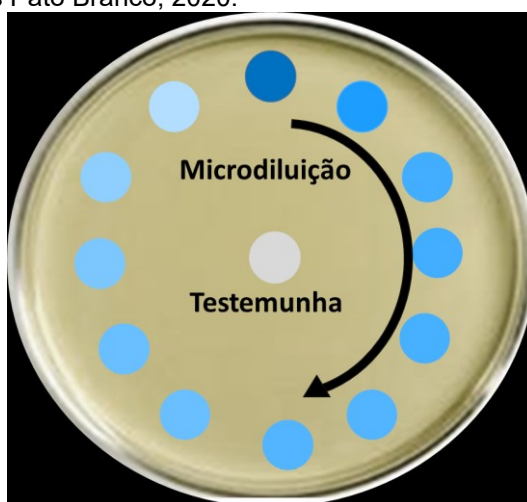


Após, adicionaram-se 100  $\mu\text{L}$  de cada produto químico (concentração conhecida) no primeiro poço e, feita a homogeneização deste, foram transferidos 100  $\mu\text{L}$  desta solução para o segundo poço e assim sucessivamente até o último poço. Deste último, foram retirados os 100  $\mu\text{L}$  excedentes, visando manter o mesmo volume em todos os poços. Posteriormente, utilizando-se micropipeta de 12 canais e seguindo-se os tratamentos, foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  de cada agente biológico respectivamente em cada poço. O tratamento controle do crescimento foi feito utilizando-se quatro poços contendo meio BHI e 10  $\mu\text{L}$  de cada agente de controle biológico.

Estas placas foram incubadas em Biochemical Oxygen Demand - BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas por 48 horas e sem agitação. A leitura da CIM foi realizada utilizando spot test adaptado, transferindo 10  $\mu\text{L}$  de cada poço e a sem tratamento para uma Placa de Petri, contendo aproximadamente 30 mL de meio BDA (Figura 2), fazendo-se isto para todas as repetições.

Por fim, as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas em BOD seguindo a mesma recomendação descrita acima e após 48 horas, verificou-se onde havia crescimento do agente biológico. Ou seja, avaliou-se onde o tratamento atribuído não causou danos ao microrganismo testado. Desta forma, foi determinada a dose da CIM, o poço em que não houve crescimento, imediatamente antes da menor dose com crescimento do agente testado.

**Figura 2** – Spot test adaptado utilizado para revelar o resultado obtido com a microdiluição seriada. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo a normativa (NCCLS, 2002), a avaliação deste teste é visual e qualitativa. Logo, foi considerada a CIM como sendo a concentração mínima que apresentou escore zero, ou seja, ausência de crescimento.

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com oito tratamentos e três repetições para cada agente de controle biológico. Após o término do experimento os dados foram tabulados em planilha Excel® para confecção da tabela com os resultados das doses CIM de cada produto, em cada ensaio.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 1

Análise de variância revelou existir diferença significativa, em nível de 5% de probabilidade de erro, entre os níveis do fator tratamentos químicos sobre o desenvolvimento de *T. harzianum*, *P. lilacinus*, *B. subtilis*, *A. brasiliense* e *B. japonicum* (Apêndice A).

Em nível de 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey os tratamentos Tiofanato metílico + Fluazinam Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil e Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil apresentaram melhor compatibilidade com o desenvolvimento de *T. harzianum* (Tabela 3). Para *P. lilacinus*, a melhor compatibilidade foi obtida com o tratamento Tiofanato metílico + Fluazinam Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil (Tabela 3).

Para o agente biológico *B. subtilis* o tratamento que apresentou melhor compatibilidade foi o Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil (Tabela 3). Para *A. brasiliense* as sementes sem tratamento químico apresentaram melhor desenvolvimento do agente biológico (Tabela 3).

Resultado semelhante foi obtido para *B. japonicum*, onde as sementes sem tratamento químico, também apresentaram melhor desenvolvimento deste, diferindo-se dos demais (Tabela 3).

É possível verificar nas imagens das Figura 3; Figura 4; Figura 5; Figura 6 e 7, os diferentes comportamentos dos agentes de controle biológico *T. harzianum*, *P. lilacinus*,

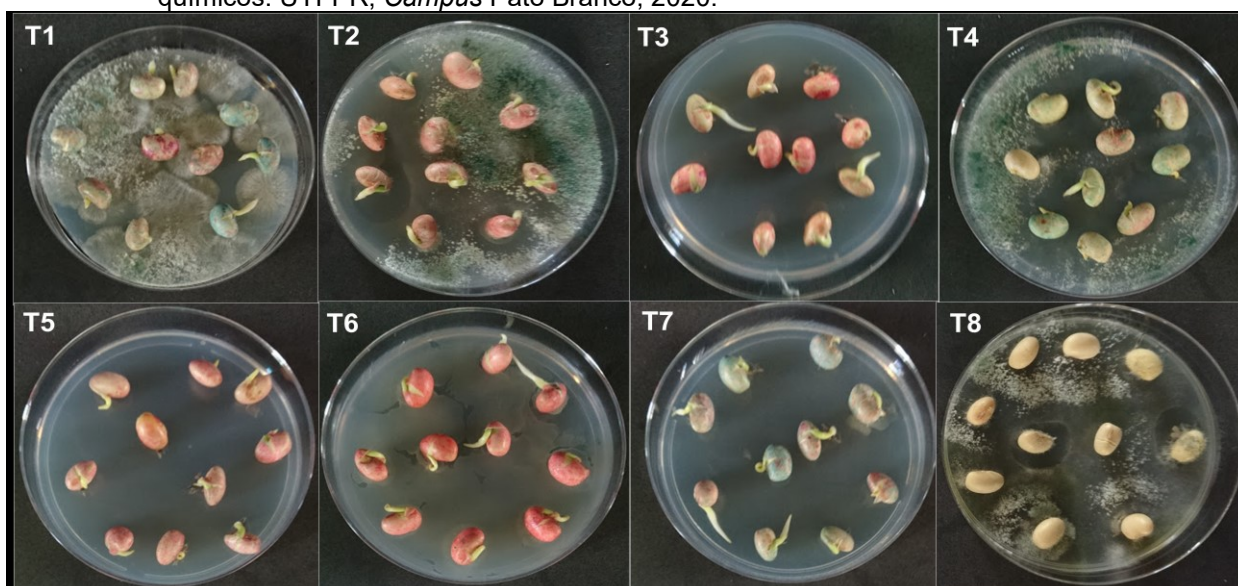
*B. subtilis*, *A. brasiliense* e *B. japonicum* quanto ao uso dos produtos de controle químico, seja somente fungicida ou em associação fungicida mais inseticida.

**Tabela 3** – Porcentagem de crescimento de *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasiliense* e *Bradyrhizobium japonicum* em sementes submetidas a tratamentos químicos de forma em separado. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	<i>T. harzianum</i> (%)	<i>P. lilacinus</i> (%)	<i>B. subtilis</i> (%)	<i>A. brasiliense</i> (%)	<i>B. japonicum</i> (%)
Tiofanato metílico + Fluazinam	88 a	88 a	10 d	0 d	0 d
Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	58 b	45 b	30 c	40 b	0 d
Carbendazim + Thiram	0 c	0 c	0 d	0 d	0 d
Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	83 a	0 c	100 a	30 b	40 b
Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	0 c	0 c	45 b	0 d	0 d
Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	0 c	0 c	0 d	33 b	25 c
Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	0 c	0 c	0 d	0 d	0 d
Sem tratamento	90 a	90 a	100 a	100 a	93 a

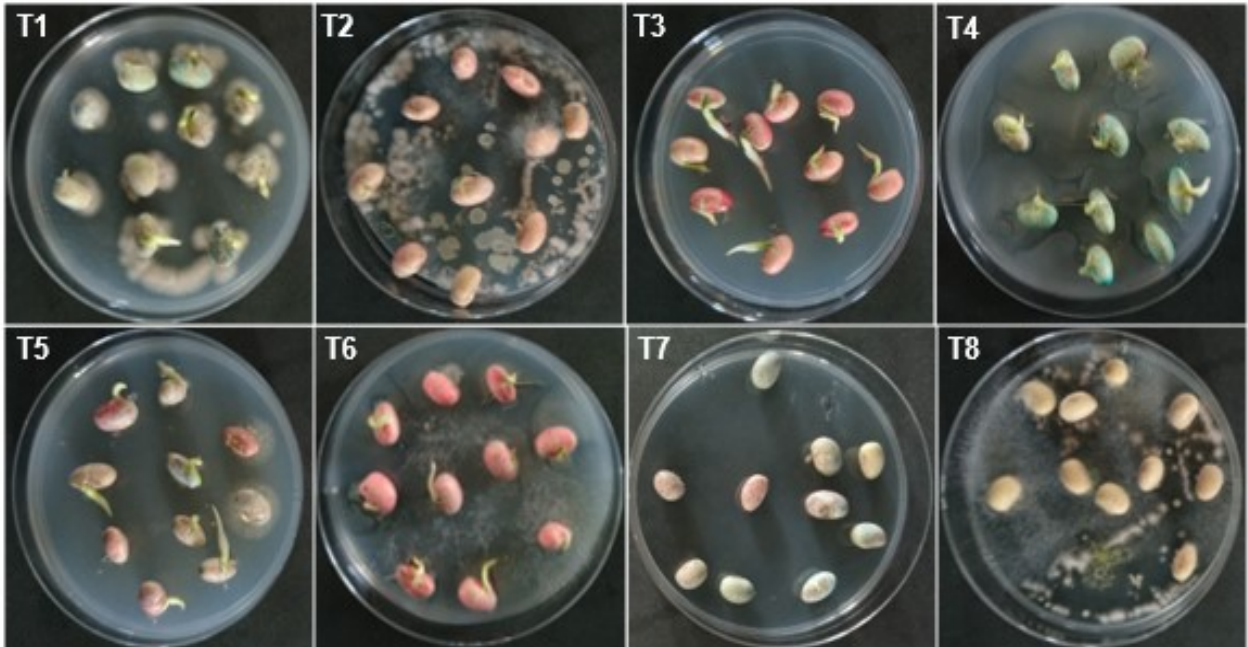
\*Letras minúsculas distintas diferenciam-se entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Tukey. Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 3** - Crescimento de *Trichoderma harzianum* (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



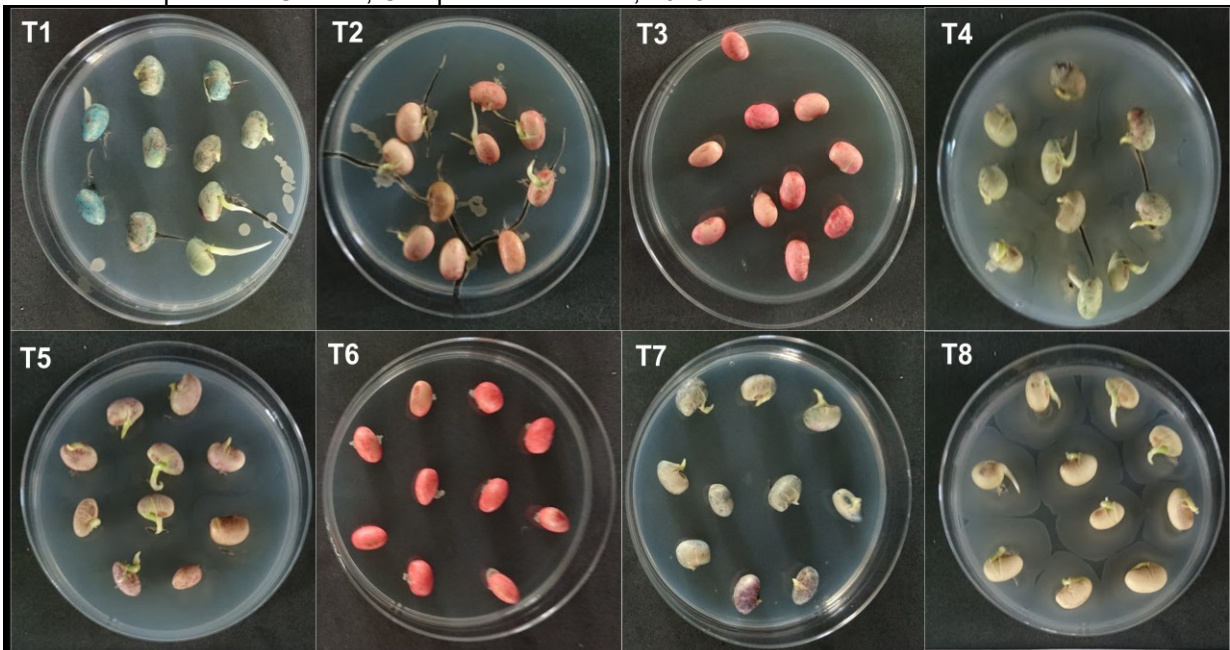
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 4** - Crescimento de *Paecilomyces lilacinus* (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



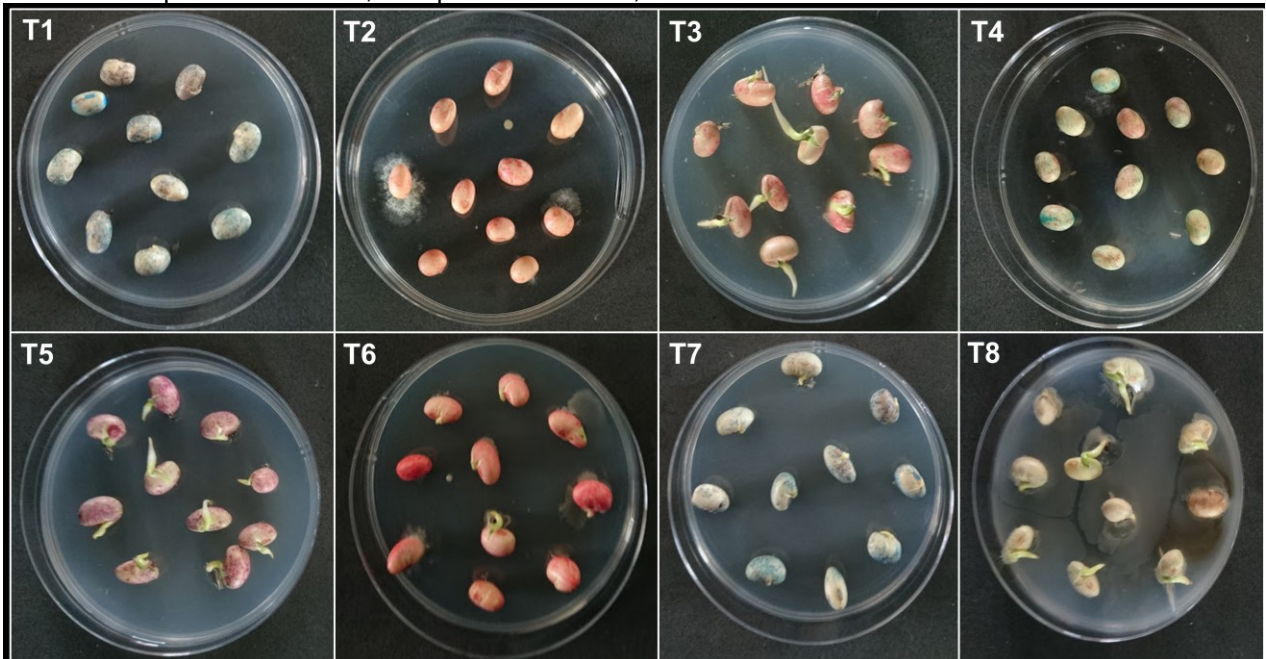
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 5** - Crescimento de *Bacillus subtilis* (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



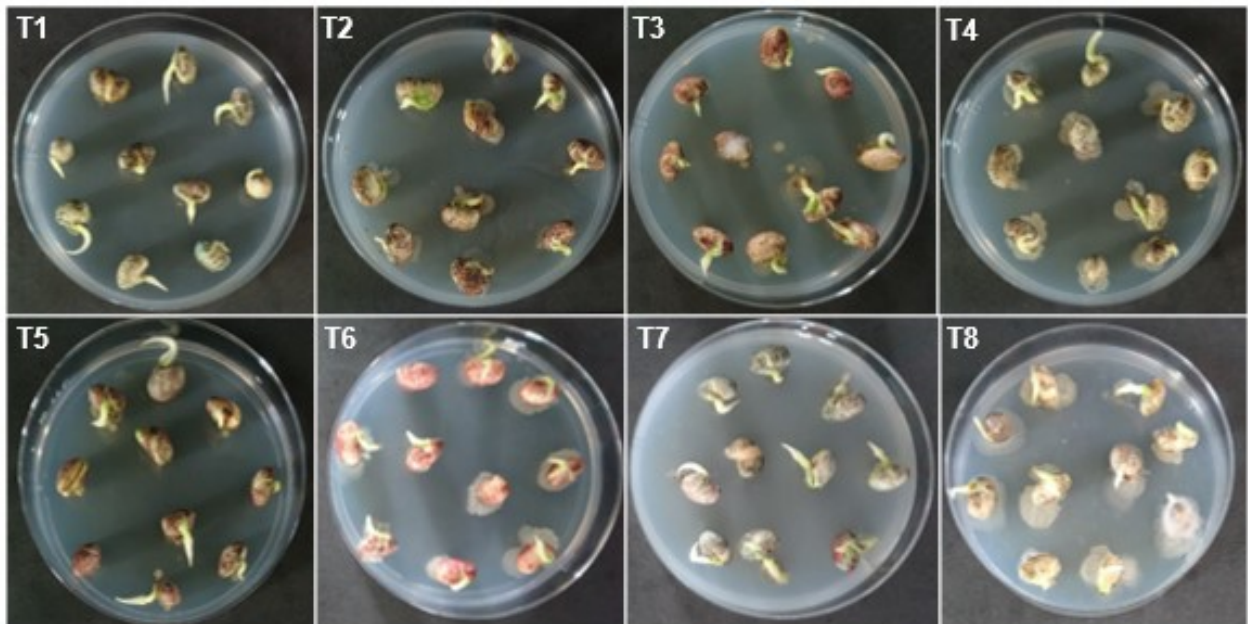
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 6** - Crescimento de *Azospirillum brasiliense* (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 7** - Crescimento de *Bradyrhizobium japonicum* (%) em sementes de soja submetidas aos tratamentos químicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Resultados semelhantes foram obtidos por Werle (2017), quando utilizou Piraclostrobina/Tiofanato metílico/Fipronil e Metalaxil-M. Esses produtos reduziram mais

de 70% o crescimento do produto a base de *T. harzianum*. Assim como no presente estudo, quando se utilizou Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil, foi inibido 100% do crescimento micelial de *T. harzianum*.

Batista et al. (2002), observaram que os fungicidas à base de Tiofanato Metílico, Prochloraz e Carbendazim inibiram completamente o crescimento micelial de *T. harzianum*. Contrastando com os dados obtidos no presente estudo, em que os tratamentos Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil e Tiofanato metílico + Fluazinam Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil apresentaram maior crescimento micelial para *T. harzianum*.

A ação dos produtos fitossanitários sobre agentes de controle biológico pode ser diferente de acordo com a espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e do uso de diferentes doses. Mas quando esses produtos causam efeito, pode afetar o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese dos fungos. Além disso, pode ocorrer alterações na composição genética, acarretando modificações na virulência (ALVES; LOPES, 2008).

Em estudo realizado por Loureiro et al. (2020), os mesmos concluíram que tratamentos com Abamectina e com Metalaxil + Fludioxonil alteraram a germinação dos fungos *T. harzianum* e *P. Lilacinum*. No entanto, o Thiametoxam (62,8% para *T. harzianum* e 63,9% para *P. lilacinum*), promoveu maior germinação dos fungos testados, porém foi inferior a sem tratamento. Por outro lado, no presente estudo o tratamento com Thiametoxam inibiu 100% o crescimento micelial de ambos os fungos citados e o tratamento Tiofanato metílico + Fluazinam Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil que contém duas das moléculas citadas foi o tratamento que apresentou maior compatibilidade com ambos os fungos.

Francisco et al. (2019), concluíram que Thiametoxam foi muito tóxico inibindo totalmente a germinação dos conídios de *T. endophyticum*. Corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, o tratamento contendo esse ingrediente foi totalmente tóxico tanto para *T. harzianum*, *P. lilacinus* e *B. subtilis* (Tabela 3).

Para a *A. brasilense*, estudos desenvolvidos por Battistus et al. (2014) demonstram que o uso crescente de doses do inseticida Thiamethoxam proporciona efeitos tóxicos sobre a bactéria, de modo a reduzir significativamente o desenvolvimento

de unidades formadoras de colônias (UFC). Os dados corroboram com os resultados encontrados para este ingrediente, onde somente 30% das sementes obtiveram UFC por esta bactéria (Tabela 3).

Alguns estudos apontam que o uso do tratamento químico em sementes de soja promove efeitos tóxicos sobre o desempenho das bactérias fixadoras de N do gênero *Bradyrhizobium*, proporcionando reduções na proporção de 50 até 80% no número de nódulos e na produção obtida (de aproximadamente 20% no número de grãos por planta), dependendo do ingrediente ativo utilizado (CAMPOS; ARAUJO; HUNGRIA, 2009; PEREIRA et al., 2010).

Por sua vez os resultados obtidos pelo método CIM mostraram a dose mínima inibitória de cada fungicida em separado, ou mesmo, em associação com inseticida e demais componentes utilizados no tratamento de sementes de soja para o agente de controle biológico *T. harzianum* (Tabela 4).

É possível verificar que para Tiofanato metílico + Fluazinam, a CIM foi 3,36 mL de ia/100 kg de sementes, ou seja, o crescimento do fungo só iniciou quando foi diluída em seis vezes a dose comercial do produto. Por outro lado, ao utilizar Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil a dose comercial só precisou de uma diluição para que ocorresse crescimento micelial do fungo já citado (Tabela 4; Figura 8).

Para os tratamentos Carbendazim + Thiram e Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil todas as doses testadas apresentaram efeito tóxico. Utilizando Piraclostrobin + Tiofanato Metílico + Fipronil e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil, o agente biológico mostrou crescimento micelial na dose comercial (Tabela 4; Figura 8).

Utilizando-se Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram, só ocorreu crescimento micelial do *T. harzianum* diluindo-se 11 vezes a dose comercial do produto (Tabela 4; Figura 8).

Em estudo realizado por Tomer et al. (2018), descobriu-se que os fungicidas sistêmicos Carboxina e Propiconazol apresentaram maior toxicidade para o crescimento de *T. harzianum* in vitro, do que os fungicidas não sistêmicos Mancozeb e Thiram nas quatro concentrações (25, 50, 75 e 100 ppm) testadas.

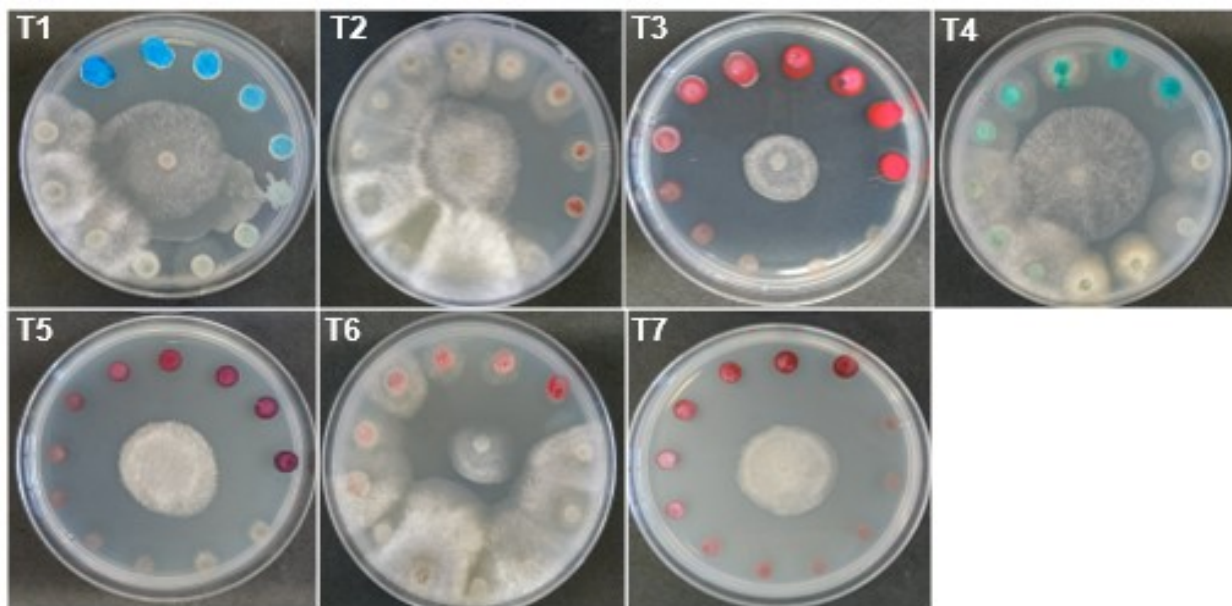
**Tabela 4** – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Dose comercial mL de i.a / 100 kg de sementes	CIM	Diluição
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	3,36	7/12
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	125	1/12
3	Carbendazim + Thiram	200	-	-
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	*	*
5	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	100+300+200+10 0	0,19+0,59+0,3 9+0,19	10/12
6	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	100+200+300+10 0	*	*
7	Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	200+100+200	-	-

\*Nenhuma dose inibiu o crescimento micelial. -Todas as doses inibiram o crescimento micelial.

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 8**- Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

No entanto, entre os dois fungicidas sistêmicos, o Propiconazol foi mais tóxico para *T. harzianum* do que Carboxin. Ainda, segundo os mesmos autores Thiram e Carboxin também foram compatíveis com *T. harzianum*, mas o Thiram é



comparativamente mais seguro do que a carboxina para misturar com antagonistas. Resultados estes, diferentes dos sugeridos no presente estudo, visto que os tratamentos que apresentaram Thiram não geraram efeito positivo no desenvolvimento in vitro de *T. harzianum*.

Por outro lado, Mishra et al. (2019) mostraram que Azoxistrobina, Tebuconazol, Propiconazol, Hexaconazol e Carbendazim não são compatíveis com *T. viride*, logo entende-se que como mostra o presente estudo, talvez não seja o Thiram tóxico ao *T. harzianum* e sim o Carbendazim.

Meena et al. (2018), conduziram um experimento para testar a compatibilidade de 5 fungicidas Carbendazim, Mancozeb, Carboxin + Thiram, Hexaconazole e Propiconazole com *Trichoderma* spp. e verificaram ser Mancozeb e carboxin + thiram compatíveis com o agente biológico. Por outro lado, resultados, Ranganathswamy et al., (2012), avaliaram a compatibilidade de 18 fungicidas com *T. harzianum* e *T. virens* in vitro. Tais autores, observaram que Carbedazim, Benomil, Carboxina, Propiconazol, Clorotalonil, Hexaconazol, Triciclazol e Tridemorfo foram incompatíveis com *Trichoderma* sp. mostrando 100% de inibição do crescimento radia, resultados estes, que concordam com os do presente trabalho.

Wedajo (2015), testou o fungicida Mancozeb 80 WP em diferentes concentrações (100, 200, 400, 600, 800 e 1000 ppm) para avaliar a compatibilidade com espécies de *T. viz.*, *T. harzianum* (AUT1) e *T. viride* (AUT2). Os resultados do estudo revelaram a compatibilidade dos isolados de *Trichoderma* com o fungicida testado na concentração de 100 ppm e 200 ppm e incompatibilidade a partir da concentração de 600 ppm.

Desta maneira, os resultados obtidos pelo método CIM mostram que para os tratamentos Tiofanato metílico + Fluazinam; Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil; Carbendazim + Thiram e Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil a dose mínima inibitória foi na diluição três vezes a dose comercial para o fungo *P. lilacinus* (Tabela 5; Figura 9).

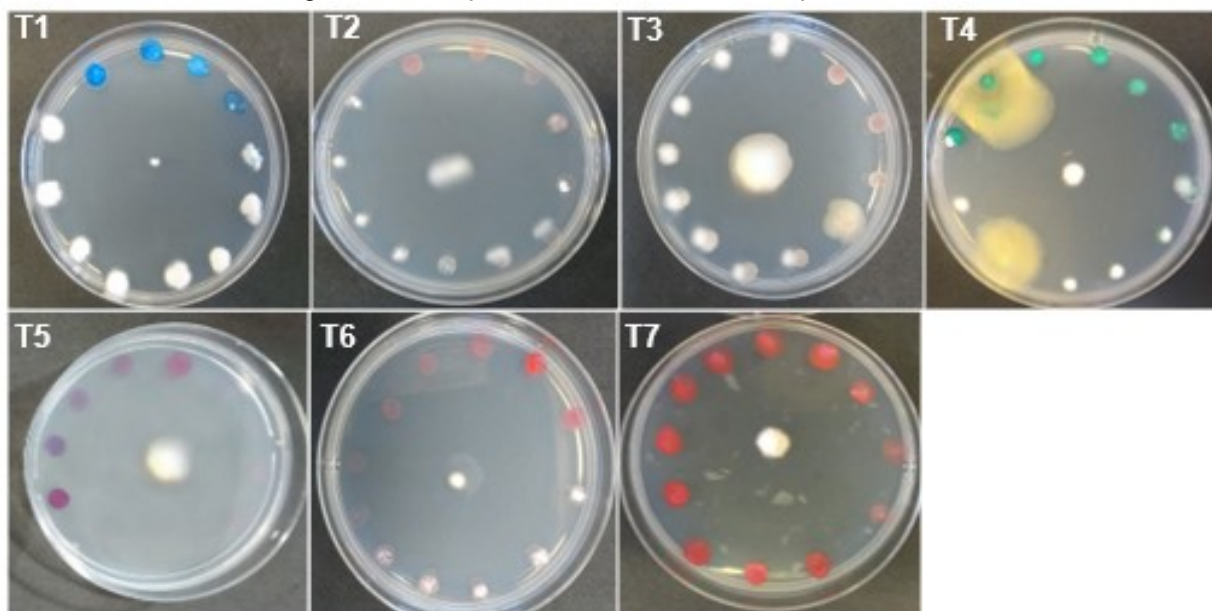
**Tabela 5** – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico *Paecilomyces lilacinus*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Dose comercial mL de i.a / 100 kg de sementes	CIM	Diluição
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	53,75	3/12
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	31,25	3/12
3	Carbendazim + Thiram	200	50	3/12
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	50	3/12
5	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	100+300+200+100	-	-
6	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	100+200+300+100	0,02+0,04+0,05+0,02	6/12
7	Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	200+100+200	-	-

\*Nenhuma dose inibiu o crescimento micelial. -Todas as doses inibiram o crescimento micelial.

Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 9 - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico *Paecilomyces lilacinus*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Já para Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil a dose mínima inibitória foi na diluição seis vezes a dose

comercial. E para os demais produtos testados todas as doses foram efetivas na inibição do crescimento micelial de *P. lilacinus* (Tabela 5; Figura 9).

Em estudo realizado por Demirci e Denizhan (2010), analisando o crescimento micelial de *P. lilacinus* em compatibilidade com fungicidas, verificou-se que Clorotalonil, Tebuconazol, Captan, Mancozeb, Propinebe, Penconazol, Nuarimol e Azoxistrobina causaram maior inibição na germinação de esporos. Além disso, concluíram que o Carbendazim foi um dos fungicidas mais tóxicos no crescimento micelial de *P. lilacinus*.

Por sua vez Kumar et al. (2017) sugerem que o uso combinado de químicos e bioagentes, ajuda a prolongar o período de controle ativo da doença, bem como, reduzir o custo da proteção de culturas. Mas a respeito do uso de *P. lilacinus* combinado com fungidas e demais tratamentos de sementes as informações disponíveis são escassas.

Para o agente de controle biológico *B. subtilis* os tratamentos Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil; Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram; Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil nenhuma dose foi efetiva na inibição da formação de colônias. Logo é possível utilizar este biológico no tratamento de sementes de soja combinados com esses produtos químicos (Tabela 6; Figura 10).

**Tabela 6** – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico *Bacillus subtilis*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Dose comercial mL de i.a / 100 kg de sementes	CIM	Diluição
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	3,36	7/12
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	*	*
3	Carbendazim + Thiram	200	100	2/12
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	200	1/12
5	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	100+300+200+100	*	*

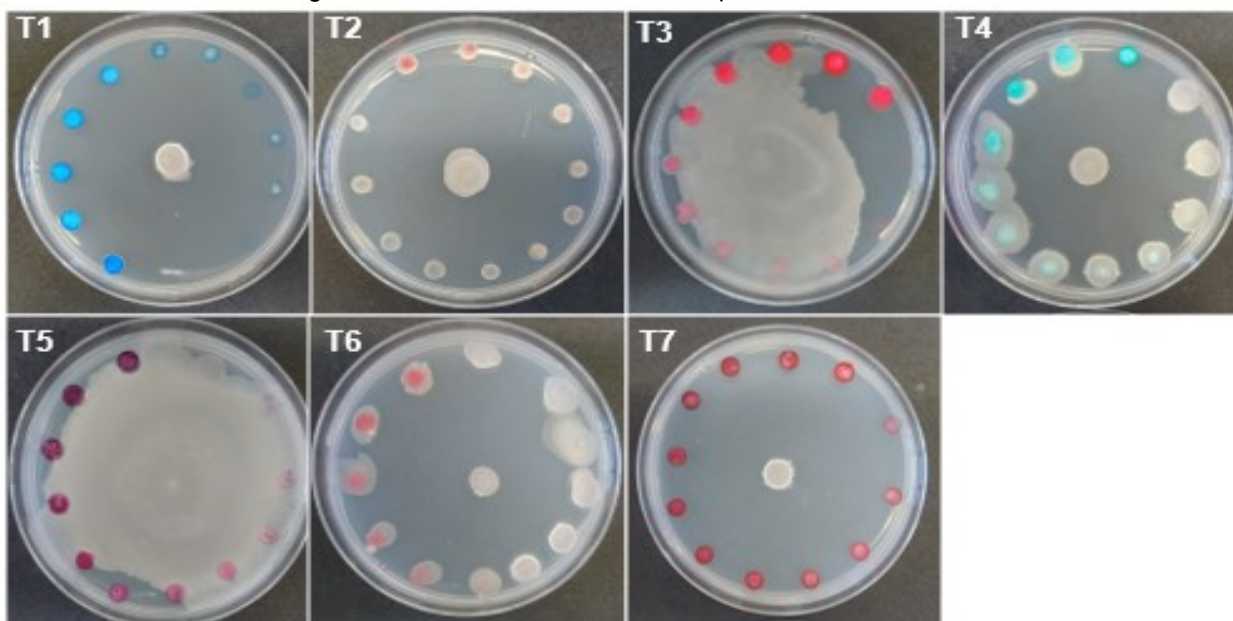
CONTINUA...

...continuação

6	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	100+200+300+100	*	*
7	Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	200+100+200	-	-

\* Nenhuma dose inibiu a formação de colônias. - Todas as doses inibiram a formação de colônias.  
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 10** - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico *Bacillus subtilis*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Analisando-se os tratamentos Tiofanato metílico + Fluazinam, Carbendazim + Thiram e Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil, foi possível verificar que a dose inibitória mínima foi de sete, duas e uma vez a diluição da dose comercial respectivamente. E com o tratamento Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil todas as doses foram efetivas na inibição da formação de colônias, logo não sendo possível utilizar essa bactéria no tratamento de sementes com essa formulação química (Tabela 6; Figura 10).

Yang et al. (2009) verificaram compatibilidade de linhagens de *Bacillus spp.* com grupo de fungicidas das estrobilurinas. Concordando assim com os resultados encontrados no presente estudo, onde nos dois tratamentos do grupo químico das estrobilurinas (T4 e T6) houve crescimento de colônias de *B. subtilis*. Todavia, não foi

compatível com o grupo químico Fenilpiridinilamina (T1 e T8). Aliás, quando esse grupo químico se uniu ao inseticida Fipronil (grupo químico pirazol) (T8) se tornou o único tratamento onde todas as doses foram efetivas na inibição da formação de colônias por *B. subtilis*.

Laha e Venkataraman (2001), mostraram em um estudo, que as estirpes de *Bacillus sp* (B44) foram compatíveis com carbendazim a 500 e 1000 ppm. Resultado que se repetiu no presente trabalho com os tratamentos T3 e T5 (Figura 10; Tabela 6).

Em estudo realizado por Basamma e Kulkarni (2017), verificou-se que *B. subtilis* mostrou mais tolerância a Carbendazim em comparação com outros fungicidas usados no estudo. Além disso, os fungicidas Carbendazim, Difenconazol, Hexaconazol e Kresoxim metil foram compatíveis com *B. subtilis* na concentração comercial.

A combinação de fungicidas com *B. subtilis* pode ser utilizada no tratamento de sementes, com aumento da dose do bioagente, minimizando desta forma a incompatibilidade (BASAMMA; KULKARNI, 2017). No mesmo sentido, Vijaykrishna et al. (2011), mostraram em seu estudo, que *B. subtilis* cepa mb1 600 foi compatível com 1000 ppm de Hexaconazol, Propiconazol e Validamicina.

O agente de controle biológico *A. brasiliense* não apresentou formação de colônias em nenhuma das doses testadas para os tratamentos Tiofanato metílico + Fluazinam e Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil (Tabela 7; Figura 11).

Para os tratamentos Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil; Carbendazim + Thiram; Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil, a dose mínima inibitória foi de cinco, duas, seis e seis vezes a diluição da dose comercial respectivamente (Tabela 7; Figura 11).

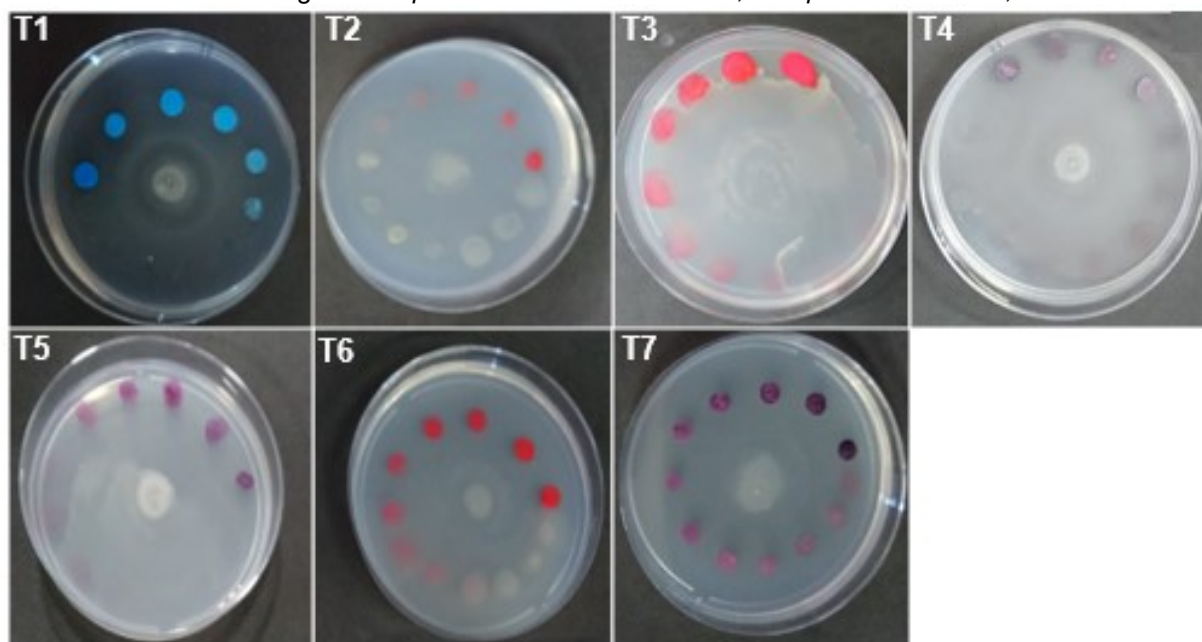
Quando se utilizou o tratamento Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil nenhuma dose foi efetiva na inibição da formação de colônias (Tabela 7; Figura 11).

**Tabela 7** – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico *Azospirillum brasiliense*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Dose comercial mL de i.a / 100 kg de sementes	CIM	Diluição
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	-	-
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	7,81	5/12
3	Carbendazim + Thiram	200	100	2/12
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	*	*
5	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	100+300+200+100	3,12+9,37+6,25+3,12	6/12
6	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	100+200+300+100	1,56+3,12+4,69+1,56	6/12
7	Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	200+100+200	-	-

\* Nenhuma dose inibiu a formação de colônias. - Todas as doses inibiram a formação de colônias.  
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 11** - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico *Azospirillum brasiliense*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Alguns fungicidas podem levar a efeitos deletérios quatro horas após o contato com bactérias (ALCÂNTARA NETO et al., 2014), ou podem causar até 62% de mortalidade das bactérias inoculadas, duas horas após o tratamento das sementes, atingindo 95% após 24 horas (CAMPOS et al., 2009).

É assumido que, além do ingrediente ativo, o pH (SIQUEIRA, FRANCO, 1988) é responsável pela redução do número de células viáveis (BASHAN; HOLGUIN; BASHAN, 2004), ou morte bacteriana (ARAÚJO; ARAÚJO, 2006) causada pelo contato direto com fungicidas (MUNARETO, et al., 2018). Battistus et al. (2014), relataram reduções na formação de colônias desta bactéria com uma dose crescente de inseticida Tiametoxam.

Para a cultura da soja, o uso de ingredientes ativos que contêm Captan, Carboxin + Thiram e Tiametoxam resultou em raízes mais finas, com menor comprimento e baixa presença de nódulos bacterianos (CASTRO et al., 2008; PEREIRA et al., 2009).

Em estudo realizado por Araújo e Araújo (2006) verificaram que a sobrevivência do rizóbio inoculado nas sementes de feijoeiro foi prejudicada pela aplicação de fungicidas (Benomyl, Captan, Carboxim, Thiram, PCNB e Carboxim + Thiram) e dessa forma, a nodulação das plantas foi reduzida. Ramos e Ribeiro Jr. (1993), observaram que, duas horas após o contato com os fungicidas, as estirpes CIAT 652 e CPAC 1135 de rizóbio tiveram significativa redução no número de células quando comparadas com o tratamento sem fungicida.

Mercante et al. (2007), observaram que o número e matéria seca de nódulos reduziram entre 77% e 96% com a aplicação dos fungicidas Captan, Carbendazim + Thiram, Thiram e Carboxim + Thiram.

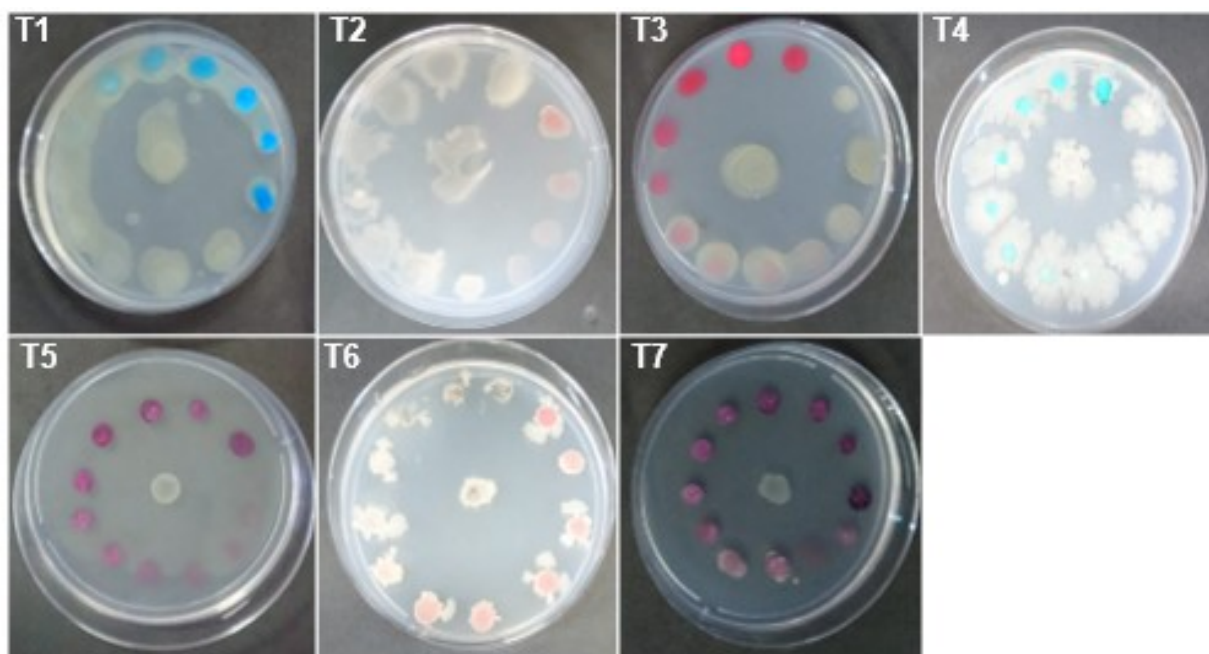
No presente trabalho, os tratamentos Tiofanato Metílico + Fluazinam; Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil; Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil não apresentaram dose efetiva na inibição da formação de colônias. Por outro lado, utilizando-se o tratamento Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram todas as doses foram efetivas e não houve formação de colônias (Tabela 8; Figura 12).

**Tabela 8** – Concentração inibitória mínima - CIM dos produtos químicos utilizados na microdiluição seriada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o agente de controle biológico *Bradyrhizobium japonicum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingredientes ativos	Dose comercial mL de i.a / 100 kg de sementes	CIM	Diluição
1	Tiofanato metílico + Fluazinam	215	*	*
2	Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	125	*	*
3	Carbendazim + Thiram	200	12,5	5/12
4	Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil	200	*	*
5	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram	100+300+200+100	-	-
6	Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil	100+200+300+100	*	*
7	Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil	200+100+200	1,56+0,78+1,56	8/12

\* Nenhuma dose inibiu a formação de colônias. - Todas as doses inibiram a formação de colônias.  
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 12** - Leitura da concentração inibitória mínima - CIM realizada em Placas de Petri para o agente de controle biológico *Bradyrhizobium japonicum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).



E para os tratamentos Carbendazim + Thiram e Tiofanato metílico + Fluazinam + Fipronil, foi possível encontrar a dose mínima inibitória para o agente de controle biológico *B. japonicum* e esta, foi de cinco vezes e de oito vezes a diluição da dose comercial respectivamente (Tabela 8; Figura 12).

Campos et al. (2010), verificaram que, em geral, todos os fungicidas testados (contato e/ou sistêmico) apresentaram algum grau de toxicidade para as bactérias inoculadas nodulantes da soja, refletindo numa redução da nodulação, quando comparado com o tratamento onde as sementes foram apenas inoculadas. Contudo, estes autores observaram que os efeitos são mais drásticos em áreas de primeiro cultivo de soja.

Em trabalho realizado por Mercante et al. (2007), verificou-se que a sobrevivência das estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 de *B. japonicum*, inoculadas em sementes de soja, foi afetada negativamente pela aplicação dos fungicidas Carboxin + Thiram, Carbendazim + Thiram, Carbendazim + Thiram, Fludioxonil + Metalaxil-M, após 48 horas de contato com o inoculante.

De acordo com Cardoso et al. (2019), o tratamento da semente de soja com Imidacloprido, pode diminuir o desenvolvimento dos nódulos da bactéria *B. japonicum*, pois este produto pode causar diminuição ou inibição na formação de colônias da bactéria, resultados (Tabela 8).

Braccini et al. (2016), em um estudo com a associação de *B. japonicum* e *A. brasilense* via tratamento de sementes, verificaram aumentos nos caracteres fisiológicos e massa de grãos da soja produzidos, quando comparados ao tratamento sem inoculação. Assim, verifica-se a necessidade de investigações sobre o uso destes agentes biológicos em conjunto com produtos químicos, visando melhor desenvolvimento da planta e maiores ganhos em produtividade.

Dessa forma, pode-se observar no presente estudo, que o uso da associação de *B. japonicum* e *A. brasilense* em associação com tratamento químico seria possível utilizando os ingredientes ativos do tratamento seis (T6) (Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil) onde nenhuma dose foi efetiva na inibição da formação de colônias (Tabela 7; Figura 11; Tabela 8; Figura 12).

Diante da situação exposta, surge a necessidade de estudos que investiguem doses de produtos químicos que sejam compatíveis com agentes de controle biológico, para que ambos possam ser utilizados ao mesmo tempo no tratamento de sementes, visando assim, menores perdas de produção e, conseqüentemente gerar mais rentabilidade ao produtor. Isso porque uma substância química e um fungo são compatíveis quando as doses da substância química não afetam a viabilidade, o desenvolvimento e a virulência dos fungos (SCHUMACHER; POEHLING, 2012).

### 3.4 CONCLUSÕES SOBRE O ASSUNTO 1

As doses comerciais dos tratamentos químicos Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil não afetam o desempenho de *T. harzianum*.

Utilizando as doses comerciais todos tratamentos químicos testados interferem o crescimento de *P. lilacinus*.

As doses comerciais dos tratamentos químicos Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil, Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Imidacloprido + Tiodicarbe + Carbendazim + Thiram e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil não interferem o crescimento do *B. subtilis*.

Utilizando a dose comercial, o tratamento químico Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil, pode ser utilizado com *A. brasiliense*.

As doses comerciais dos tratamentos Tiofanato metílico + Fluazinam, Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil, Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil e Ácido Cítrico + hidróxido de potássio + Tiametoxam + Metalaxil-M + Tiabendazol + Fludioxonil podem ser utilizadas com *B. japonicum*.

## 4 ASSUNTO 2 – PRODUTOS BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE FUNGOS DE SOLO PATOGÊNICOS A SOJA

### 4.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 2

As doenças ocasionadas por fungos de solo são as principais razões da baixa produtividade agrícola (CHAGAS JÚNIOR et al., 2018) em todos os cultivos. Isto se deve pelo fato de tais patógenos apresentarem maior dificuldade de controle, tendo em vista o complexo ambiente que é o solo, com grande diversidade de organismos (LIMA; ASSUNÇÃO; VALLE, 2005). Ainda, muitos desses patógenos possuem capacidade para formar estruturas especializadas de resistência, o que faz com que sobrevivam no solo em condições adversas e sem necessariamente um hospedeiro (AMORIM, 1995).

As doenças podem afetar a produtividade da cultura, por provocarem muitos danos em partes da planta, tais como podridão de semente (REIS et al., 2014); desfolha prematura, abortamento de vagens (HENNING et al., 2014); queima de plântulas, podridão de coleira, podridão de caule, podridão de carvão, podridão de raiz (BABU et al., 2007); seca da haste e da vagem, cancro da haste (MORGAN-JONES, 1992); mela ou requeima da soja, podridão da base das hastes, tombamento (GOULART, 2001; YANG, 2015) e em alguns casos, podendo evoluir até ocasionar a morte da planta (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; HENNING, 2009; REIS et al., 2014).

Além disso, as doenças causadas por fungos iniciam de forma concentrada e após manifestarem seus sintomas, na maioria das vezes já estão em fase reprodutiva. A reprodução e disseminação desses patógenos podem incidir em um mesmo ciclo, com a liberação de esporos no ar, causando infecção de um novo tecido ou mesmo em um ciclo secundário, onde muitas vezes os patógenos permanecem em restos culturais ou no solo e podendo atacar um novo hospedeiro, além disso, a disseminação pode acontecer também pelas máquinas que transitam na área ou por sementes contaminadas (PICANÇO, 2010).

Entre as doenças de solo que mais acometem a cultura da soja estão as ocasionadas pelos fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, complexo *Fusarium solani* e *Phytophthora sojae* (DEBIASI et al.,

2015). Também, é possível incluir neste meio o complexo *Diaporthe/Phomopsis*, para a região sul do Brasil, pois nesta mesma região em um levantamento dos danos causados pela podridão radicular nas culturas de soja realizado há muito tempo, a podridão radicular causada por *Phomopsis sp* foi encontrada como a mais frequente (REIS et al., 2014).

A soja tem sua importância reconhecida, logo a expectativa de altas produtividades é crescente. Isto faz com que os cuidados no cultivo sejam maiores com técnicas utilizadas sempre sofrendo aprimoramento, reduzindo os danos e os custos da produção (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014).

Portanto a produção agrícola é intensamente condicionada ao uso de pesticidas para gerenciar doenças e pragas (SIVASAKTHI et al., 2014). Porém, há relatos de grande preocupação pública sobre como a dependência do uso de defensivos e fertilizantes quimicamente sintetizados pode ocasionar a resistência de patógeno às moléculas (GEORGHIOU, 2012) poluição ambiental (ZHANG et al., 2011); contaminação da superfície e do solo águas (SAVCI, 2012) e efeitos deletérios aos microrganismos benéficos do solo, insetos, pássaros e peixes (MUÑOZ-LEOZ et al., 2013). Dessa forma, o manejo de patógenos vegetais utilizando controle biológico é considerado uma estratégia alternativa para a agricultura sustentável (AL-NAEMI et al., 2016; YOUSSEF et al., 2016).

Muitos fungos têm sido amplamente estudados para avaliar seu potencial como controladores biológicos de doenças em plantas (MARKOVICH; KONONOVA, 2015; SARAVANAKUMAR et al., 2016). Em meio a estes, o *Trichoderma* está entre os agentes de biocontrole mais usados pois é um antagonista eficaz contra fungos patogênicos de plantas (STOCCO et al., 2016). Outro fungo que está sendo muito difundido como agente de controle biológico é o *P. lilacinus*, por ser parasita de nematóides de galha e de fungos patogênicos de plantas (MONFORT et al., 2005).

Além do uso de fungos para este biocontrole, também é possível o uso de bactérias como *B. subtilis*, pois a mesma é descrita como rizobactéria promotora de crescimento de plantas e pode ser utilizada no controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER; LIFSHITZ; ZABLOTOWICZ, 1999).

As bactérias diazotróficas como as do gênero *Bradyrhizobium* e do gênero *Azospirillum* fazem a fixação biológica de N e estimulam a produção de hormônios vegetais resultando no crescimento das plantas (HUNGRIA, 2011; MASCIARELLI et al., 2013; TAIZ; ZIEGER, 2013). Com estes benefícios, torna-se interessante testá-las como agentes de controle biológico.

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar a eficiência de produtos biológicos no controle de fungos de solo patogênicos a soja.

## 4.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 2

### 4.2.1 Local de realização

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Campus* Dois Vizinhos.

### 4.2.2 Patógenos utilizados

Os fungos *Fusarium crassistipitatum* (CMES 24), *Fusarium tucumaniae* (CMES 25), *Rizoctonia solani* (CMES 1861), *Macrophomina phaseolina* (CMES 1574), *Sclerotinia sclerotiorum* (CMES 2131) e *Phomopsis longicolla* (CMES 1582) foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa soja – Londrina-PR) com identificação molecular.

Cada fungo contabilizou um experimento individual, de modo que não há comparação entre eles, em nenhum dos trabalhos efetuados.

### 4.2.3 Tratamentos

Para compor os tratamentos foram utilizados produtos comerciais já disponíveis no mercado brasileiro. Sendo que o *T. harzianum* e o *P. lilacinus* produzidos

comercialmente na formulação de pó molhável, logo para compor os tratamentos os mesmos foram diluídos em água autoclavada por 15 minutos em temperatura de 121 a 134 °C. Já o *B. subtilis*, *A. brasiliense* e *B. japonicum* foram utilizados puros, pois suas formulações comerciais é na forma líquida sendo considerados preparações de pronto uso. Os produtos comerciais já descritos no estudo 1.

Foram utilizados os produtos individuais, em associação com dois e três produtos biológicos (Tabela 9). Quando utilizados em associação de dois agentes biológicos e três agentes biológicos, obtinha-se primeiramente a mistura homogênea dos mesmos e está, passava a ser utilizada como amostra de trabalho.

**Tabela 9** – Produtos e doses utilizados no trabalho in vitro para controle dos fungos *Fusarium tucumaniae* (CMES 25), *Fusarium crassistipitatum* (CMES 24), *Rizoctonia solani* (CMES 1861), *Macrophomina phaseolina* (CMES 1574), *Sclerotinia sclerotiorum* (CMES 2131) e *Phomopsis longicolla* (CMES 1582). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Agente biológico	Dose utilizada
T1	<i>T. harzianum</i>	0,1 g em 500 ml de água
T2	<i>B. subtilis</i>	produto sem diluição
T3	<i>A. brasiliense</i>	produto sem diluição
T4	<i>B. japonicum</i>	produto sem diluição
T5	<i>P. lilacinus</i>	0,1 g em 500 ml de água
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	5 ml + 5 ml
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	5 ml + 5 ml
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5 ml + 5 ml
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 ml + 5 ml + 5 ml
T26	Sem tratamento	Sem adição de agente biológico

Fonte: Autoria própria (2020).

#### 4.2.4 Método do círculo adaptado

Realizado para verificar o crescimento da colônia do patógeno em detrimento de uma barreira de contenção com os diferentes produtos. O experimento foi montado com auxílio de uma câmara de fluxo laminar, utilizando Placas de Petri vertidas com 20 mL de meio de cultura BDA. Estas foram identificadas com o tratamento recebido. Em seguida um disco de cada patógeno foi colocado no centro da placa e a partir deste, em raio de aproximadamente 3,0 cm foi adicionado o produto de forma a circular a colônia do patógeno.

O produto foi colocado com auxílio de um Becker autoclavado por 15 minutos em temperatura de 121 a 134 °C, onde o produto foi fixado de forma circular na placa onde estava a colônia do patógeno. Para isto, o Becker entrava em contato de boca para baixo com o produto em um recipiente, contendo o produto, e em seguida, “carimbava” o meio BDA da placa. Logo, o produto que estava em suas bordas passava a ficar impresso na placa, formando um círculo de 5,0 cm ao redor da colônia do patógeno, método adaptado de Mariano (1993). Para cada tratamento foi utilizado um Becker diferente, para não ocorrer mistura de soluções. Para o tratamento sem tratamento foi utilizado somente a colônia do fitopatógeno cultivado em meio BDA, na mesma temperatura.

As placas foram vedadas individualmente com plástico filme e alocadas em BOD com fotoperíodo de 12 horas e temperatura constante de 25 °C±2. E mantidas até que a colônia do patógeno no tratamento sem tratamento atingisse as extremidades da placa 168 horas depois da montagem do trabalho.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 26 tratamentos e quatro repetições. O método de análise foi qualitativo nominal (categorização mutuamente exclusiva, mas sem qualquer ordem) (VIEIRA, 2008), onde visualmente foi verificado se o fungo ultrapassou a barreira imposta pelo tratamento ou não.

#### 4.2.5 Teste de pareamento direto

Foi um teste de pareamento direto, onde verificou o crescimento da colônia do patógeno em sentido oposto ao produto. Foi montado em Placas de Petri (90 mm) contendo 20 mL de meio BDA e 15  $\mu$ L de cada produto de acordo com o tratamento (Tabela 1), foram fixados em uma extremidade da placa. Paralelamente a este, 5 cm distantes, foi disposto um disco da colônia do fungo de 0,7 cm de diâmetro.

Após a Placa de Petri ter sido tampada, sobre a tampa desta foram demarcadas duas linhas, uma longitudinal e outra paralela sobre o tratamento e sobre o disco da colônia do fungo. As mesmas foram utilizadas como referência para medições diárias do crescimento da colônia em direção ao tratamento e lateralmente ao mesmo.

Após, as placas foram vedadas com plástico filme e mantidas em BOD com fotoperíodo de 12 horas e temperatura constante de 25 °C  $\pm$  2. As medições foram efetuadas a cada 24 horas, para verificar o índice de crescimento diário da colônia do fungo. Mediu-se por 168 horas as colônias dos fungos *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae*, e por 96 horas as colônias dos fungos *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla*.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (tempo  $\times$  tratamentos). Para os fungos *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae* (168 horas  $\times$  26 tratamentos). Para os fungos *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla* (96 horas  $\times$  26 tratamentos). Ainda para crescimento micelial final foi considerado somente os dados do último dia de análise sendo constituído por 26 tratamentos.

Os dados foram ordenados em tabela Excel® e submetidos a análise de normalidade de Lilliefors. Após confirmados os pressupostos dos modelos estatísticos, foram submetidos à ANOVA pelo teste de análise de variância ( $p=0,05$ ). Os dados do bifatorial foram condizidos a análise de regressão ( $p=0,05$ ) e os dados do crescimento micelial final ao teste de médias Scott-Knott ( $p=0,05$ ), com auxílio do software Genes® (CRUZ, 2016).

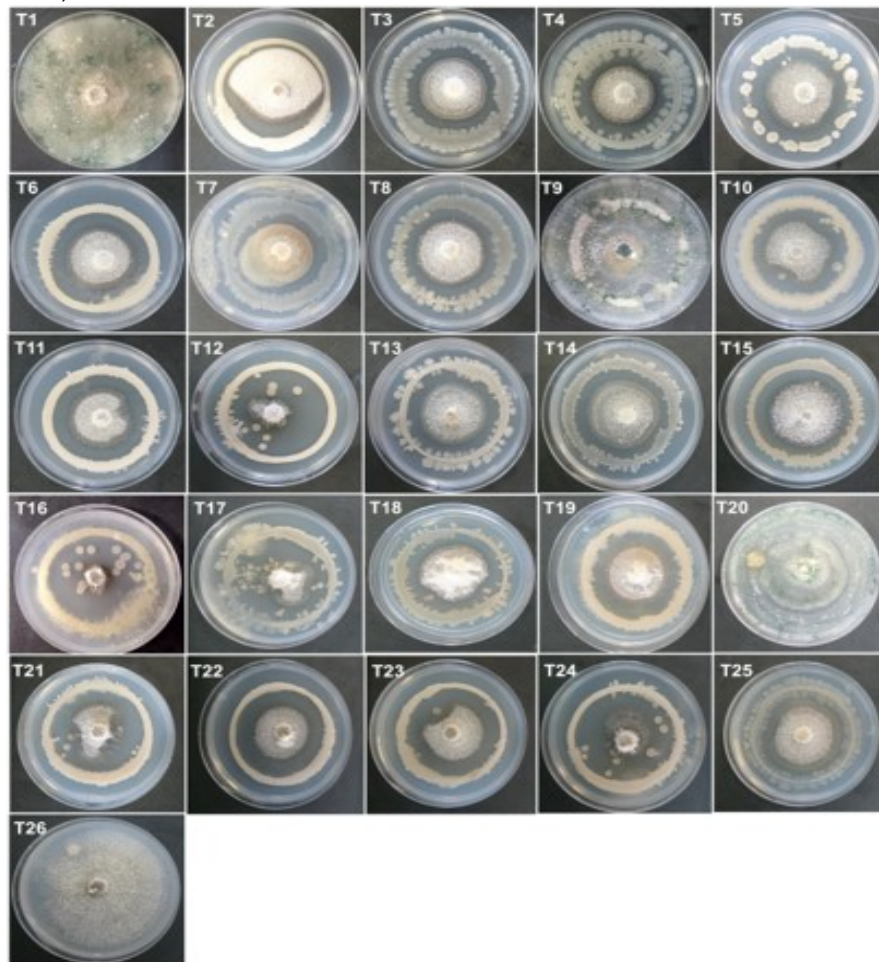


Os resultados obtidos do primeiro e do segundo experimentos respectivamente, serão apresentados pela ordem nos patógenos, iniciando pelo *F. crassistipitatum*, seguido por *F. tucumaniae*, *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla*.

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 2

No primeiro estudo observa-se que os 26 tratamentos utilizados como barreira no crescimento micelial de *F. crassistipitatum*, foram eficazes, pois a colônia do fungo não ultrapassou a mesma, estabelecendo seu desenvolvimento reduzido dentro da área circundada (Figura 13).

**Figura 13** – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *F. crassistipitatum* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Ainda, se observa que os tratamentos T1, T9 e T20 apresentaram grande desenvolvimento do agente de controle biológico *T. harzianum* fazendo com que o crescimento do patógeno fosse ainda menor (Figura 13).

E quanto aos tratamentos com *P. lilacinus* em sua maioria apresentaram desenvolvimento de bactérias contaminantes, impedindo obter resultados claros a respeito deste biocontrole.

Para a variável crescimento micelial das colônias de *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae* em função de sete tempos de avaliação (0; 24; 48; 72; 96; 120; 144 e 168 horas) do potencial antagonista de 26 produtos biológicos, verificou-se interação ( $\alpha=5\%$ ), entre os produtos e o tempo, indicando que há combinação desses fatores (Apêndice B). E os fatores isolados também foram significativos para ambos patógenos (Apêndice B).

O comportamento do crescimento micelial da colônia de *F. crassistipitatum* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para cada um dos tratamentos T1 (*T. harzianum*); T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T4 (*B. japonicum*); T5 (*P. lilacinus*); T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*); T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*) e; T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Figura 14; Tabela 10).

Dessa forma, é possível verificar que o máximo de crescimento (5,51 cm) foi obtido às 149,25 horas para o T1; T2 com 148,04 horas e 5,83 cm; T3 com 148,75 horas e 5,20 cm; T4 com 143 horas e 5,24 cm; T5 com 158,06 horas e 5,28 cm; T6 com 162,50 e 6,19 cm; T7 com 149,75 horas e 5,32 cm; T8 com 154,75 horas e 5,55 cm; T9 com 124,25 horas e 3,85 cm; T10 com 162,22 horas e 2,83 cm; T11 com 155,71 horas e 5,81 cm; T12 com 158,53 horas e 4,93 cm; T13 com 153,25 horas e 5,35 cm; T14 com 153,75 horas e 3,35 cm; e o tratamento T15 com 145,75 horas e com 4,82 cm (Figura 14; Tabela 10). Entre estes, o T4 foi o que apresentou maior desenvolvimento da colônia do patógeno, sendo tratamento não eficiente para controle deste fungo (Figura 15).

Já modelos de funções lineares explicam os tratamentos T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*); T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T.*

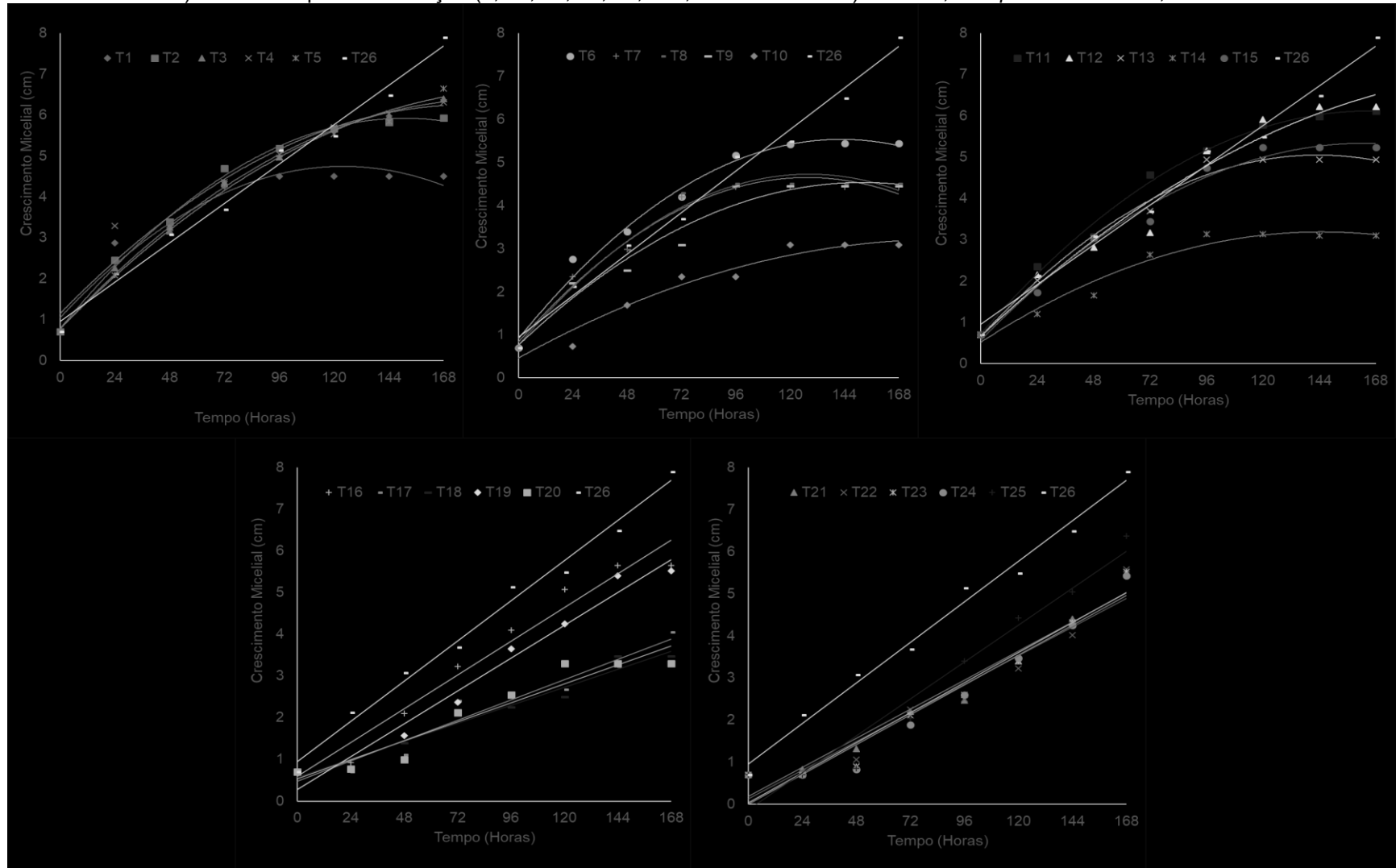
*harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*), T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*); T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e o T26 (Sem tratamento) (Figura 14; Tabela 10).

**Tabela 10** – Equação, ponto de máxima (P. máx.) (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de *F. crassistipitatum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legend a	Tratamentos	Equação	P. máx.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 1,0524 + 0,0597x - 0,0002x^2$	149,25	5,51	93,63
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,7854 + 0,0681x - 0,0002x^2$	148,04	5,83	99,40
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,7779 + 0,0595x - 0,0002x^2$	148,75	5,20	99,61
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 1,153 + 0,0572x - 0,0002x^2$	143,00	5,24	94,01
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7802 + 0,0569x - 0,0001x^2$	158,06	5,28	99,26
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,9108 + 0,065x - 0,0002x^2$	162,50	6,19	97,90
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,836 + 0,0599x - 0,0002x^2$	149,75	5,32	97,26
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7615 + 0,0619x - 0,0002x^2$	154,75	5,55	97,52
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7622 + 0,0497x - 0,0002x^2$	124,25	3,85	94,45
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,4628 + 0,0292x - 0,00008x^2$	162,22	2,83	93,17
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7195 + 0,0654x - 0,0002x^2$	155,71	5,81	99,14
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6583 + 0,0539x - 0,0001x^2$	158,53	4,93	95,01
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6578 + 0,0613x - 0,0002x^2$	153,25	5,35	98,30
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5163 + 0,0369x - 0,0001x^2$	153,75	3,35	94,84
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5683 + 0,0583x - 0,0002x^2$	145,75	4,82	97,98
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,5917 + 0,0338x$	-	-	96,05
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,4738 + 0,0203x$	-	-	93,49
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5666 + 0,018x$	-	-	96,32
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,2729 + 0,0328x$	-	-	97,00
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5417 + 0,0189x$	-	-	90,02
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,1843 + 0,0288x$	-	-	95,24
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,1343 + 0,0283x$	-	-	93,03
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,0374 + 0,0297x$	-	-	94,11
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,0041 + 0,0295x$	-	-	93,85
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = -0,123 + 0,0365x$	-	-	94,23
T26	Sem tratamento	$y = 0,9541 + 0,0401x$	-	-	98,64

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 14** - Crescimento micelial de *F. crassistipitatum* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72, 96, 120, 144 e 168 horas). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Logo, o crescimento micelial continuou aumentando de acordo com o tempo T17, T18 e T20, nota-se que apresentaram reduzido desenvolvimento, em virtude do tratamento controle que continha *T. Harzianum*, ter tido um maior desenvolvimento. Este mesmo comportamento ocorreu para T1, T8 e T9 (Figura 15).

A média de crescimento micelial final da colônia de *F. crassistipitatum* foi significativa, mostrando que há diferenças entre os tratamentos (Apêndice C). Os tratamentos T17, T18 e T20 obtiveram menores crescimentos. Esses tratamentos apresentavam em comum o uso de *T. harzianum* e ao menos uma bactéria em sua composição (Tabela 11).

A competição entre patógeno *T. harzianum* e bactéria possibilitou maior desenvolvimento dos agentes de controle biológico, proporcionando menor desenvolvimento do patógeno (Tabela 11; Figura 15).

**Tabela 11** - Média do crescimento micelial final de *F. crassistipitatum* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>F. crassistipitatum</i> (cm)
T1	<i>T. harzianum</i>	4,50 g
T2	<i>B. subtilis</i>	5,94 d
T3	<i>A. brasiliense</i>	6,40 c
T4	<i>B. japonicum</i>	6,31 c
T5	<i>P. lilacinus</i>	6,65 b
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	5,45 e
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,44 g
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	4,51 g
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,46 g
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	3,30 i
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	6,11 c
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,23 c
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,94 f
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,48 i
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,24 e
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,65 e
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	3,11 j
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,10 j
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5,53 e
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,09 j
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,50 e

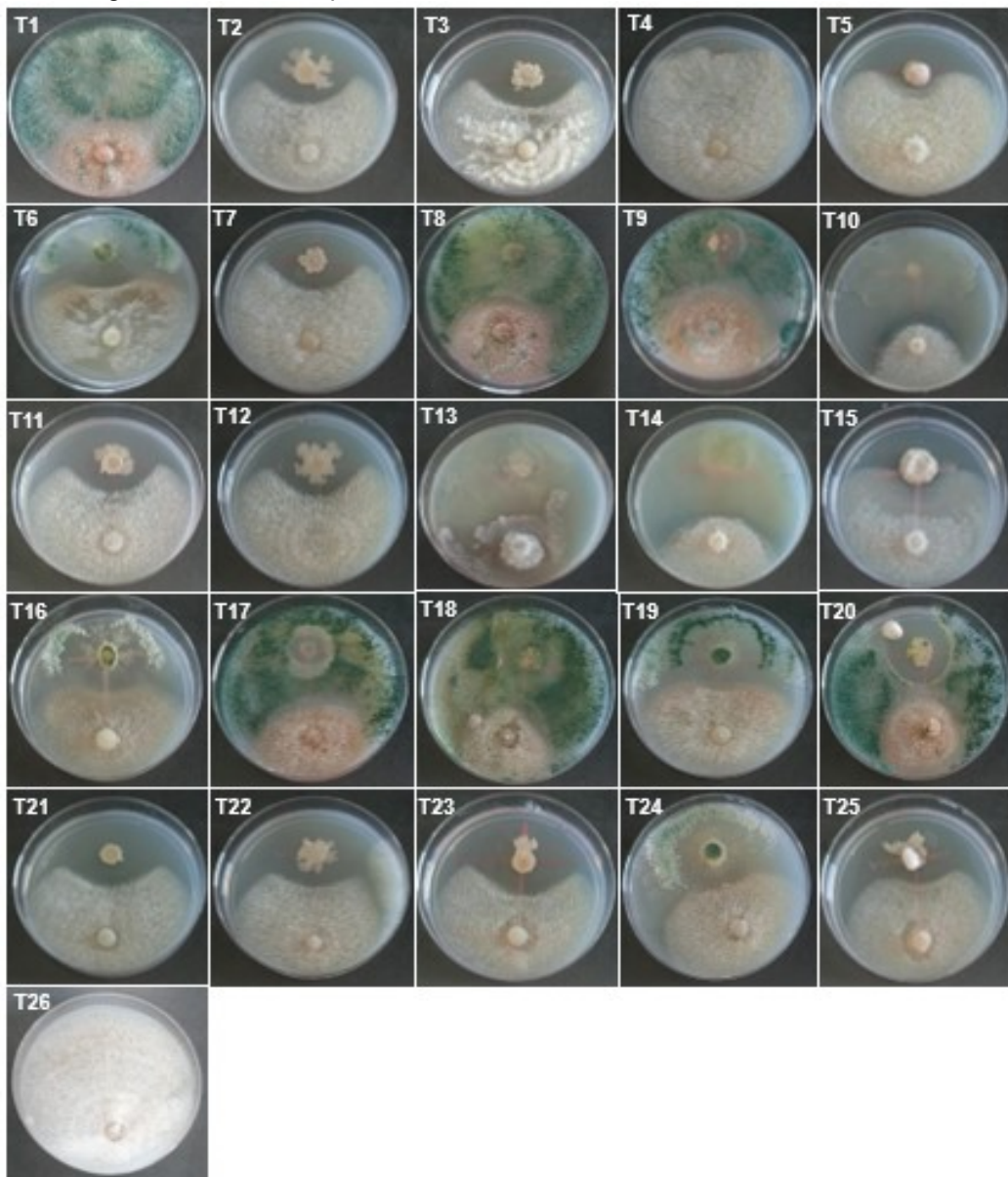
CONTINUA...

...continuação

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>F. crassistipitatum</i> (cm)
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,58 e
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,53 e
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,43 e
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,38 c
T26	Sem tratamento	7,90 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott.  
 Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 15** - Crescimento micelial de *F. crassistipitatum* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

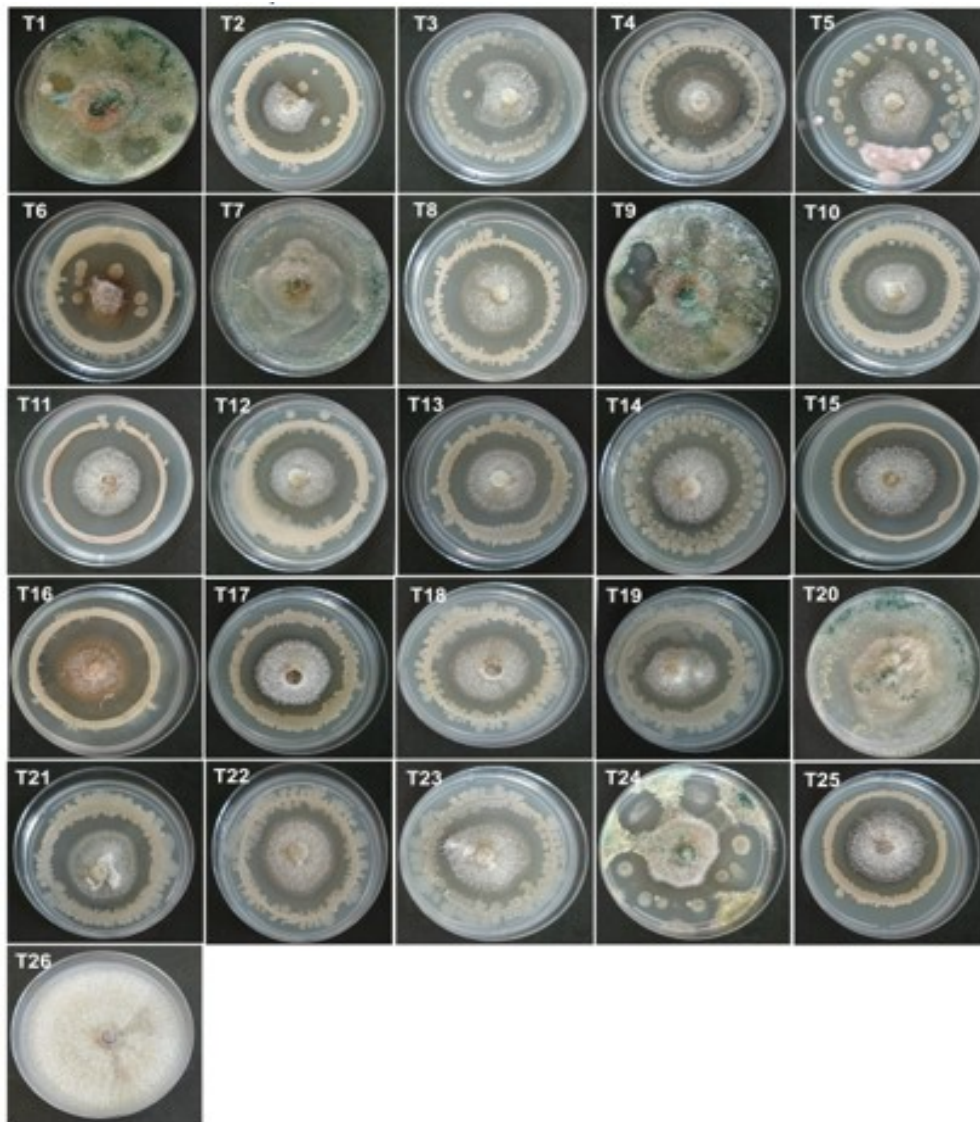


Fonte: Autoria própria (2020).

É possível visualizar que os tratamentos com associação de três biológicos apresentaram em sua maioria menores medias de crescimento micelial, seguido por a associação de dois biológicos, comparados ao uso dos biológicos isolados bem como com a sem tratamento (Tabela 11; Figura 15).

Para o *F. tucumaniae* o resultado foi similar ao relatado para o *F. crassistipitatum*, tendo conhecimento que ambos pertencem ao mesmo gênero era esperado comportamento semelhante (Figura 16).

**Figura 16** – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *F. tucumaniae* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Lima, Dos Santos e Rodrigues (2014), em experimento baseado no método de círculo utilizando 10 isolados de *Bacillus spp.* no antagonismo de a *F. oxysporum*, aos 10 dias observaram que todos mostraram efeito inibidor ao patógeno avaliado, ou seja, os tratamentos diferiram estatisticamente da sem tratamento.

A competição por espaço pode acelerar o desenvolvimento de mecanismos parasitários pelo *Trichoderma spp.* em relação ao crescimento do fitopatógeno (BRITO et al., 2010).

Utilizando esse mesmo método de avaliação Carvalho et al. (2011c), observaram que confrontando *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* com *Trichoderma*, os valores médios observados nas culturas no sétimo dia de cultivo, foram menores que a sem tratamento.

Já ao décimo terceiro dia de cultivo, observaram a colonização total de *Trichoderma* sobre a colônia do patógeno. No presente estudo foi observado comportamento semelhante onde este mesmo agente biológico colonizou o patógeno ( Figura 13, Figura 16, Figura 19, Figura 22, Figura 25 e Figura 28).

O comportamento do crescimento micelial de *F. tucumaniae* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T1 (*T. harzianum*); T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T4 (*B. japonicum*); T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*); T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*) e T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*) (Figura 17; Tabela 12).

Dessa forma, o máximo de crescimento de 5,56 cm foi obtido as 153,25 horas para o T1; seguido por T2 com 149,00 horas e 5,20 cm; T3 com 145,00 horas e 5,03 cm; T4 com 164,25 horas e 6,10 cm; T6 com 150 horas e 5,26cm; T7 com 165,67 horas e 4,90 cm; T8 com 149,25 horas e 5,27 cm; T9 com 128,75 horas e 3,59 cm; T10 com 167,89 e 3,49 cm; T11 com 79,75 horas e 1,95 cm; T13 com 134 horas e 4,47 cm e T21 com 167,97 e 4,41 cm (Tabela 12; Figura 17).

Já os tratamentos T5 (*P. lilacinus*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*); T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*); T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T.*



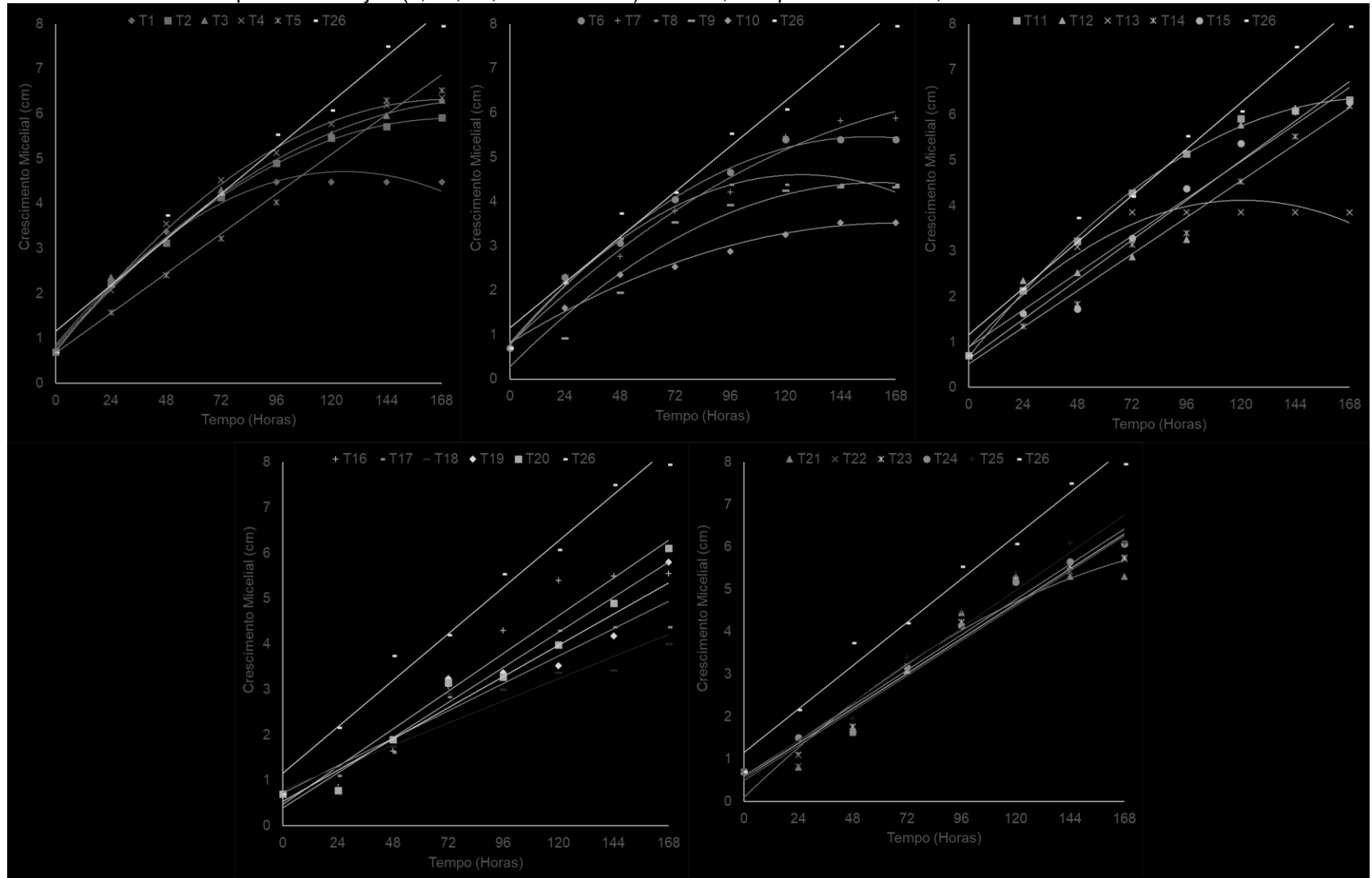
*harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*); T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T26 (Sem tratamento) (Figura 17; Tabela 12). Contudo, verificou-se então que o crescimento micelial do patógeno *F. tucumaniae* continuou aumentando em função do tempo (Figura 17; Tabela 12; Figura 13).

**Tabela 12** – Equação, ponto de máxima (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de *F. tucumaniae*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Equação	P. máx. /P. mín.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	Y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 0,862 + 0,0613x - 0,0002x^2$	153,25	5,56	98,04
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,7587 + 0,0596x - 0,0002x^2$	149,00	5,20	99,77
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,8211 + 0,058x - 0,0002x^2$	145,00	5,03	99,43
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 0,7026 + 0,0657x - 0,0002x^2$	164,25	6,10	99,75
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6771 + 0,0369x$	-	-	98,63
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,7646 + 0,06x - 0,0002x^2$	150,00	5,26	99,21
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,7858 + 0,0497x - 0,0001x^2$	165,67	4,90	97,99
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,8108 + 0,0597x - 0,0002x^2$	149,25	5,27	98,46
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,2776 + 0,0515x - 0,0002x^2$	128,75	3,59	93,32
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,8125 + 0,0319x - 0,00009x^2$	167,89	3,49	97,93
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6736 + 0,0634x - 0,0002x^2$	79,75	1,95	99,79
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,8896 + 0,034x$	-	-	90,98
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,881 + 0,0536x - 0,0002x^2$	134,00	4,47	95,67
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5155 + 0,0336x$	-	-	98,67
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6249 + 0,0364x$	-	-	96,76
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,4728 + 0,0346x$	-	-	92,80
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7196 + 0,0251x$	-	-	93,29
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7957 + 0,0203x$	-	-	90,93
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5312 + 0,0286x$	-	-	92,90
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,3979 + 0,0321x$	-	-	96,96
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,0927 + 0,0514x - 0,0001x^2$	167,97	4,41	91,62
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,4905 + 0,0344x$	-	-	94,90
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5427 + 0,0343x$	-	-	95,78
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5904 + 0,0347x$	-	-	97,04
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5458 + 0,037x$	-	-	96,02
T26	Sem tratamento	$y = 1,158 + 0,0426x$	-	-	97,92

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 17** - Crescimento micelial de *F. tucumaniae* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Os resultados permitem observar que o tratamento T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*) obteve máxima de crescimento do patógeno, com tempo relativamente menor que dos demais tratamentos, isso ocorreu devido ao rápido crescimento do agentes de biocontrole.

Com relação as médias de crescimento micelial final, o T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) apresentou o menor valor, diferindo de todos os demais, sendo o melhor tratamento para controle deste patógeno. Seguido deste tratamento foi o T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*), ambos com *T. harzianum*. Neste é possível observar que as menores médias de crescimento micelial do patógeno foram obtidas pelos tratamentos com associação de dois e três biológicos (Tabela 13; Figura 18).

**Tabela 13** - Média do crescimento micelial final de *F. tucumaniae* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>F. tucumaniae</i> (cm)
T1	<i>T. harzianum</i>	4,48 e
T2	<i>B. subtilis</i>	5,91 c
T3	<i>A. brasiliense</i>	6,30 b
T4	<i>B. japonicum</i>	6,35 b
T5	<i>P. lilacinus</i>	6,53 b
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	5,40 d
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,88 c
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	4,39 e
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,33 e
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	3,85 f
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	6,33 b
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,33 b
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,38 e
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,20 b
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,28 b
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,55 d
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,00 f
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,53 g
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5,80 c
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,10 b
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,30 d
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,70 c

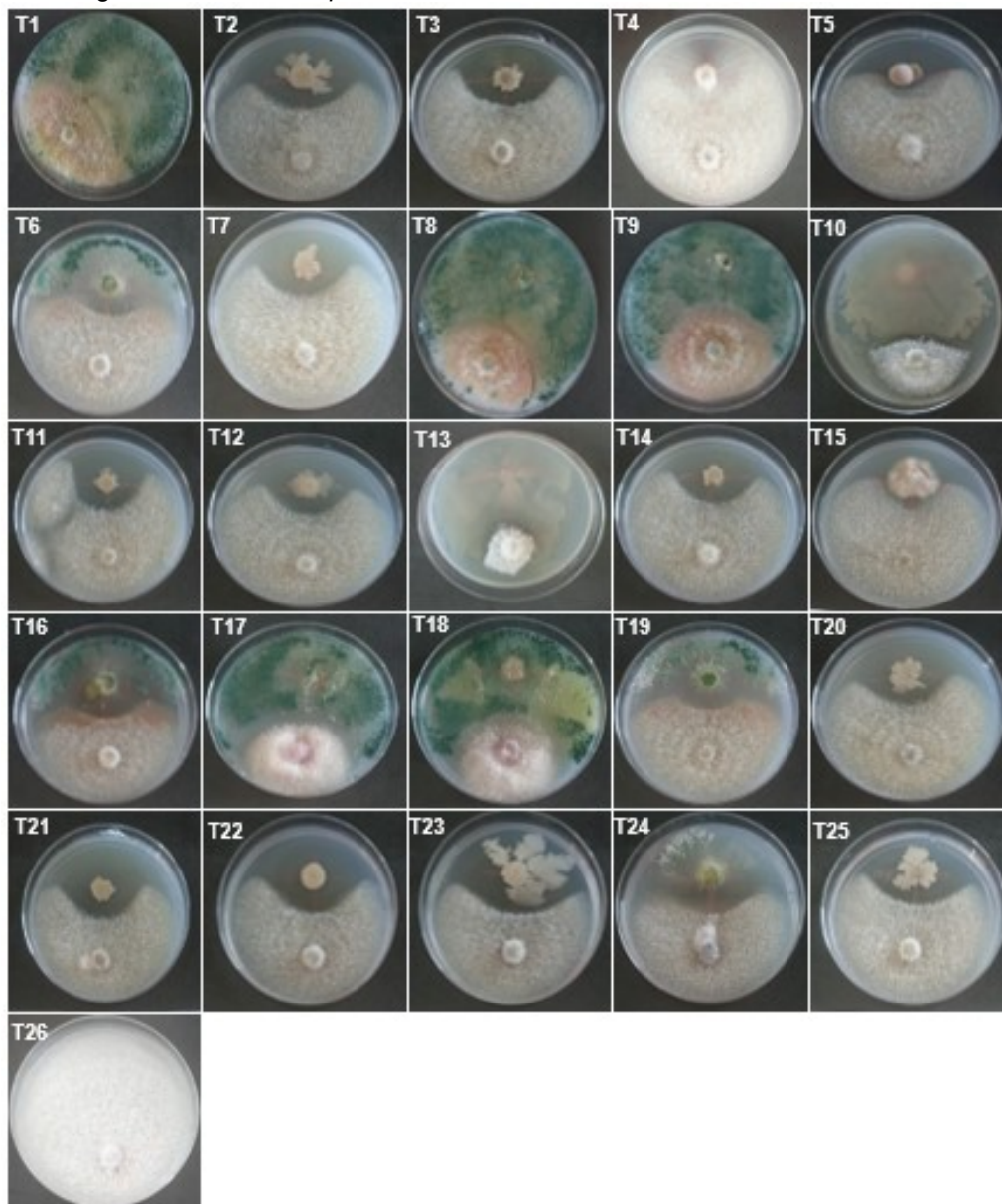
CONTINUA...

...continuação

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>F. tucumaniae</i> (cm)
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,75 c
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,08 b
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,10 b
T26	Sem tratamento	7,95 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott.  
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 18** - Crescimento micelial de *F. tucumaniae* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo Howell (2003) e Mahdizadehnaraghi et al. (2015), após a detecção de um hospedeiro fúngico adequado, o *Trichoderma spp.* pode afetar diretamente o mesmo com a produção de um antibiótico, formação de estruturas especializadas e degradação da parede celular hospedeira, seguida pela assimilação de seu conteúdo celular. Essas atividades antagônicas desse agente de controle biológico, foram observadas em condições *in vitro* por Mishra et al. (2011).

Estudos mostraram que as bactérias antagônicas são uma fonte importante das enzimas líticas para impedir a disseminação e diminuir a virulência de patógenos fúngicos (AKTUGANOV et al., 2008; KHABBAZ et al., 2015).

A bactéria *A. brasilense* é responsável pela liberação do ácido indol-3-acético (IAA) com muitas isoenzimas com pesos moleculares diferentes (GOPALAKRISHNAN et al., 2015). Alguns estudos mostram que compostos bioativos exsudados de *B. circulans* IAM 1165 e *B. subtilis* NSRS 89-24 *in vivo*, apresentam potencial para serem aplicados como fungicidas no controle de doenças causadas em bainhas de plantas de arroz (TABERNERO, 1994; LEELASUPHAKUL; PRANOM; SOUWALAK, 2006; IDRIS et al., 2007; YADI et al., 2013). Talvez, pela liberação de tais compostos a *A. brasilense* mostrou indícios de controle do crescimento micelial de *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae*.

Pereira Neto e Blum (2010), estudando o efeito *B. japonicum* para o biocontrole da podridão-do-colo do feijoeiro causada por *S. rolfsii*, em casa de vegetação utilizando solo artificialmente contaminado. Estes autores, verificaram que não houve redução na severidade da doença mediante a inoculação. O mesmo ocorreu para o presente estudo *in vitro*, onde, esse mesmo produto utilizado separadamente não controlou o crescimento micelial de *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae*. Todavia, quando utilizado em conjunto com outros produtos de controle biológico obteve excelentes resultados no controle destes patógenos (Tabela 11; Tabela 13).

Estudos mostram que o *B. subtilis* têm boa capacidade de produzir sideróforos secretados e cianeto de hidrogênio, que são muito tóxicos para organismos patogênicos (GOPALAKRISHNAN et al., 2015; ELHENDAWY; ABO-ELYOUSR, 2016). Devido a isto, existem relatos na literatura mostrando que a bactéria exerce controle sobre ampla gama de patógenos (TENDULKAR et al., 2007; ZHANG et al., 2012; ZHAO; KUIPERS, 2016;

ZHAO et al., 2016). Verifica-se este efeito, inclusive no presente estudo com *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae*, evidenciando-se que quando em associação com agentes de biocontrole, tais como *T. harzianum* e *A. Brasiliense*, o controle se torna ainda mais efetivo.

Para o patógeno *R. Solani*, os 26 tratamentos foram eficientes e mantiveram o crescimento do fungo dentro da circunferência, mesmo com a agressividade deste tendo seu desenvolvimento muito próximo aos agentes de controle biológico (Figura 19).

**Figura 19** - Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *R. solani* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Nechet et al. (2011) ao avaliarem diferentes isolados de rizobactérias com potencial antagonico para mela do feijão (*R. solani*) e estes autores, obtiveram controle de 33% a 96% da doença, demonstrando semelhança, ou mesmo superioridade aos alcançados com controle químico. No presente estudo usado o halo de inibição, verificou-se que as bactérias utilizadas foram eficientes e serviram como barreira de inibição para o crescimento deste mesmo fungo (Figura 19).

Para a variável crescimento micelial de *R. Solani*, em função de cinco tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 e 96 horas) do potencial antagonista de 26 produtos biológicos, verificou interação ( $\alpha= 5\%$ ), entre os produtos e o tempo, indicando que existe efeito combinado desses fatores (Apêndice B). Os fatores isolados também foram significativos ( $\alpha= 5\%$ ) (Apêndice B).

O comportamento do crescimento micelial de *R. solani* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T1 (*T. harzianum*); T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*) e T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*) (Figura 20; Tabela 14).

Da mesma forma o comportamento do crescimento micelial de *R. solani* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*); T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*) e T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Figura 20; Tabela 14).

Dessa forma, é possível verificar que com 88,71 horas *R. solani* obteve o máximo de crescimento micelial sendo 3,33 cm T1; T6 com 93,61 horas obteve 3,71 cm; T7 com 95,29 horas obteve 3,77 cm; T8 com 95,28 horas obteve 3,83 cm; T9 com 95,28 horas obteve 3,85 cm; T13 com 96 horas obteve 3,32 cm; T16 com 95,14 horas obteve 3,73 cm; T17 com 91,86 horas obteve 3,50 cm; T18 com 96 horas obteve 3,34 cm; T19 com 79,50 obteve 3,13 cm; T20 com 93,33 horas obteve 3,22 cm; T21 com 93,55 horas obteve 3,38 cm; T22 com 94,35 horas obteve 3,44 cm; T23 com 86,43 horas obteve 3,25

cm; T24 com 96 horas obteve 3,48 cm e T25 com 92,75 obteve 3,98 cm (Figura 20; Tabela 14).

Já, funções lineares explicaram os tratamentos T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T4 (*B. japonicum*); T5 (*P. lilacinus*); T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T26 (Sem tratamento) (Figura 20; Tabela 14).

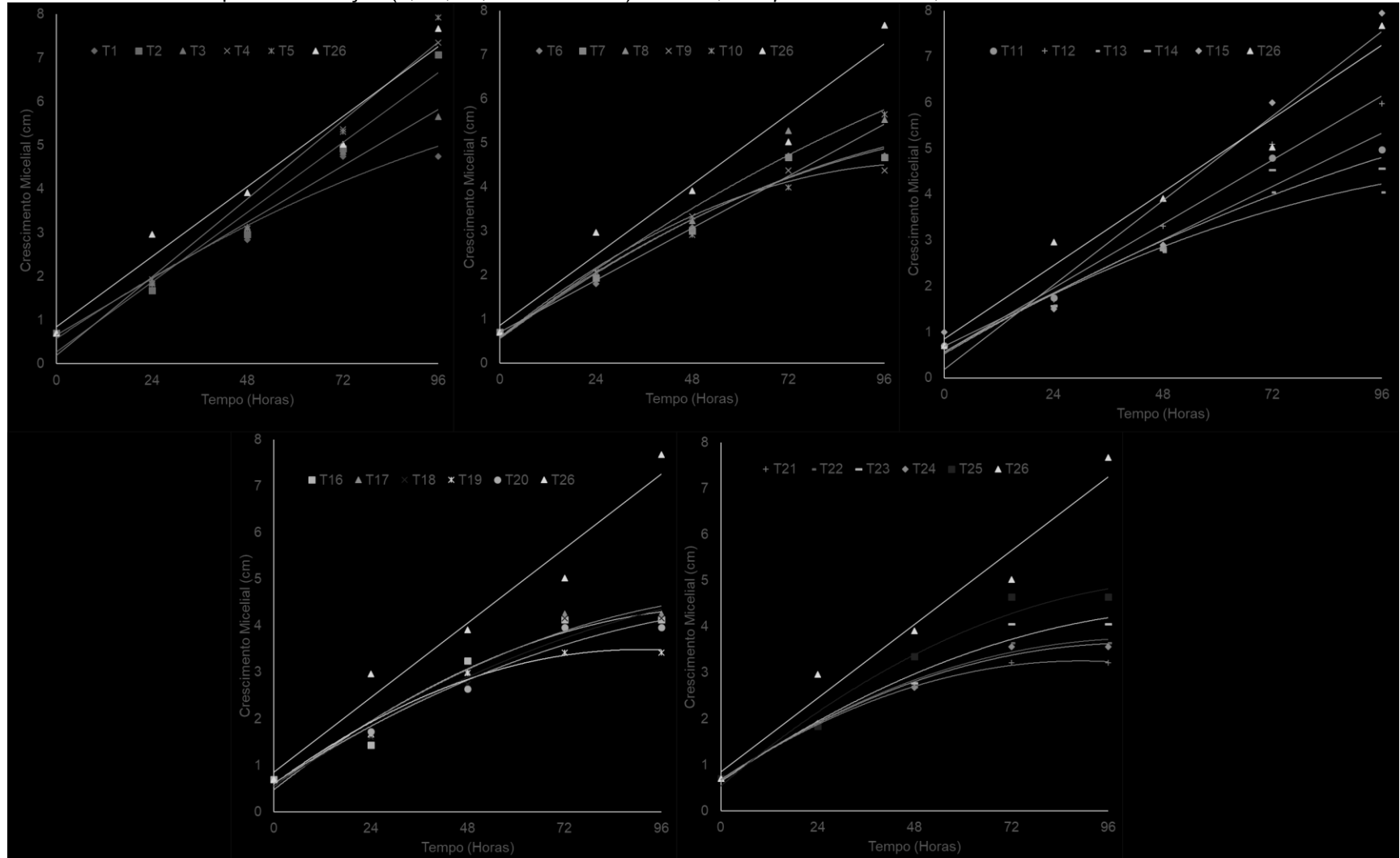
**Tabela 14** – Equação, ponto de máxima (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de *R. solani*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Equação	P. máx. / P. mín.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 0,5778+0,0621x-0,0003x^2$	88,71	3,33	91,72
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,2674+0,0667x$	-	-	96,62
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,655+0,0538x$	-	-	98,70
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 0,8522+0,0667x$	-	-	97,29
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,1898+0,0747x$	-	-	95,50
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,5507+0,0674x-0,0003x^2$	93,61	3,71	93,77
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,5938+0,0667x-0,0003x^2$	95,29	3,77	94,01
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,565+0,0686x-0,0003x^2$	95,28	3,83	94,37
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,58+0,0742x-0,0003x^2$	95,28	3,85	97,08
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,6992+0,0493x$	-	-	98,36
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6924+0,0483x$	-	-	94,65
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5674+0,0581x$	-	-	98,44
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5597+0,0576x-0,0003x^2$	96,00	3,32	93,81
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5257+0,0583x-0,0001x^2$	-	-	91,40
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = -0,04+0,0783x$	-	-	94,01
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,4748+0,0685x-0,0003x^2$	95,14	3,73	91,13
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5474+0,0643x-0,0003x^2$	91,86	3,50	94,55
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5579+0,0578x-0,0003x^2$	96,00	3,34	93,32
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,599+0,0636x-0,0004x^2$	79,50	3,13	96,62
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6111+0,056x-0,0003x^2$	93,33	3,22	94,56
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6699+0,058x-0,0003x^2$	93,55	3,38	99,63
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6761+0,0585x-0,0003x^2$	94,35	3,44	97,67
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6322+0,0605x-0,0002x^2$	86,43	3,25	95,70
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6757+0,058x-0,0003x^2$	96,00	3,48	98,13
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5395+0,0742x-0,0004x^2$	92,75	3,98	95,34
T26	Sem tratamento	$y = 0,8522+0,0667x$	-	-	95,60

Fonte: Autoria própria (2020).



**Figura 20** - Crescimento micelial de *R. solani* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

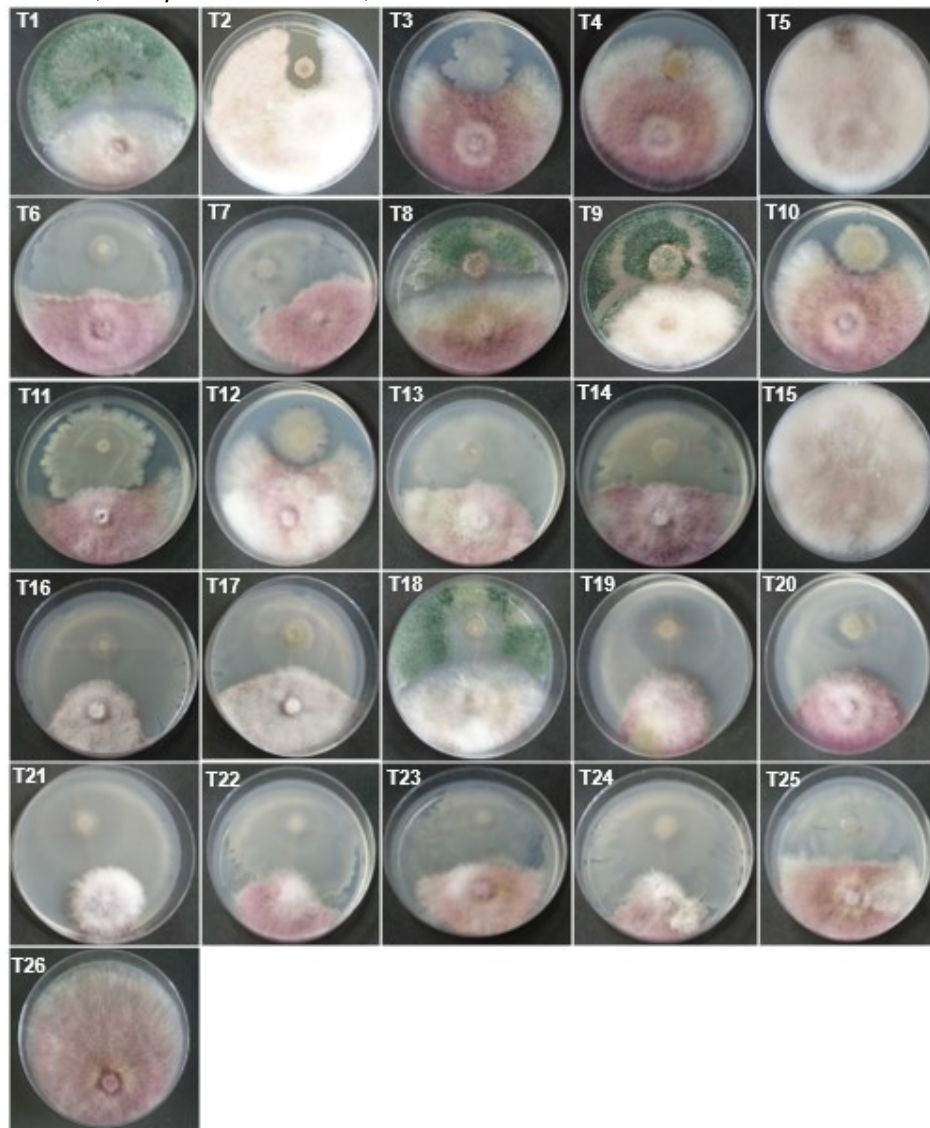
A média do crescimento micelial final de *R. solani* foi menor utilizando com T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*), seguido de T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*) e T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Tabela 15). As menores médias de crescimento micelial foram obtidas pelos tratamentos com associação de três biológicos, seguido da utilização conjunta de dois biológicos (Tabela 15; Figura 21).

**Tabela 15** - Média do crescimento micelial final de *R. solani* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>R. solani</i> (cm)
T1	<i>T. harzianum</i>	4,75 e
T2	<i>B. subtilis</i>	7,08 b
T3	<i>A. brasiliense</i>	5,65 d
T4	<i>B. japonicum</i>	7,35 b
T5	<i>P. lilacinus</i>	7,93 a
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	4,70 e
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,68 e
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	5,53 d
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,38 f
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,65 d
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	4,98 e
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,98 c
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,05 f
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,56 e
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	7,95 a
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,13 f
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,25 f
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,16 f
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	3,43 g
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,96 f
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	3,21 g
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,65 g
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,06 f
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,56 g
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,65 e
T26	Sem tratamento	7,68 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott.  
Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 21** - Crescimento micelial de *R. solani* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Chagas Júnior et al. (2018), estudaram isolados de *Trichoderma spp.*, para controle de *R. Solani* e destes, 22 inibiram o crescimento micelial do patógeno e outros 27 isolados foram considerados ineficientes para este fim. O uso deste biocontrole foi muito eficiente isoladamente ou em conjunto com outros produtos para controle de *R. solani*, no presente estudo.

Mayo et al. (2015), estudando isolados de *Trichoderma* no controle de *R. solani* verificaram que estes foram capazes de controlar o crescimento do patógeno. A

porcentagem de inibição de crescimento nos ensaios de confronto direto elevou valores de até 72,77%, mas a maioria dos isolados estava entre 47 e 24%.

Amorim e Melo (2002) ao estudarem a ação antagonista de rizobactérias contra dois fungos habitantes do solo *Phytophthora icotianae* e *P. citrophthora* em citros. Verificaram os autores, que sete isolados bacterianos apresentaram atividade antagonista à *Phytophthora spp.* e dentre eles os mais significativos na inibição do crescimento micelial pertenciam ao gênero *Bacillus*. Os mesmos autores, acreditam que os mecanismos de ação dessas rizobactérias em controlar os fitopatógenos estejam relacionados a produção de compostos tóxicos (antibiose) e de sideróforos (competição por ferro).

Na literatura constam relatos que *B. subtilis* e *A. brasilense* possuem grande potencial para deter o crescimento micelial de patógenos. Tais microrganismos circundam o micélio e esporos dos fungos, antes de destruí-los gradualmente através da produção de enzimas líticas extracelulares e antibióticos. Esta produção lhes confere a característica de atuarem como fortes agentes de biocontrole contra fungos e além disso, esses efeitos são maiores quando utilizados com outros organismos antagonistas (BEHDANI et al., 2012; BAO et al., 2013; SARAF; PANDYA; THAKKAR, 2014).

Relata-se que o *B. subtilis* possui potencial de produzir enzimas degradantes da parede celular (CDWEs) demonstrando ser um biocontrole eficiente através da liberação de enzimas extracelulares protease e lipase (HAMDIA et al., 2014).

Também encontra-se na literatura relatos de Ali et al. (2017), os quais verificaram que o *B. subtilis* inibiu o crescimento micelial de *F.oxysporum*, *F.solani*, *T.cucumeris*, *A.tenuissima*, *C.lunata*, *N.oryzae*, *B.spicifera* e *A.alternata*.

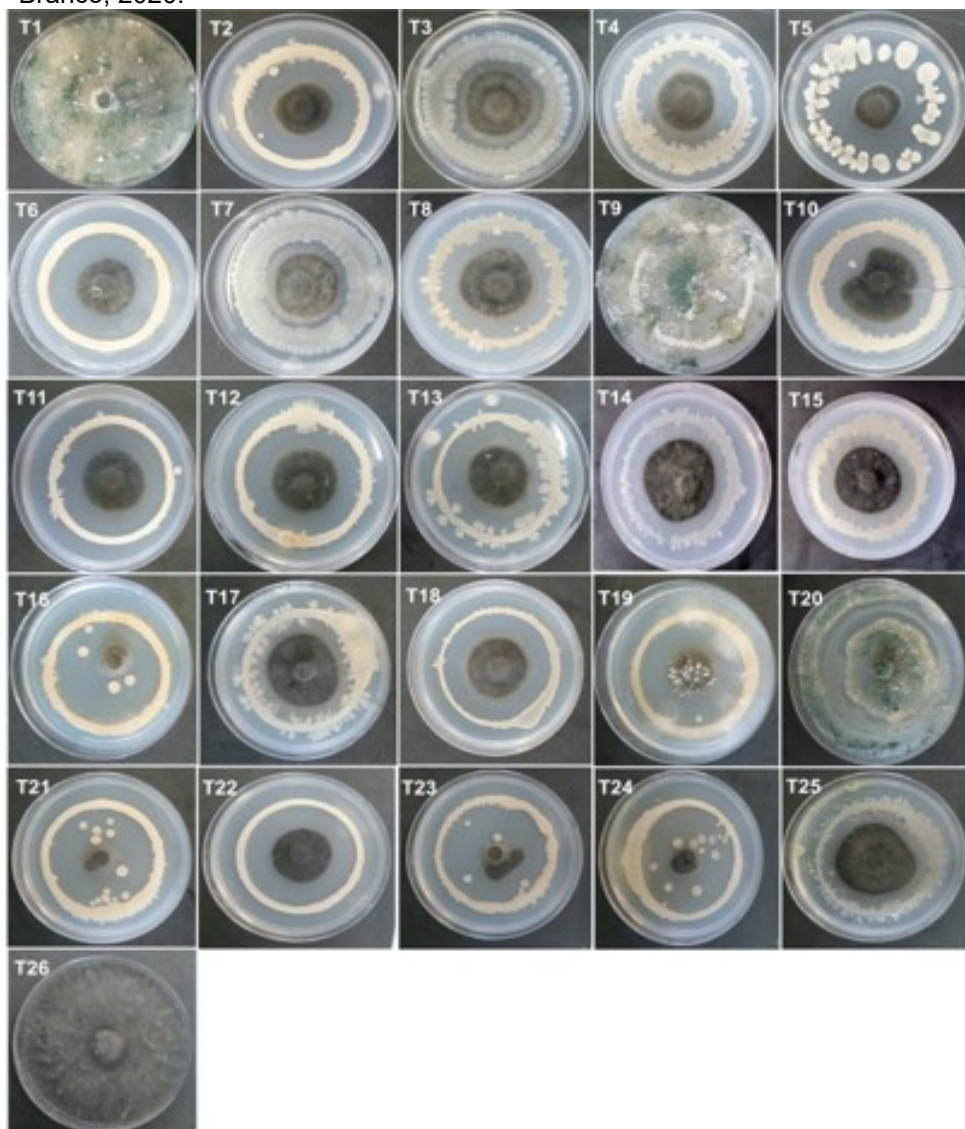
Os fungos pertencentes ao gênero *Paecilomyces* podem sintetizar uma ampla gama de compostos bioativos, incluindo a atividade da acetilcolinesterase inibidora do alcalóide de piridona (TELES; TAKAHASHI 2013).

Segundo Perelló et al. (2002) o *P. lilacinus*, possui grande potencial em ensaios in vitro, como agente de biocontrole contra doenças causadoras de manchas foliares do trigo na Argentina. Larran et al. (2016), verificaram que *T. hamatum*, *Penicillium sp.*, *Bacillus sp.* e *P. lilacinus* reduziram significativamente o diâmetro da colônia do patógeno

*Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem (Dtr). Todavia, não foi eficiente no controle de *R. solani*.

Para o fungo *M. phaseolina* no presente trabalho, o crescimento também foi impedido por todas as barreiras impostas pelos 26 tratamentos. Em alguns como nos tratamentos T16, T21, T23 e T24, que tiveram desenvolvimento ainda menor e, apresentavam em comum, *B. subtilis* em sua formulação (Figura 22).

**Figura 22** – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *M. phaseolina* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

O *B. subtilis* é uma das bactérias mais estudadas no controle biológico, sua atividade in vitro, demonstra ação antifúngica em amplo espectro de patógenos devido à secreção de metabólitos que produzem alterações estruturais nas células fúngicas (NASCIMENTO et al., 2016).

O emprego de testes de antagonismo in vitro é importante no processo de seleção de isolados para biocontrole. Fornece informações sobre a eficiência e a variabilidade dos isolados quanto à capacidade de colonização das estruturas do patógeno e o potencial de hiperparasitismo e competição por espaço e nutrientes. Da mesma forma fornecem a suscetibilidade de patógenos aos respectivos agentes em condições controladas (AULER; CARVALHO; MELLO, 2013).

Para a variável crescimento micelial de *M. phaseolina* em função de cinco tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 e 96 horas) do potencial antagonista dos 26 produtos biológicos, verificou interação ( $\alpha = 5\%$ ), entre os produtos e o tempo. Indicando assim que houve combinação desses fatores (Apêndice B). Os fatores isolados também foram significativos ( $\alpha = 5\%$ ) (Apêndice B).

O comportamento do crescimento micelial de *M. phaseolina* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T1 (*T. harzianum*); T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T5 (*P. lilacinus*); T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*) e T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*) (Figura 23; Tabela 16).

Dessa forma, é possível verificar que com 95,45 horas *M. phaseolina* obteve o máximo de crescimento micelial sendo 5,56 cm para T1; para o T2 com 82,25 horas obteve 6,31 cm; para T3 com 95,48 obteve 6,19 cm; para T5 com 95,63 horas obteve 4,28 cm; para T6 com 93,50 horas obteve 4,01 cm; para T7 com 96,06 horas obteve 4,73 cm; para T8 com 95,77 horas obteve 5,21 cm e para T10 com 95,98 obteve 5,95 cm (Figura 23; Tabela 16).

Já funções lineares explicam os tratamentos T4 (*B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Figura 23; Tabela 16).

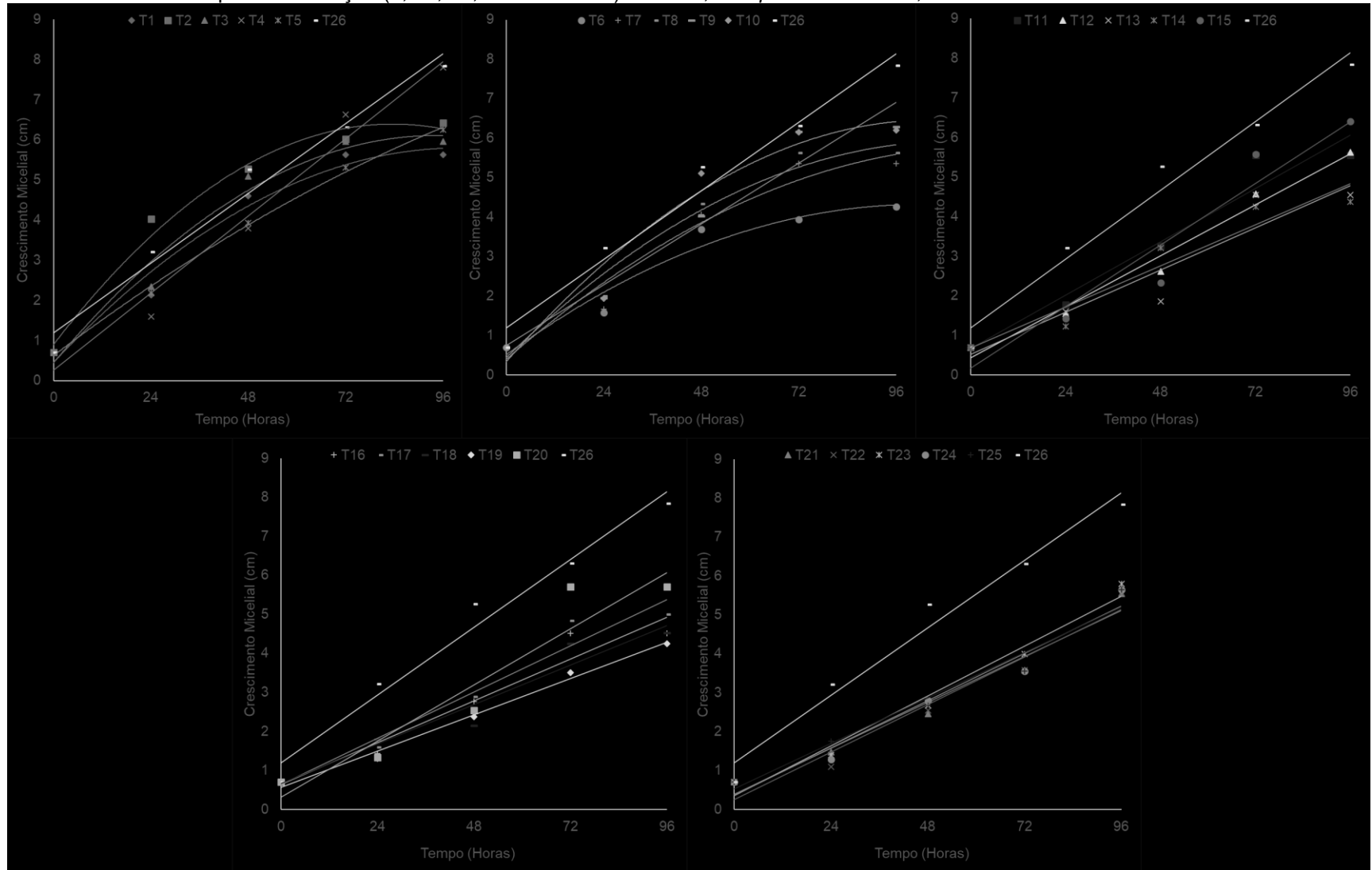
Da mesma forma, funções lineares explicam os tratamentos T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*); T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*) e T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T26 (Sem tratamento) (Figura 23; Tabela 16).

**Tabela 16** – Equação, ponto de máxima (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de *M. phaseolina*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Equação	P. máx. / P. mín.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 0,4538+0,1069x-0,0005x^2$	95,45	5,56	94,52
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,8962+0,1316x-0,0008x^2$	82,25	6,31	96,82
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,4442+0,1203x-0,0006x^2$	95,48	6,19	94,48
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 0,26+0,0801x$	-	-	96,47
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6228+0,0765x-0,0004x^2$	95,63	4,28	99,48
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,5119+0,0748x-0,0004x^2$	93,50	4,01	90,17
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,3935+0,0903x-0,0004x^2$	96,06	4,73	91,03
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,4411+0,0996x-0,0005x^2$	95,77	5,21	90,64
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7476+0,0641x$	-	-	93,71
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,3328+0,1171x-0,0006x^2$	95,98	5,95	90,36
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6724+0,0561x$	-	-	92,83
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,4374+0,0536x$	-	-	97,35
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5224+0,0444x$	-	-	85,32
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6774+0,0432x$	-	-	90,04
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,175+0,0648x$	-	-	90,62
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,64+0,0446x$	-	-	92,44
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6374+0,0493x$	-	-	94,30
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,665+0,0421x$	-	-	92,09
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,565+0,0388x$	-	-	98,76
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,3174+0,0599x$	-	-	88,02
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,39+0,0492x$	-	-	95,25
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,255+0,0509x$	-	-	94,29
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,355+0,0533x$	-	-	97,01
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,3648+0,0507x$	-	-	94,89
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,525+0,0488x$	-	-	95,27
T26	Sem tratamento	$y = 1,1898+0,0724x$	-	-	96,65

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 23** - Crescimento micelial de *M. phaseolina* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).



A média do crescimento micelial de *M. phaseolina* foi menor utilizando T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); seguido de T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*) e T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Tabela 17; Figura 24).

**Tabela 17** - Média do crescimento micelial final de *M. phaseolina* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

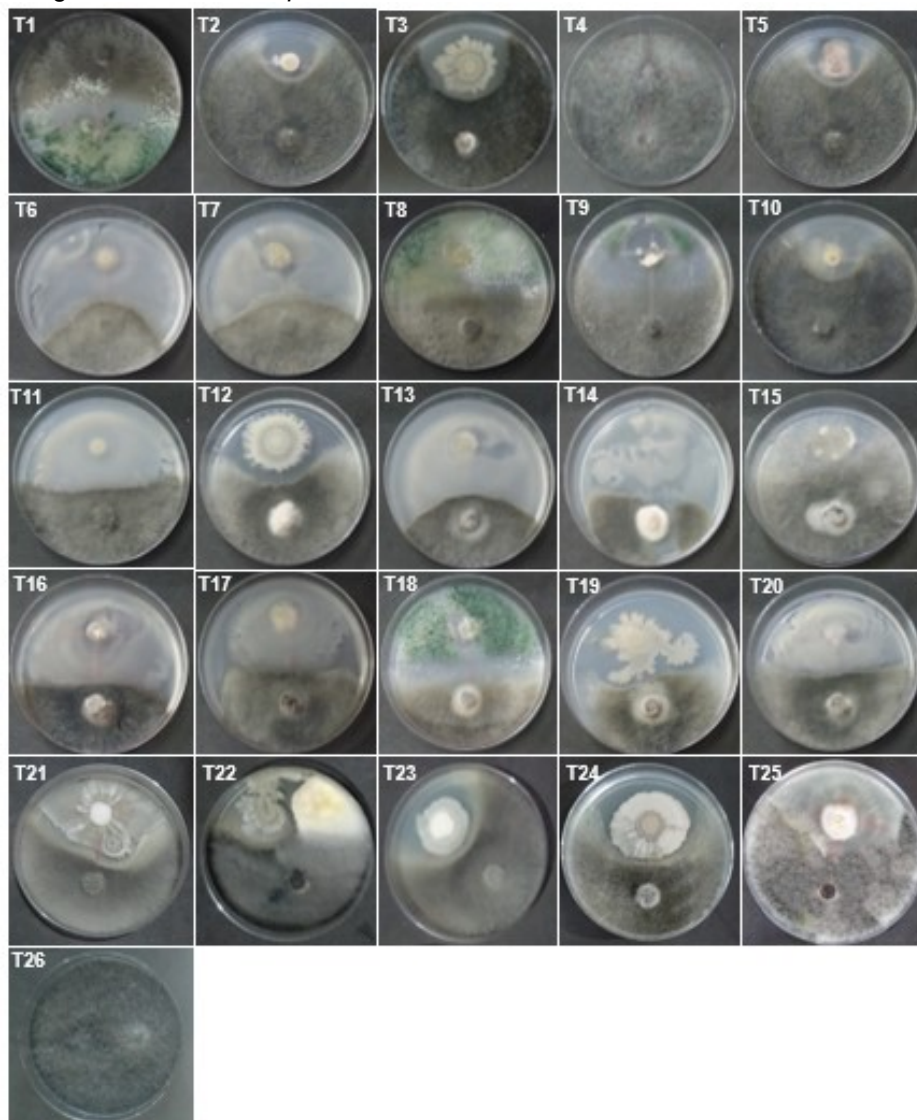
Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>M. phaseolina</i> (cm)
T1	<i>T. harzianum</i>	5,63 c
T2	<i>B. subtilis</i>	6,43 b
T3	<i>A. brasiliense</i>	5,96 b
T4	<i>B. japonicum</i>	7,80 a
T5	<i>P. lilacinus</i>	6,25 b
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	4,26 e
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,35 c
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	5,63 c
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,29 b
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	6,20 b
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5,55 c
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,63 c
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,62 c
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,38 c
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,40 b
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,51 e
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,00 d
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,53 e
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	4,25 e
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,70 c
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,55 c
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,58 c
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,80 c
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,65 c
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,65 c
T26	Sem tratamento	7,84 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott.  
Fonte: Autoria própria (2020).

As menores médias de crescimento micelial final foram obtidas pelos tratamentos com associação de três biológicos, seguido da associação de dois

biológicos (Tabela 17; Figura 24). De todos os tratamentos com melhor desempenho apenas T18 não havia *B. subtilis* em sua composição, e todos continham *T. harzianum*.

**Figura 24** - Crescimento micelial de *M. phaseolina* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

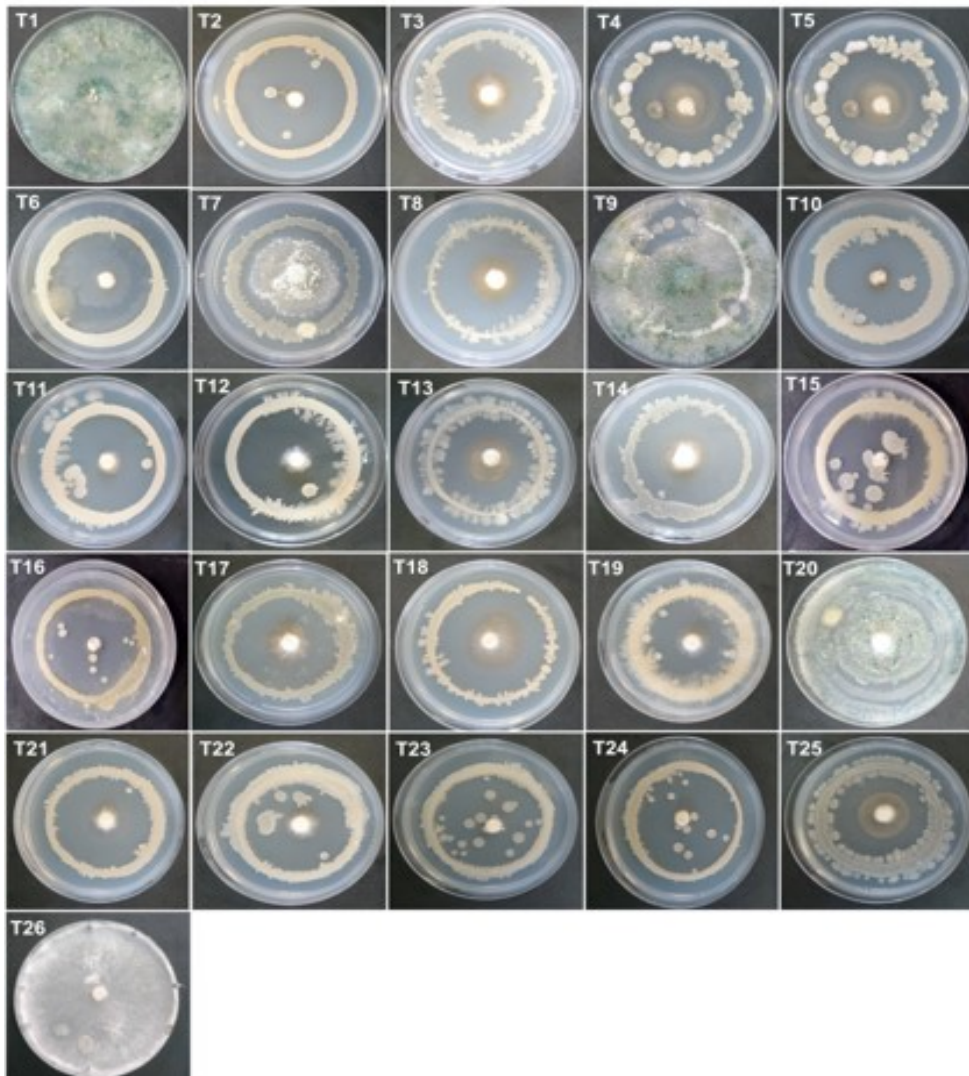
A inibição exercida por *B. subtilis*, no controle de patógenos habitantes do solo como *M. phaseolina*, acontece mediante produção de compostos orgânicos voláteis que inibem o crescimento micelial desses (GACITÚA et al., 2009).

O biocontrole exercido pelo fungo *Trichoderma* tem relação com a produção de metabólitos, enzimas, antibióticos e por mecanismos como competição por nutrientes (HOWELL 2003; VINALE et al., 2008; MAHDIZADEHNARAGHI et al., 2015).

Estas informações sobre os microrganismos de controle podem ser atribuídas às respostas obtidas no presente estudo em relação ao fungo *M. phaseolina* (Tabela 17; Figura 24). Além disso, o uso destes em conjunto pode ter proporcionado maior eficiência de controle.

O fungo *S. sclerotiorum* apresentou alta sensibilidade a todos os tratamentos testados comparado ao tratamento sem tratamento onde apresentou até mesmo formação de escleródios. Se observou que na tentativa de se desenvolver obteve escurecimento das hifas (Figura 25).

**Figura 25** - Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *S. sclerotiorum* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Para a variável crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função dos cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas) do potencial antagonista dos 26 produtos biológicos, verificou-se interação ( $\alpha= 5\%$ ), entre os produtos e o tempo, indicando assim que houve combinação desses fatores (Apêndice B). Os fatores isolados também foram significativos ( $\alpha= 5\%$ ) (Apêndice B).

O comportamento do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T1 (*T. harzianum*); T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T5 (*P. lilacinus*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*); T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*) e T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Figura 26; Tabela 18).

Da mesma forma o comportamento do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*); T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T24 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*) e T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) (Figura 26; Tabela 18).

Dessa forma, é possível verificar que com 95,94 horas o patógeno *S. sclerotiorum* obteve o máximo de crescimento micelial de 5,60 cm para o tratamento T1; T2 com 84,92 horas obteve 4,96 cm; T3 com 95,29 horas obteve 5,24 cm; T5 com 73,25 horas obteve 6,10 cm; T7 com 94,32 horas obteve 4,49 cm; T8 com 94,92 horas obteve 6,03 cm; T9 com 90,90 horas obteve 4,71 cm; T10 com 95,98 horas obteve 5,43 cm; T11 com 81,43 horas obteve 5,22 cm; T12 com 92,92 horas obteve 5,80 cm; T13 com 93,42 horas obteve 5,56 cm; T14 com 85,25 horas obteve 5,03 cm; T16 com 93 horas obteve 4,97 cm; T17 com 94,81 horas obteve 5,60 cm; T18 com 86,07 horas obteve 5,83 cm; T19 com 70,80 horas obteve 3,30 cm; T20 com 95,38 horas obteve 5,27 cm, T21 com 83,50 horas obteve 5,58 cm; T22 com 79 horas obteve 5,02 cm; T23 com 81,07 horas

obteve 5,26 cm; T24 com 87,92 horas obteve 5,28 cm e T25 com 84,36 horas obteve 5,63 cm (Figura 26; Tabela 18).

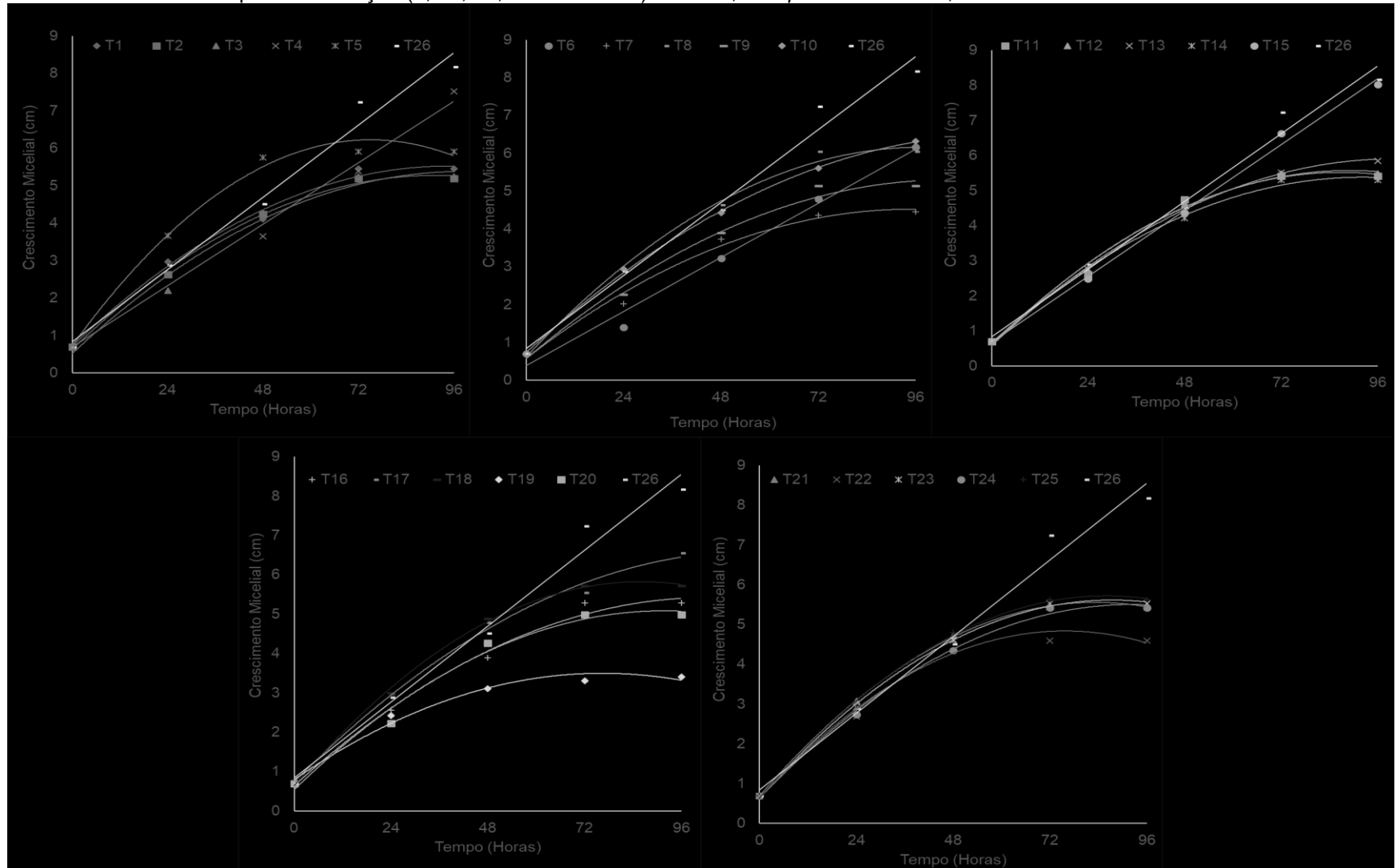
Já funções lineares explicam os tratamentos T4 (*B. japonicum*); T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T26 (Sem tratamento) (Figura 26; Tabela 18).

**Tabela 18** – Equação, ponto de máxima (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado, referentes ao crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Equação	P. máx. / P. mín.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	Y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 0,7204 + 0,1017x - 0,0005x^2$	95,94	5,60	98,42
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,6378 + 0,1019x - 0,0006x^2$	84,92	4,96	99,47
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,5204 + 0,0991x - 0,0005x^2$	95,29	5,24	96,52
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 0,6998 + 0,0683x$	-	-	98,42
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7299 + 0,1465x - 0,001x^2$	73,25	6,10	98,36
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,3926 + 0,0596x$	-	-	98,16
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,58 + 0,083x - 0,0005x^2$	94,32	4,49	97,42
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6225 + 0,1139x - 0,0006x^2$	94,92	6,03	98,93
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5738 + 0,0909x - 0,0004x^2$	90,90	4,71	97,66
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,7364 + 0,0979x - 0,0005x^2$	95,98	5,43	99,87
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5753 + 0,114x - 0,0007x^2$	81,43	5,22	98,02
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,616 + 0,1115x - 0,0006x^2$	92,92	5,80	99,27
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5837 + 0,1065x - 0,0006x^2$	93,42	5,56	98,44
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6657 + 0,1023x - 0,0006x^2$	85,25	5,03	99,50
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6848 + 0,0783x$	-	-	99,50
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,6435 + 0,093x - 0,0005x^2$	93,00	4,97	98,21
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7463 + 0,1024x - 0,0004x^2$	94,81	5,60	99,06
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6454 + 0,1205x - 0,0007x^2$	86,07	5,83	99,70
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7961 + 0,0708x - 0,0005x^2$	70,80	3,30	96,52
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,5419 + 0,0992x - 0,0005x^2$	95,38	5,27	96,73
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6968 + 0,1169x - 0,0007x^2$	83,50	5,58	99,98
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6538 + 0,1106x - 0,0007x^2$	79,00	5,02	96,67
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6596 + 0,1135x - 0,0007x^2$	81,07	5,26	99,82
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6409 + 0,1055x - 0,0006x^2$	87,92	5,28	99,45
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6488 + 0,1181x - 0,0007x^2$	84,36	5,63	99,73
T26	Sem tratamento	$y = 0,8402 + 0,0804x$	-	-	97,94

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 26** - Crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

A média do crescimento micelial final de *S. sclerotiorum* foi menor utilizando tratamento T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*) o qual diferiu de todos os demais (Tabela 19; Figura 27).

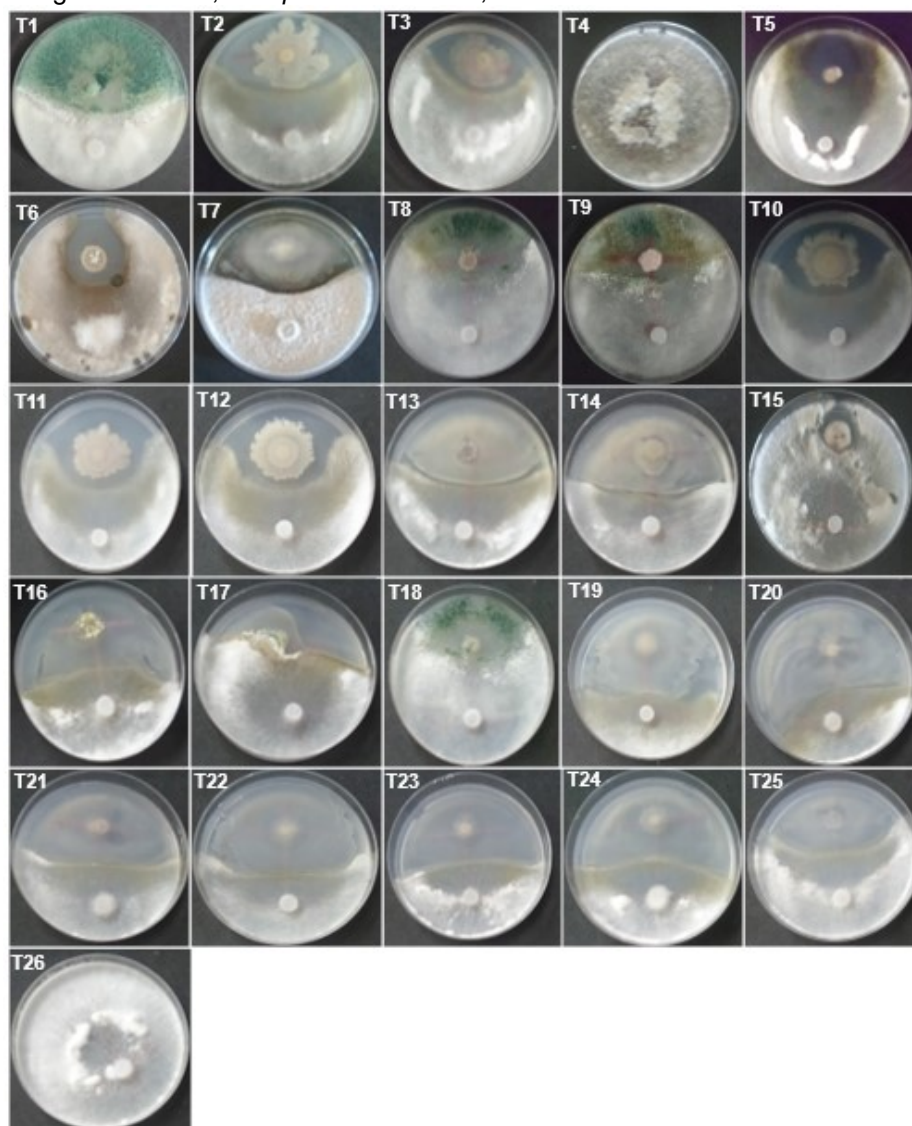
Muitos microrganismos utilizados no controle biológico atuam por meio da antibiose, ocorrendo a interação entre organismos, um metabólito produzido por um deles tem efeito prejudicial sobre o outro. A produção de metabólitos pode resultar na completa lise e dissolução da estrutura celular, independe do contato físico entre os microrganismos (BETTIOL; GHINI, 1995).

**Tabela 19** - Média do crescimento micelial final de *S. sclerotiorum* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>S. sclerotiorum</i>
T1	<i>T. harzianum</i>	5,46 e
T2	<i>B. subtilis</i>	5,93 d
T3	<i>A. brasiliense</i>	5,25 e
T4	<i>B. japonicum</i>	7,53 b
T5	<i>P. lilacinus</i>	5,91 d
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	6,16 c
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,46 f
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	5,93 d
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,14 e
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	6,33 c
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	5,41 e
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,49 e
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,82 d
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,31 e
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	8,03 a
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,29 e
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	6,55 c
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,73 d
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	3,41 g
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,99 e
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	5,45 e
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,63 f
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,53 e
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,43 e
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,63 e
T26	Sem tratamento	8,18 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott. Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 27** - Crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Abdullah, Ali e Suleman (2008), descobriram que um isolado de *T. harzianum* penetra nos micélios de *S. sclerotiorum* degradando suas hifas e escleródios e inibindo a formação de novos escleródios.

Mansour et al. (2008), estudaram os efeitos de *T. harzianum* e *B. amyloliquefaciens* sobre *S. sclerotiorum* em hortaliças como tomate, berinjela e abóbora, quando inoculadas com o patógeno. Verificaram inibição do crescimento, produção de micélio e escleródios de 80%, demonstrando o potencial de bactérias e fungos no controle biológico desse patógeno.



Todavia, estudos posteriores mostraram que as espécies de *Trichoderma* (por exemplo, *T. harzianum*; *T. koningii*; *T. pseudokoningii*; *T. koningiopsis*; *T. asperelloides*; *T. atroviridae* e *T. virens*) variaram de 62% a 100% de inibição da germinação micelial de *S. sclerotiorum* quando aplicada diretamente a escleródios (SANTOS; DHINGRA 1982; HADDAD et al. 2017; SUMIDA et al. 2018).

No presente estudo, verificou-se que o *T. harzianum* isolado controlou o crescimento micelial deste mesmo patógeno, mas quando aliado a *B. subtilis* e *B. japonicum* o efeito foi ainda melhor (Tabela 19; Figura 27).

Assim como na presente investigação, Thakkar e Saraf (2014) estudando três isolados bacterianos e um de *Trichoderma*, também verificaram que o seu uso em consórcio, apresentou potencial máximo de biocontrole sobre os fungos *M. phaseolina* e *S. sclerotiorum* em condições de laboratório e sementes co-inoculadas em relação ao tratamento controle e isolados tratados separadamente.

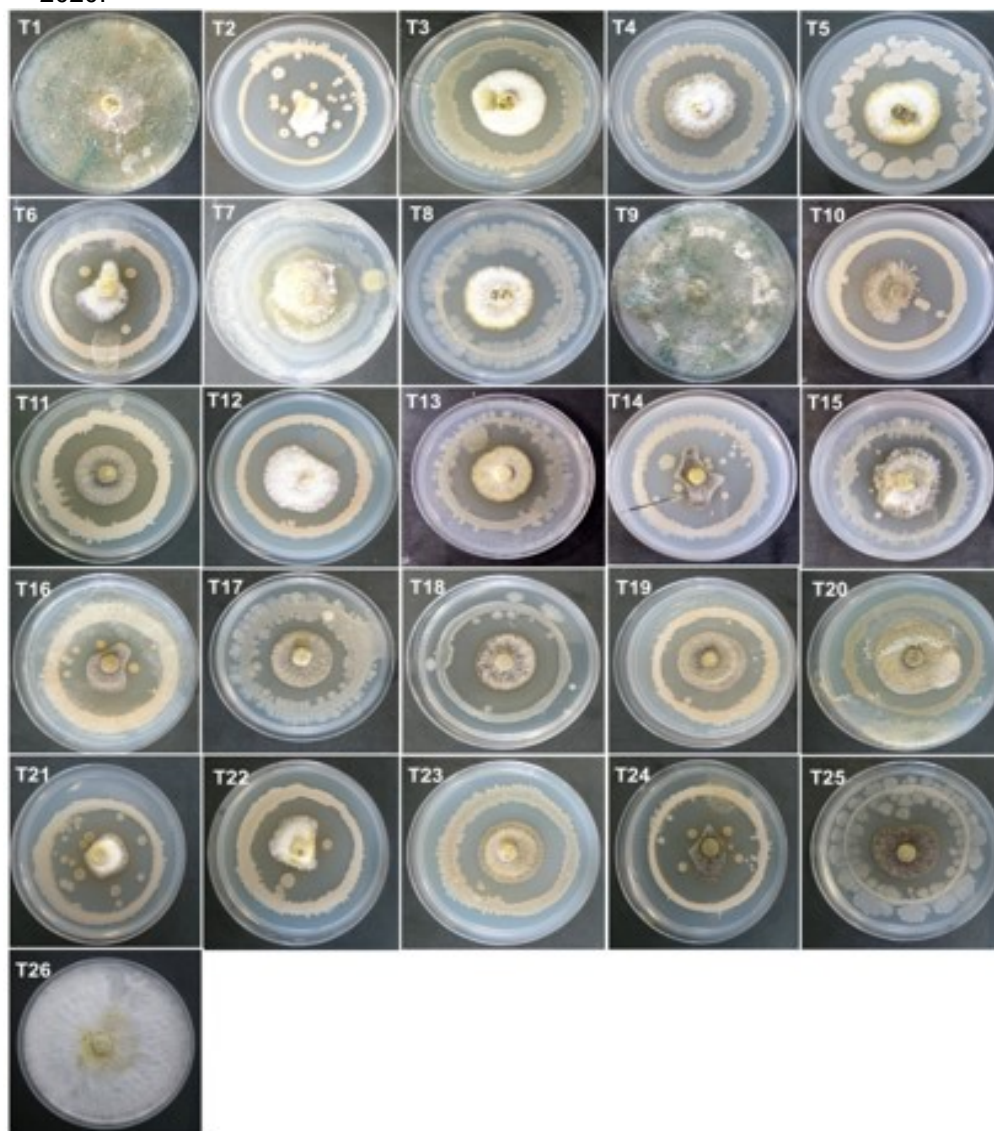
Logo, da mesma forma que a combinação entre produtos à base de *Trichoderma* e fungicidas sintéticos pode resultar em interação aditiva para o manejo integrado da podridão-do-tronco de Sclerotinia como descrito por Yu et al. (2019). O uso combinado de produtos biológicos pode gerar esse mesmo efeito.

Além disso, o uso de tratamentos de controle biológico pode, à longo prazo, ser mais econômico que os fungicidas sintéticos e também representar uma ferramenta importante para mitigar a resistência a fungicidas nesse patógeno fúngico (MACENA et al., 2019).

No mesmo sentido, o uso de RPCP ajudam a melhorar a tolerância das culturas contra estresses abióticos e bióticos. Sendo este efeito relatado contra seca (LIM, KIM 2013); estresse térmico (MEENA et al. 2015); salinidade (KARLIDAG et al. 2013) e muitas doenças fúngicas (KOHLENER et al., 2008; BENEDEZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012; DINESH et al., 2015).

Assim como para os demais fungos, o *P. longicolla* também foi sensível aos tratamentos e apresentou crescimento micelial somente dentro da área circundada, em alguns casos, como nos tratamentos T11, T14, e T25 apresentou maior escurecimento da colônia. No T1 o *T. harzianum* colonizou o patógeno tendo seu crescimento micelial em toda a placa (Figura 28).

**Figura 28** – Potencial antagonista dos 26 tratamentos no controle biológico in vitro de *P. longicolla* em 168 horas de avaliação utilizando o método adaptado do círculo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Lima, Dos Santos e Rodrigues (2014), estudando o efeito antagonista 10 isolados de *Bacillus spp.* sobre *Fusarium oxysporum* agente causador da fusariose no tomateiro, empregando a técnica de círculo, verificaram que todos isolados exibiram efeito inibidor ao patógeno avaliado.

Bonett et al. (2013), verificando inibição de crescimento micelial de fitopatógenos por isolados de *Trichoderma spp.* Das, Sarma e Tapadar (2014) também mostraram que *T. harzianum* e *T. viride* inibiram cerca de 75% do crescimento micelial de *Diaporthe vexans*, em testes in vitro.

Zhang et al. (2016), identificaram a atividade antifúngica de *T. longibrachiatum*, comprovando a produção de compostos bioativos, sendo essa espécie eficiente no controle de alguns fitopatógenos, principalmente de *Valsa mali*, agente causal do cancro da macieira, *Fusarium spp.*, *S. sclerotiorum*, entre outras espécies.

Para a variável crescimento micelial de *P. longicolla* em função de cinco tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 e 96 horas) do potencial antagonista dos 26 produtos biológicos, verificou-se interação ( $\alpha= 5\%$ ), entre os produtos e o tempo, indicando assim que houve combinação desses fatores (Apêndice B). Os fatores isolados também foram significativos ( $\alpha= 5\%$ ) (Apêndice B).

O comportamento do crescimento micelial de *P. longicolla* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T6 (*T. harzianum* + *B. subtilis*); T8 (*T. harzianum* + *B. japonicum*); T9 (*T. harzianum* + *P. lilacinus*); T10 (*B. subtilis* + *A. brasiliense*); T14 (*A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T16 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*) (Figura 29; Tabela 20).

Da mesma forma, o comportamento do crescimento micelial de *P. longicolla* em função do tempo de avaliação pode ser representado por funções quadráticas para os tratamentos T17 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T18 (*T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*); T20 (*T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*); T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*) (Figura 29; Tabela 20).

Dessa forma, é possível verificar que com 94,24 horas o patógeno *S. sclerotiorum* obteve o máximo de crescimento micelial de 4,69 cm para o tratamento T6; T8 com 95 horas obteve 4,54 cm; T9 com 87,50 horas obteve 4,49 cm; T10 com 78,50 horas obteve 6,32 cm; T14 com 78,50 horas obteve 6,32 cm; T16 com 95,20 horas obteve 5,23 cm; T17 com 93,90 horas obteve 4,28 cm; T18 com 95,45 horas 4,69 cm; T20 com 95,13 horas obteve 4,32 cm; T21 com 72 horas obteve 3,35 cm; T22 com 88,88 horas obteve 3,87 cm e T23 com 58,75 horas obteve 4,05 cm (Figura 29; Tabela 20).

Já os tratamentos T1 (*T. harzianum*); T2 (*B. subtilis*); T3 (*A. brasiliense*); T4 (*B. japonicum*); T5 (*P. lilacinus*); T7 (*T. harzianum* + *A. brasiliense*); T11 (*B. subtilis* + *B. japonicum*); T12 (*B. subtilis* + *P. lilacinus*); T13 (*A. brasiliense* + *B. japonicum*); T15 (*B. japonicum* + *P. lilacinus*); T19 (*T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*); T24 (*T.*

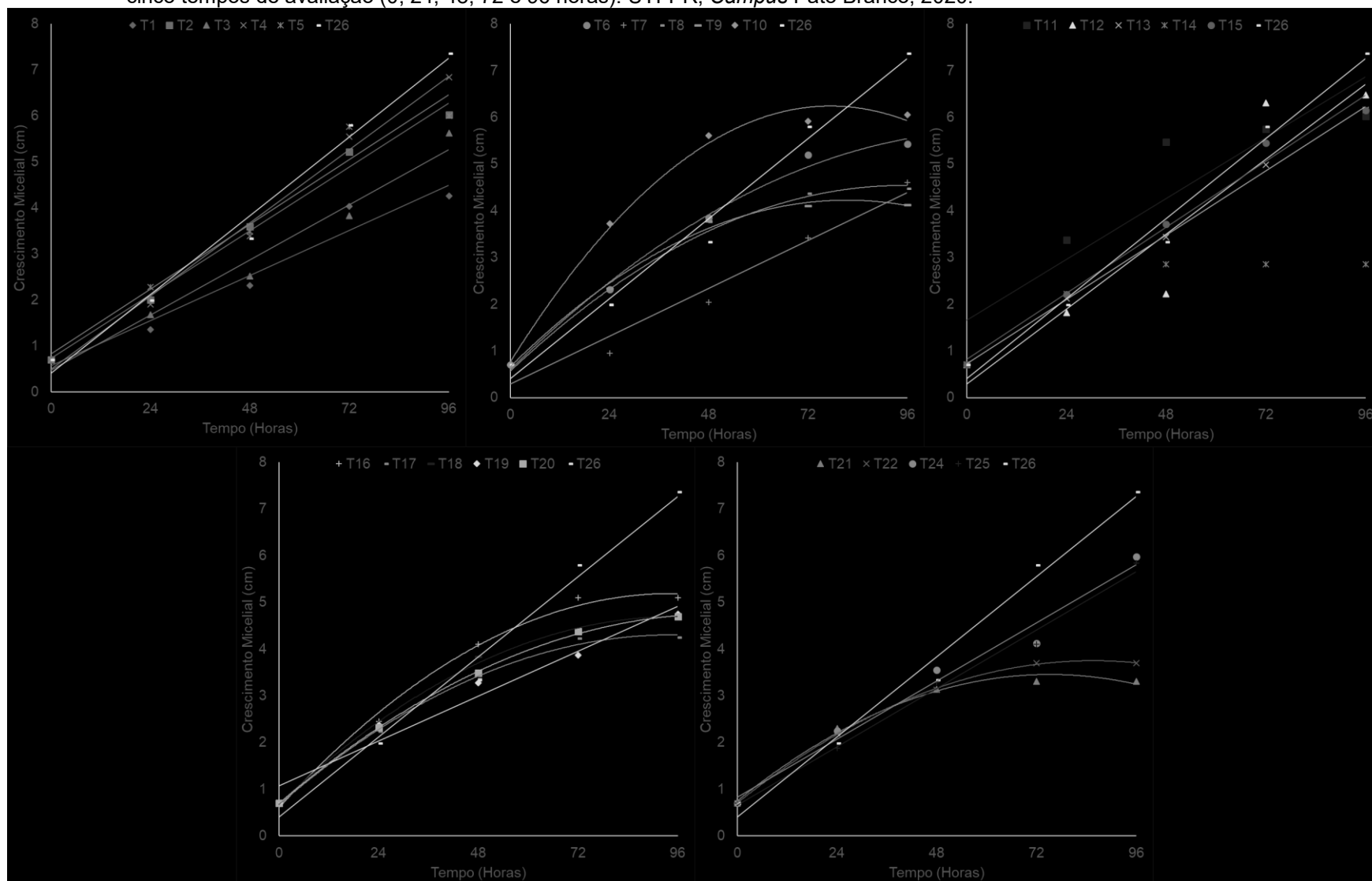
*harzianum* + *B. subtilis* + *P. lilacinus*) e T25 (*A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T26 (Sem tratamento) representados por funções lineares (Figura 29; Tabela 20).

**Tabela 20** – Equação, ponto de máxima (x e y) e R<sup>2</sup> ajustado referentes ao crescimento micelial de *P. longicolla*. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Legenda	Tratamento	Equação	P. máx./P. mín.		R <sup>2</sup> ajustado (%)
			x	Y	
T1	<i>T. harzianum</i>	$y = 0,57+0,0409x$	-	-	94,30
T2	<i>B. subtilis</i>	$y = 0,7324+0,0578x$	-	-	98,70
T3	<i>A. brasiliense</i>	$y = 0,4674+0,05x$	-	-	96,69
T4	<i>B. japonicum</i>	$y = 0,49+0,0664x$	-	-	98,75
T5	<i>P. lilacinus</i>	$y = 0,8274+0,0587x$	-	-	95,09
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	$y = 0,6067+0,0867x-0,0005x^2$	94,24	4,69	98,50
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,2874+0,0428x$	-	-	94,66
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,5704+0,0836x-0,0004x^2$	95,00	4,54	96,93
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6652+0,0875x-0,0005x^2$	87,50	4,49	99,01
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,7708+0,1413x-0,0009x^2$	78,50	6,32	98,59
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 1,66+0,0543x$	-	-	98,34
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,2964+0,0669x$	-	-	84,80
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,725+0,0574x$	-	-	99,83
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7708+0,1413x-0,0009x^2$	78,50	6,32	95,23
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,8172+0,0589x$	-	-	98,18
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	$y = 0,6071+0,0971x-0,0005x^2$	95,20	5,23	98,87
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,6678+0,077x-0,0004x^2$	93,90	4,28	99,44
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6854+0,084x-0,0004x^2$	95,45	4,69	99,37
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 1,075+0,04x$	-	-	94,88
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,6968+0,0761x-0,0004x^2$	95,13	4,32	99,92
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	$y = 0,7533+0,072x-0,0005x^2$	72,00	3,35	98,53
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,7064+0,0711x-0,0004x^2$	88,88	3,87	99,91
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 1,2907+0,094x-0,0008x^2$	58,75	4,05	22,62
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,835+0,0518x$	-	-	97,28
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	$y = 0,66+0,0521x$	-	-	98,76
T26	Sem tratamento	$y = 0,4098+0,0714x$	-	-	98,10

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 29** - Crescimento micelial de *P. longicolla* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1; T2; T3; T4; T5; T6; T7; T8; T9; T10; T11; T12; T13; T14; T15; T16; T17; T18; T19; T20; T21; T22; T23; T24; T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0; 24; 48; 72 e 96 horas). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Todos os tratamentos utilizados para inibir o a média de crescimento micelial de *P. longicolla* foram eficientes, porem os melhores resultados foram obtidos utilizando os tratamentos T21 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*); T22 (*B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*) e T23 (*B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus*), estes diferiram estatisticamente dos demais (Tabela 21; Figura 30).

**Tabela 21** - Média do crescimento micelial final de *P. longicolla* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes biológicos. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

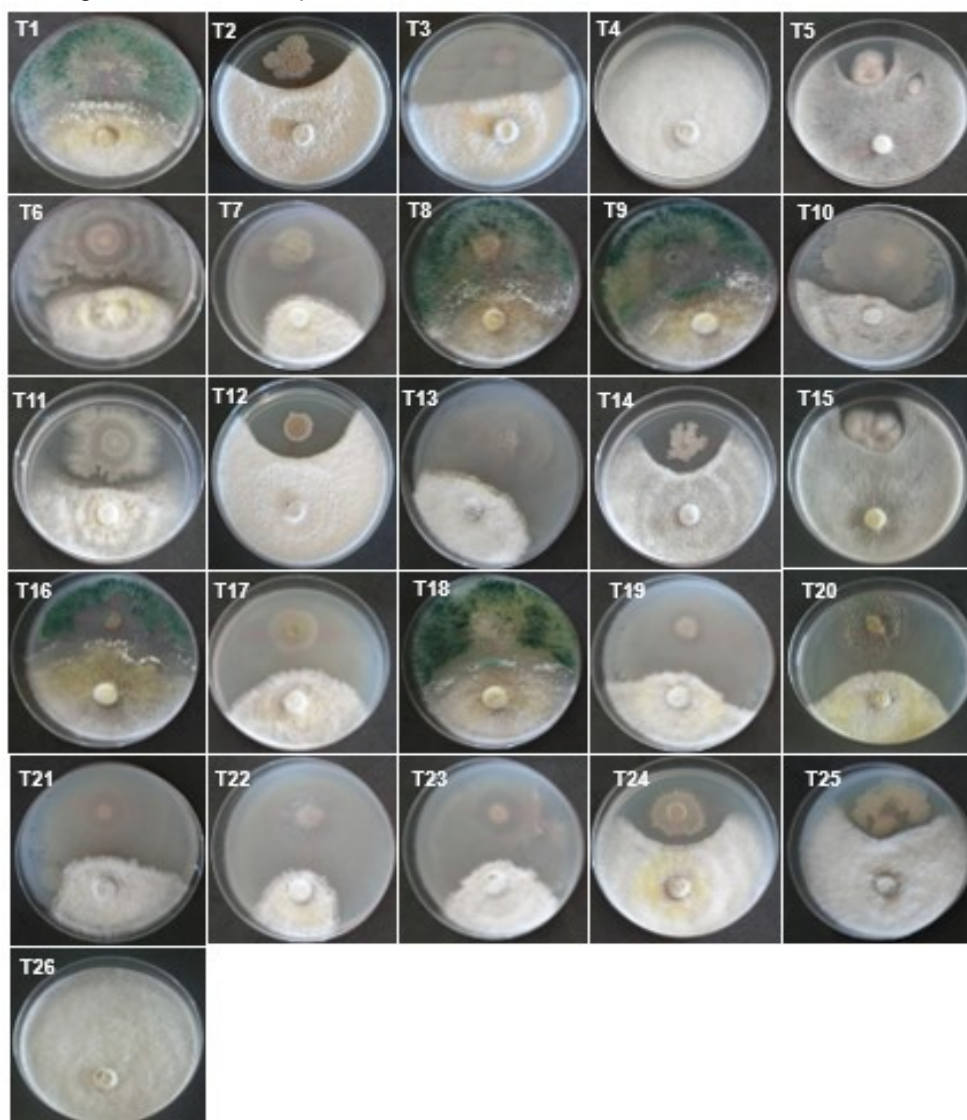
Legenda	Tratamento	Média do crescimento micelial final de <i>P. longicolla</i> (cm)
T1	<i>T. harzianum</i>	4,26 f
T2	<i>B. subtilis</i>	6,03 c
T3	<i>A. brasiliense</i>	5,63 d
T4	<i>B. japonicum</i>	6,84 b
T5	<i>P. lilacinus</i>	6,00 c
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	5,43 d
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	4,60 e
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	4,48 f
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,13 f
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	6,05 c
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	6,03 c
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,48 b
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	6,16 c
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,75 e
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	6,15 c
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	5,10 e
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4,25 f
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,73 e
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	4,75 e
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	4,70 e
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	3,31 g
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,70 g
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	3,56 g
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,98 c
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	5,84 c
T26	Sem tratamento	7,36 a

\*Letras minúsculas distintas diferenciam entre si a 5% de probabilidade de erro pelo teste Scott-Knott.  
Fonte: Autoria própria (2020).

RPCP estão sendo utilizadas como uma alternativa para controle biológico de doenças de plantas (BLOEMBERG; LUGTENBERG 2001; VEJAN et al., 2016).

Algumas RPCP podem produzir substâncias antimicrobianas eficazes contra fitopatógenos, linhagens de *Bacillus* foram usadas com sucesso em experimentos in vitro e / ou in vivo para controlar doenças de muitas espécies vegetais (MÜLLER et al., 2015; ISLAM et al., 2016; RAIS et al., 2017; AGARWAL et al., 2017; XIANG et al., 2017; CAO et al., 2018).

**Figura 30** - Crescimento micelial de *P. longicolla* (cm) submetido a 26 tratamentos com agentes de biológico. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autoria própria (2020).

Alguns Isolados de *B. subtilis* possuem capacidade para produzir muitos metabolitos antifúngicos, entre estes os lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina (LANNA FILHO; FERRO; DE PINHO, 2010).

Quando o isolado bacteriano entra em contato com o patógeno, pode ocorrer a produção de antibióticos (bacilisina, bacilomicina, iturina A, surfactina, fengicina); sideróforos, compostos voláteis [pirazina e 2, 3-dimetil-5- (1-metilpropil)]; enzimas líticas ( $\beta$ -1, efeitos da 3-glucanase, quitinase, protease, lipase, amilase) (SAHA et al. 2012; KHABBAZ et al. 2015).

Além disso, uso de inoculantes microbianos no controle biológico devido à sua capacidade de antagonizar o patógeno por vários modos de ação e também colonizar efetivamente a rizosfera, também foi alvo de muitos estudos (SAHA et al., 2012; SOLANKI et al., 2013; KHABBAZ et al., 2015; GUPTA; VAKHLU, 2015; CHITTIHUNSA et al., 2007).

O *Azospirillum spp.*, apesar de ser espécie de bactéria não patogênica, é capaz de induzir mecanismos de defesa de plantas que podem ajudar contra novos ataques de patógenos (CASSÁN et al. 2015; FUKAMI et al., 2018). Resultados obtidos no presente estudo mostram que in vitro, esta bactéria exerce controle sobre patógenos como *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla*, de forma isolada ou em associação com outros agentes de controle biológico.

Huynh (2019), comprovou que a bactéria *B. japonicum* pode reduzir a síndrome da morte súbita da soja causada por *Fusarium* e concluiu que o *B. japonicum* pode ser um potencial agente de biocontrole. Todavia, estes resultados não foram comprovados neste estudo, onde está bactéria isolada não exerceu controle sobre nenhum dos patógeno testados. Porém quando utilizado com outros produtos, verificou-se efeitos positivos no controle do crescimento micelial de hifas.

Figueredo et al. (2017), verificaram que o agente de biocontrole nativo *Bacillus sp.* CHEP5 atua sinergicamente com *Bradyrhizobium sp.* SEMIA6144 melhorando a interação simbiótica com amendoim (possivelmente pelo aprimoramento da colonização rizobial). E o uso no campo deste inoculante misto ofereceu proteção natural contra fitopatógenos e aumentou o rendimento de sementes de amendoim extragrandes.



Ainda assim, existem poucos relatos na literatura sobre o uso conjunto de mais de um produto biológico para controle de patógenos, seja em associação de dois ou três biológicos. Apesar disso, os resultados obtidos no presente estudo mostraram que os melhores resultados para a maior parte dos fungos estudados foram com uso conjunto de mais de um produto, pois desta forma somam mecanismos de ação distintos, além da competição por espaço tendo maior controle sobre patógenos.

Por sua vez, Yang et al. (2015) verificaram que *P. lilacinus* cepa pt361, mutante induzido da cepa selvagem *P. lilacinus* 36-1, teve efeito antagônico contra *S. sclerotiorum* in vitro, concluindo que este, é agente de controle biológico promissor contra a podridão de *Sclerotinia* no colo da colza.

Relatos na literatura, dão conta que o *P. lilacinus* possui atividade anti-nematóide por produção de leucinotoxinas, quitinase, protease e ácido acético (DJIAN et al., 1991; KHAN; WILLIAMS; MOLLOY, 2003; PARK et al., 2004). Logo, quitina, glucanas, galactomananas e proteínas são compostos mais frequentes, embora sua quantidade varie entre as diferentes espécies de fungos (ADAMS, 2004). Essas enzimas estão envolvidas na decomposição das paredes celulares dos fungos (FERNANDO et al., 2004). Possivelmente, esta seja a explicação para que o *P. lilacinus* possa exercer controle biológico sobre patógenos causadores de doenças.

Os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* fortemente estudados e citados na literatura (HARMAN et al., 2004; VINALE et al., 2008; DEGENKOL et al., 2015), mostraram bons resultados no presente estudo e aceitação do seu uso em conjunto com outros produtos, sempre somando para obter melhores resultados.

O gênero *Trichoderma* é descrito como um dos grupos mais importantes, devido ao seu potencial de controle biológico. Estudos diferentes apontam os modos de ação que incluem competição com microrganismos da rizosfera por nutrientes e/ou espaço, antibiose, microparasitismo e indução de defesas vegetais (HARMAN et al., 2004; SHORESH et al., 2010; DRUZHININA et al., 2011; WAGHUNDE et al., 2016).

#### 4.4 CONCLUSÕES SOBRE O ASSUNTO 2

As associações de agentes biológicos demonstraram eficiência no controle dos patógenos estudados, sendo que a associação dos mesmos foi mais efetiva no controle dos patógenos *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *M. phaseolina* e *P. longicolla*.

Os agentes biológicos e os fitopatogenos apresentam especificidades quanto a eficiência de controle, de modo que a sua utilização depende do problema fitopatológico a ser.

## **5 ASSUNTO 3 – ATRIBUTOS DE QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA SUBMETIDAS A TRATAMENTOS BIOLÓGICOS**

### **5.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 3**

No Brasil, a soja tem se destacado nas últimas três décadas com 49% da área cultivada em grãos no país (BRASIL, 2016). Altos níveis de produção são alcançáveis devido à alta qualidade e tecnologia empregadas as sementes, principal insumo utilizado pelos sojicultores (CARVALHO et al., 2017; FERREIRA et al., 2017; SZARESKI et al., 2018).

Assim, a produção de sementes de alta qualidade é dependente do somatório dos atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos (PESKE; BARROS; SCHUCH, 2012; DOS SANTOS et al., 2016;). A qualidade fisiológica é caracterizada pelo vigor e pela viabilidade (SCHUCH et al., 2009).

O vigor das sementes é a soma de atributos que confere à semente o potencial para germinar, emergir e resultar rapidamente em plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais (HÖFS et al., 2004). Por sua vez, a viabilidade é procura verificar a máxima germinação da semente sob condições favoráveis (ROCHA et al., 2017).

A produção de soja é determinada por fatores bióticos e abióticos intrínsecos ao ambiente de cultivo e estes podem interferir na qualidade das sementes (CARVALHO et al., 2017; SZARESKI et al., 2018). No campo, estresses climáticos e nutricionais, frequentemente associados com danos causados por insetos e por microrganismos, são analisados como fundamentais agentes de deterioração deste insumo (HENNING, 2005; FRANÇA-NETO et al., 2016).

Logo, mesmo utilizando sementes de alta qualidade fisiológica, o avanço em novas áreas de plantio aliado a constante instabilidade das condições climáticas durante a estação de cultivo, têm provocado aumento significativo na ocorrência de pragas e patógenos no solo, principalmente, durante em fases iniciais de desenvolvimento (ROCHA et al., 2017; ARANTES et al., 2019).

Assim, o tratamento químico de sementes tornou-se alternativa viável para melhorar o desempenho germinativo dessas sementes uniformizando o estande inicial de plântulas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Todavia, sabe-se que o uso contínuo dessas moléculas podem levar a resistência de patógenos, danos à saúde humana, contaminação de solo, além de atingir microrganismos não-alvos. Logo, verifica-se que o uso de controle biológico no tratamento de sementes como controle de patógenos alternativo ao químico se torna alternativa viável.

Dessa forma, o solo é constituído por grande diversidade de microrganismos, distribuídos conforme as variações ambientais e a disponibilidade de nutrientes (FIGUEIREDO et al. 2016; VENTURI; KEEL 2016). Fungos promotores de crescimento de plantas (PGPF, em inglês), bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPB, em inglês) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são grupos de micróbios benéficos e importantes, pois influenciam positivamente na estrutura do solo e na produtividade das plantas (REGO et al. 2015; FIGUEIREDO et al. 2016).

Os PGPF são fungos não patogênicos de vida livre que auxiliam melhorando o crescimento das plantas e podem estimular o sistema de defesa das plantas para suprimir o ataque de fitopatógenos (FERRIGO et al., 2014; LÓPEZ-BUCIO; PELAGIO-FLORES; HERRERA-ESTRELLA 2015; VENTURI; KEEL 2016). Entre esses, destacam-se espécies de *Phoma* e *Trichoderma* (VENTURI; KEEL, 2016; POOLE; RAMACHANDRAN; TERPOLILLI, 2018).

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPB) possui papel de destaque e continua aumento com o passar dos anos (NAVEED et al., 2014; GUSAIN; SINGH; SHARMA, 2015; AGAMI et al., 2016; VURUKONDA et al., 2016). Estas podem promover o crescimento das plantas, melhorar nutrição, fixação de nitrogênio simbiótico, produção de sideróforos, além de aprimorar o sistema antioxidante (INAGAKI et al., 2014; CHIBEBA et al., 2015; BULEGON et al., 2016). Entre essas destacam-se *B. subtilis*, *A. brasiliense* e *B. japonicum*.

Contudo, verifica-se que a longo prazo o uso do controle biológico pode ser mais econômico que o uso de fungicidas sintéticos, aliado a isto, esse tratamento pode auxiliar mitigando a resistência de patógenos a fungicidas (MACENA et al., 2020), pois diferente

dos fungicidas sintéticos, os tratamentos de controle biológico podem ser mais persistentes e possuir diferentes mecanismos para eliminar patógenos (SHORESH et al. 2005), e ainda auxiliar melhorando o desenvolvimento das plântulas.

Estudos revelaram que a associação de *B. japonicum* e *A. brasilense* em sementes de milho e soja resultou em resposta positiva quanto ao desenvolvimento e produção de plantas, pois essa junção, somou os vários mecanismos de ação oriundos das bactérias (CASSÁN et al., 2009; BENINTENDE et al., 2010; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). No mesmo sentido, Kumawat, et al. (2019) afirmam que compostos bioativos produzidos por inoculantes duplos atenuam os efeitos negativos causados pelo estresse abiótico em sementes e plântulas de soja, induzindo tolerância a mudanças climáticas variadas, melhorando a produtividade da cultura de maneira ecológica.

Dessa forma, surge a necessidade de estudar todas as possíveis combinações destes agentes biológicos, visando aprimorar o controle de patógenos e melhorar o desenvolvimento de plântulas a campo.

Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos dos agentes biológicos estudados nos atributos de qualidade de sementes de soja submetidas à tratamentos biológicos, bem como pela associação dos mesmos.

## 5.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 3

### 5.2.1 Local de realização

O trabalho foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus Dois Vizinhos*.

### 5.2.2 Caracterização do lote de sementes

A cultivar utilizada no trabalho foi a NS 6700 IPRO (Quadro 1). Antes de iniciar os experimentos foi realizada sua caracterização determinando peso de mil sementes (PMS), teor de água e porcentagem de germinação.

**Quadro 1** - Informações de hábito de crescimento, região recomendada, grupo de maturidade relativa, acamamento, fertilidade, cor e doenças referentes a cultivar NS 6700 IPRO. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Cultivar		NS 6700 IPRO
Região Recomendada		PR/SP/SC/RS/MS
Grupo de Maturidade Relativa		7.1
REAÇÃO ÀS DOENÇAS	Oídio	T
	<i>Phytophthora</i>	MT
	Nematóides	<i>M. Incognita</i> (SI) <i>M. Javanica</i> (SI) Nematóide de Cisto (SI)

Legenda - MR: Moderadamente resistente; R: Resistente; T: Tolerante; SI: Sem informações; MS: Moderadamente suscetível; S: Suscetível; MT: Moderadamente tolerante.

Fonte: Mauá Sementes (2018).

O PMS foi efetuado com a pesagem de oito repetições de 100 sementes puras, conforme metodologia descrita nas RAS (BRASIL, 2009). O resultado foi expresso em gramas com o número de casas decimais correspondentes às utilizadas nas pesagens menos uma, fazendo-se a devida aproximação no final.

O teor de água foi determinado pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas, utilizando duas amostras de trabalho com 4,5 gramas de sementes, retiradas independentemente da amostra média de trabalho (BRASIL, 2009).

Para a porcentagem de germinação foram utilizadas oito repetições de 50 sementes. Em papel Germitest® umedecido com água destilada em quantidade equivalente à três vezes a sua massa. Foram confeccionados rolos envoltos em filme plástico para evitar perda de umidade, mantidos em câmara germinadora modelo Mangelsdorf, previamente regulada 25 °C, com fotoperíodo de 24 horas. Aos cinco e oito dias após a semeadura avaliou-se o número de plântulas normais, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, segundo a RAS (BRASIL, 2009) (Tabela 22).

**Tabela 22** – Peso de mil sementes, grau de umidade e porcentagem de germinação da cultivar NS 6700 IPRO. UTFPR, *Campus* Pato Branco, 2020.

Cultivar	PMS (g)	Médias Grau de Umidade (%)	Germinação (%)
NS 6700 IPRO	154,73	9,04	81

Fonte: Autoria própria (2020).

### 5.2.3 Avaliação dos atributos de qualidade de sementes de soja

Após homogeneização e redução para obtenção das amostras de trabalho, as sementes foram pesadas para a determinação das doses dos tratamentos. Em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições as sementes foram separadas em sacos de polietileno identificados pelo número de cada tratamento. A aplicação dos produtos (Tabela 23), foi realizada diretamente sobre as sementes que estavam nos sacos de polietileno nas respectivas doses recomendadas pelos fabricantes. Usou-se 230  $\mu$ L de água por kg de semente, para servir de veículo aos ativos e após, homogeneizou-se vigorosamente as mesmas. Avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes através da porcentagem de germinação (PG); porcentagem de emergência em campo (EC); índice de velocidade de emergência (IVE); tempo médio de emergência (TMG); comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR).

**Tabela 23** - Produtos e doses utilizados no tratamento de sementes para avaliação dos atributos de qualidade de sementes de soja. UTFPR, *Campus* Pato Branco, 2020.

Tratamento	Agente biológico	Dose utilizada
T1	<i>T. harzianum</i>	0,45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T2	<i>B. subtilis</i>	4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T3	<i>A. brasiliense</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T4	<i>B. japonicum</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T5	<i>P. lilacinus</i>	1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T6	<i>T. harzianum</i> + <i>B. Subtilis</i>	0,45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T7	<i>T. harzianum</i> + <i>A. Brasiliense</i>	0,45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T8	<i>T. harzianum</i> + <i>B. Japonicum</i>	0,45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T9	<i>T. harzianum</i> + <i>P. Lilacinus</i>	0,45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T10	<i>B. subtilis</i> + <i>A. Brasiliense</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T11	<i>B. subtilis</i> + <i>B. Japonicum</i>	4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T12	<i>B. subtilis</i> + <i>P. Lilacinus</i>	4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. Japonicum</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T13	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. Japonicum</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T14	<i>A. brasiliense</i> + <i>P. Lilacinus</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g kg <sup>-1</sup> de semente

CONTINUA...

...continuação

Tratamento	Agente biológico	Dose utilizada
T15	<i>B. japonicum</i> + <i>P. Lilacinus</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T16	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T17	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T18	<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T19	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T20	<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T21	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 ml 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T22	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T23	<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	5 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T24	<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	0.45 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 4 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T25	<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 3 mL 1 kg <sup>-1</sup> de semente + 1 g 1 kg <sup>-1</sup> de semente
T26	Sem tratamento	Sem adição de agente biológico

Fonte: Recomendações técnicas dos fabricantes (2020).

### 5.2.3.1 Percentagem de germinação

Para a percentagem de germinação foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. Como substrato foi utilizado papel Germitest® umedecido com água destilada em quantidade equivalente a três vezes a sua massa. Foram confeccionados rolos envoltos em filme plástico para evitar perda de umidade, estes foram mantidos em câmara germinadora modelo Mangelsdorf, previamente regulada a 25 °C, no claro, sem fotoperíodo e o reumedicimento deu-se conforme a necessidade. Aos oito dias após a semeadura, avaliou-se o número de plântulas normais, anormais e sementes mortas sendo os resultados expressos em percentagem, segundo metodologia prevista nas RAS (BRASIL, 2009).



### 5.2.3.2 Emergência Das Plântulas Em Campo (EC)

A emergência das plântulas em campo foi implantada em canteiro de solo, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, distribuídas em sulcos de 100 cm de comprimento. A profundidade de semeadura foi de 3,0 cm e o espaçamento entre linhas de 50 cm. A contagem foi realizada aos 14 dias e os resultados expressos em percentagem.

### 5.2.3.3 Índice De Velocidade De Emergência (IVE)

O índice de velocidade de emergência foi implantado conjuntamente com o teste de EC, porém calculado conforme Maguirre (1962) por meio de contagens diárias do número das plântulas emergidas com os cotilédones completamente acima do nível do solo.

### 5.2.3.4 Tempo médio de emergência (TME)

Determinado juntamente com o teste de EC, calculado a partir da fórmula determinada por Labouriau (1983). Os resultados foram expressos em dias.

### 5.2.3.5 Comprimento De Plântulas

A avaliação do comprimento de plântulas foi efetuada utilizando-se quatro repetições de 25 sementes, alocadas em duas linhas retas no sentido longitudinal no terço superior do papel germitest®, previamente umedecido com água destilada 2,5 vezes o seu peso seco (NAKAGAWA, 1999). As sementes foram posicionadas com a micrópila voltada para a parte inferior para o papel e foram confeccionados rolos e após envoltos em papel filme e dispostos verticalmente no germinador do tipo Mangelsdorf por oito dias em temperatura constante de 25 °C com fotoperíodo de 24 horas. Ao final deste

período, efetuou-se a aferição da parte aérea e raiz primária das plântulas normais emergidas utilizando-se uma folha de papel milimetrado. Os resultados foram expressos em centímetro por planta, especificamente para parte aérea (CPA) e raiz (CR).

#### 5.2.4 Análise Estatística

O conjunto de dados organizados em planilha Excel®, foi submetido a análise de normalidade de Lilliefors. A variável plântulas anormais e sementes mortas foram transformadas utilizando BoxCox (software ActionStat®). Confirmados os pressupostos dos modelos estatísticos, foram submetidos à ANOVA pelo teste de análise de variância ( $p=0,05$ ) e ao teste de médias Scott-Knott ( $p=0,05$ ), com auxílio do software Genes® (CRUZ, 2016).

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 3

De acordo com análise de variância verificou-se existir diferença significativa, em nível de 5% de probabilidade de erro, entre os níveis do fator tratamentos biológicos para germinação final (plântulas normais e anormais); emergência; comprimento de parte aérea e comprimento de raiz (Apêndice D). As variáveis índice de velocidade de emergência e tempo médio de emergência não foram significativos em nível de 5% de probabilidade de erro, para os níveis do fator tratamentos biológicos (Apêndice D).

O tratamento que proporcionou maior germinação foi *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum* com 93%, não diferindo estatisticamente dos tratamentos *B. subtilis*; *T. harzianum* + *B. subtilis*; *T. harzianum* + *A. brasiliense* e *T. harzianum* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus* (Tabela 24). Todos os tratamentos, com exceção do tratamento *B. subtilis*, possuem uma característica em comum a presença do fungo *T. harzianum* e ao menos uma bactéria promotora de crescimento.

A germinação das sementes é dependente da viabilidade do embrião e da quebra de dormência ocasionada por condições ambientais (LUNA-MARTÍNEZ et al., 2013).

**Tabela 24** - Comparação de médias das variáveis percentagem de plântulas normais e anormais do teste de germinação e envelhecimento acelerado em experimento com 26 tratamentos biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamentos	Germinação (%)	
	Normais (%)	Anormais (%)
<i>T. harzianum</i>	79 b	20 d
<i>B. subtilis</i>	91 a	9 f
<i>A. brasiliense</i>	72 c	27 d
<i>B. japonicum</i>	72 c	27 d
<i>P. lilacinus</i>	60 d	39 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	91 a	8 f
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	91 a	7 f
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	79 b	20 d
<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	82 b	16 e
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	85 b	13 e
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	76 b	22 d
<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	50 e	48 b
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	15 f	82 a
<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	82 b	16 e
<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	54 e	45 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	83 b	15 e
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	65 d	30 d
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	93 a	6 f
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	96 a	4 f
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	89 a	9 f
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	86 b	13 e
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	56 e	38 c
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	60 d	38 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	68 c	28 d
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	78 b	22 d
Sem tratamento	81 b	16 e

\*Dados não seguidos por mesma letra, na coluna, diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autoria própria (2020).

Assim, o PGPB pode influenciar o último caso, isso porque a redução nos níveis de etileno pela atividade de ACC desaminase de bactérias na semente pode favorecer o aumento da percentagem de germinação, tendo em vista a produção de ácido

indol-3-acético (AIA), que estimula a divisão celular e pode levar ao desenvolvimento do embrião (GLICK et al., 2007; JALILI et al., 2009).

Guzmán-Guzmán et al. (2019), afirmam que *Trichoderma spp.* produzem grande variedade de fatores reguladores do crescimento, como os fito-hormônios que aumentam a taxa de germinação.

Araujo (2008) utilizando inoculação de *B. subtilis*, em sementes de milho, verificou que não houve efeito positivo para a germinação. Por outro lado, Lagunas-Lagunas et al. (2001); Izzeddin e Medina (2011); Luna-Martínez et al. (2013), mostraram que a inoculação de sementes de tomate com as cepas de *Bacillus* aumentou as porcentagens de germinação em 5 ou 6%.

BULEGON et al, (2014) constataram que a bactéria *B. japonicum* não foi eficiente na germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de soja. Assim como, no presente estudo, o uso de *A. brasiliense* e *B. japonicum* em associação gerou a menor porcentagem de germinação de sementes de soja, assim como o uso individual destes também não foi promissor.

Nomura et al, (2019), afirmam que as bactérias *B. japonicum* não causam benefícios diretos no processo de germinação e desenvolvimento de plântulas para a cultura da soja, já que só se manifestam na presença do nitrogênio atmosférico, com as plantas já adaptadas no ambiente para realizar o processo de fixação de nitrogênio.

Os tratamentos que geraram maior porcentagem de emergência foram *T. harzianum* + *A. brasiliense* e *T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum* ambos com 96%, estes não diferiram estatisticamente dos tratamentos *T. harzianum*; *B. subtilis*; *A. brasiliense*; *B. japonicum*; *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *A. brasiliense*; *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *A. brasiliense* + *P. lilacinus*; *B. japonicum* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum* e *B. subtilis* + *A. brasiliense* + *P. lilacinus* (Tabela 25).

O maior comprimento de parte aérea foi obtido pelo tratamento *T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense* com 10,90 cm, o qual não diferiu estatisticamente de *A. brasiliense*; *B. japonicum*; *P. lilacinus* e *T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* (Tabela 25).

O maior comprimento de raiz foi obtido pelo tratamento *T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense* com 17,80 cm, o qual não diferiu estatisticamente dos tratamentos *B. subtilis*; *A. brasiliense*; *B. japonicum*; *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis*; *T. harzianum* + *A. brasiliense*; *T. harzianum* + *B. japonicum*; *T. harzianum* + *P. lilacinus*; *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *A. brasiliense* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* e *A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* (Tabela 25).

**Tabela 25** - Comparação de médias da variável das variáveis porcentagem de emergência, comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), com 26 tratamentos biológicos. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamentos	Emergência (%)	CPA (cm)	CR (cm)
<i>T. harzianum</i>	95 a	6,92 c	10,41 c
<i>B. subtilis</i>	95 a	7,12 c	15,68 a
<i>A. brasiliense</i>	95 a	10,45 a	17,79 a
<i>B. japonicum</i>	93 a	9,86 a	17,29 a
<i>P. lilacinus</i>	95 a	10,46 a	16,38 a
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	89 b	7,98 c	16,92 a
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	96 a	8,32 c	16,42 a
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	92 a	8,29 c	15,97 a
<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	90 b	5,56 d	15,43 a
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	93 a	6,55 d	14,58 b
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	87 b	8,02 c	14,90 b
<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	91 b	5,88 d	13,11 b
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	95 a	7,17 c	16,47 a
<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	94 a	9,59 b	17,16 a
<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	94 a	7,76 c	14,14 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	88 b	10,90 a	17,80 a
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	96 a	7,99 c	14,29 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	85 b	10,65 a	15,67 a
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	95 a	7,58 c	15,58 a
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	88 b	7,21 c	13,88 b
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	87 b	5,77 d	13,61 b

CONTINUA...

...continuação

Tratamentos	Emergência (%)	CPA (cm)	CR (cm)
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	90 b	7,21 c	16,67 a
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	94 a	8,67 b	14,86 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	87 b	5,67 d	9,24 c
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	89 b	8,67 b	16,04 a
Sem tratamento	89 b	6,83 c	14,10 b

\*Dados não seguidos por mesma letra, na coluna, diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autoria própria (2020).

O fungo *Trichoderma spp.* atua como um antagonista da patógenos presentes nas sementes ou no solo e estimula o crescimento da planta (ETHUR et al., 2005; MASTOURI; BJÖRKMAN; HARMAN, 2010; MACHADO et al., 2012).

Outro estudo aponta que a solubilização de fosfato e micronutrientes por *T. harzianum* favorece o crescimento de plantas (LI et al., 2015). Todavia, no presente estudo o mesmo isoladamente não gerou maior desenvolvimento de parte aérea e comprimento de raiz, sendo que o melhor resultado foi obtido utilizando *T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*.

Munawar et al., (2015) verificaram em ensaios em estufa que a aplicação de *T. harzianum* promoveu o crescimento geral das plantas, seguida pela aplicação combinada de *P. lilacinum* e *T. Harzianum* e que ainda auxiliaram na redução do desenvolvimento de nematóides e danos por fungos. Os mesmos autores, em estudo em condições de campo, constataram que a aplicação combinada de *P. lilacinum* e *T. harzianum* aumentou o número de folhas, o comprimento da parte aérea e o comprimento das raízes. Comprovando, a eficiência do uso combinado de agentes biológicos com mais modos de ação.

Outros trabalhos destacam aumento do crescimento inicial de plantas (ALTOMAR; TRINGOVSKA, 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012) e capacidade de solubilização de fosfato e produção de AIA (OLIVEIRA et al., 2012; CHAGAS et al., 2016).

E entre as vantagens do uso de *P. lilacinus*, destaca-se a capacidade de produzir substâncias promotoras de crescimento de plantas, como o ácido indol acético (IAA), assim como o *Trichoderma spp.*

Da Silva et al. (2017), verificaram que em amendoim a associação de *B. japonicum* e *A. brasilense* melhorou a taxa de crescimento das plantas. Assim, Cassán et al. (2009) confirmaram, estudando plantas que a associação dos dois gêneros bacterianos é capaz de excretar AIA, ácido giberélico e zeatina em concentrações suficientes para causar alterações morfológicas e fisiológicas nos tecidos jovens.

Dessa forma, o IAA absorvido pelas sementes e raízes das plantas podem estimular a atividade do Enzima ACC sintase, que está envolvida na síntese de etileno. Baixas concentrações de etileno promovem o crescimento de pelos radiculares de plantas inoculadas e a área superficial de raiz (LUNA MARTINEZ et al., 2013), que traz aumento na ingestão de água e nutrientes, aumentando assim a crescimento da plântula (CABRA et al., 2017).

Bactérias geralmente não são importantes produtores de auxina, no entanto, existem algumas cepas com capacidade produzir entre 16 e 55 µg/mL de AIA, (TSAVKELOVA et al., 2006; FELICI et al., 2008; ROJAS et al., 2011). Destas bactérias, o *Bacillus* é um dos gêneros mais estudados pela característica de estimular o crescimento das plantas (ROJAS et al., 2011; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2014; MYRESIOTIS; VRYZAS, 2014; WIDNYANA; COKORDA, 2016).

Ainda, segundo Cabra et al. (2017) a cepa *B. subtilis* GIBI 200 mostrou uma produção de auxina. Segundo Taiz et al. (2017) a auxina é essencial ao crescimento vegetal, e a sua sinalização ocorre praticamente em cada aspecto do desenvolvimento vegetal, além disso, foi o primeiro hormônio do crescimento a ser estudado em plantas. Esta pode ser ativa em concentrações bem baixas (RADMANN et al., 2002).

Além disso, o uso de *B. subtilis* tem sido relatado como eficiente no controle biológico de plantas, produção de antibióticos naturais e efeito protetor contra fitopatógenos secundários do solo (SANTOYO et al., 2012; MAZZUCHELLI; SOSSAI; ARAÚJO, 2014; SIVASAKTHI et al., 2014; JARDIN, 2015). Possui potencial para aumento da FBN e da eficiência do uso do N (PANKIEWICZ et al., 2015; GALINDO et al., 2016) e atua diretamente no aumento no desenvolvimento do sistema radicular, e, portanto, maior absorção de água e nutrientes (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013; XIAO-YING et al., 2015).

As RPCPs quando utilizadas no solo, em formulações simples ou em misturas de inoculantes, podem acarretar em distintos resultados no desenvolvimento de plantas de arroz, trigo, feijão e soja, entre esses, aumentar a germinação das sementes, a emergência das plântulas e beneficiarem o crescimento das mesmas (LAZZARETTI; BETTIOL, 1997).

A associação de bactérias simbióticas do gênero *Bradyrhizobium* com as bactérias associativas do gênero *Azospirillum* na emergência em campo apresentaram melhores resultados.

Em plantas leguminosas essas rizobactérias possuem capacidade de fixarem N<sub>2</sub> atmosférico, além da produção de hormônios vegetais, aumento da atividade da enzima nitrato redutase e solubilizar fosfato do solo (BOTTINI et al., 1989; CASSÁN et al., 2008; HUERGO et al., 2008; INAGAKI et al., 2014), beneficiando o crescimento e o desenvolvimento das plantas por uma combinação de todos esses mecanismos (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

Segundo Hungria e Mendes (2015), o aumento do vigor das sementes de soja a campo pode ser atribuído ao N, e também aos efeitos hormonais induzidos por *B. japonicum* e *A. brasilense* considerando que vários grupos de hormônios vegetais estão relacionados à fisiologia das sementes.

Assim, são vários relatos encontrados na literatura, acerca dos benefícios do uso destes agentes biológicos nos atributos de qualidade de sementes de soja, seja auxiliando no desenvolvimento, fixação de nitrogênio, indução de resistência a patógenos, proteção da planta contra patógenos, ou mesmo na liberação de hormônios, responsáveis por grandes benefícios a planta.

Contudo, não foram todos comprovados na presente investigação científica, o que permite a sugestão do aprofundamento dos estudos no assunto, com novos trabalhos que possam inclusive, enfatizar as melhorias oriundas do seu uso até mesmo em situações de campo.



#### 5.4 CONCLUSÃO ASSUNTO 3

Os produtos biológicos isoladamente ou em associação não afetaram o desempenho fisiológico das sementes de soja, podendo então serem recomendados para tal.

## **6 ASSUNTO 4 – AGENTES BIOLÓGICOS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA PARA O CONTROLE DE FUNGOS DE SOLO**

### **6.1 INTRODUÇÃO AO ASSUNTO 4**

A soja é uma cultura de grande valor econômico e o Brasil é o segundo maior produtor mundial, perdendo apenas para os Estados Unidos (SANTOS et al., 2016; CONAB, 2020). Para que se possa ter uma lavoura de soja produtiva, é de suma importância o uso de sementes com alta qualidade (SCHEEREN et al., 2010).

Contudo, muitos fatores são responsáveis pela perda de qualidade das sementes principalmente, fatores bióticos. Dentre os microrganismos fitopatogênicos que podem comprometer a integridade das sementes (MEDEIROS et al., 2019). Destaca-se os fungos, causadores de muitos danos nas etapas de campo, na pós-colheita e no armazenamento (MEDEIROS et al., 2016). Afirmam ainda tais autores, que as sementes são consideradas um meio eficiente de sobrevivência e disseminação de patógenos, os quais são responsáveis por inúmeras doenças de importância econômica.

Um dos fatores de grande importância e que deve ser considerado antes da semeadura é a qualidade sanitária das sementes, pois esta garante o estabelecimento da cultura, com estandes de plantas uniformes e livres de doenças, aumentando desta forma o rendimento das culturas (PIZÁ et al., 2018). Assim, o tratamento de sementes é o método preventivo que ajuda na conservação da qualidade das sementes empregadas em campo, resultando em ganhos quantitativos e qualitativos na produção (CUNHA et al., 2015).

O manejo sanitário das sementes de soja geralmente é feito utilizando-se tratamento químico, podendo ser na forma de fungicidas, nematicidas e inseticidas (CONCEIÇÃO et al., 2014). Todavia, a preocupação com o uso indiscriminado desses produtos, danos ao meio ambiente e a saúde humana, leva à procura de tecnologias

alternativas, tais como o uso do controle biológico por microrganismos antagonistas (MOREIRA et al., 2008; SANTOS; SILVA, 2014; COPPO et al., 2017).

Muitas pesquisas com bactérias são realizadas para verificar as interações entre antagonista-patógeno-hospedeiro (HALFELD-VIEIRA et al., 2006; RYAN et al., 2008). Como exemplo, as RPCP, que são bactérias as quais colonizam a rizosfera e promovem crescimento destas, associadas numa relação não simbiótica (NAVEED et al., 2014; GUSAIN; SINGH; SHARMA, 2015; AGAMI et al., 2016; VURUKONDA et al., 2016). Além destas bactérias, também existem os fungos promotores de crescimento de plantas (PGPF) (FERRIGO et al., 2014; LÓPEZ-BUCIO; PELAGIO-FLORES; HERRERA-ESTRELLA, 2015; VENTURI; KEEL 2016).

Dessa forma, é importante a realização de estudos envolvendo ambas classes de microrganismos no controle de fungos de solo causadores de doenças em soja, tais como *F. solani* causador da podridão vermelha da raiz (PVR) (ROY et al., 1989; RUPE, 1989); *M. phaseolina* causador da podridão de carvão e podridão de raiz (BABU et al., 2007); *Phomopsis* sp. causador da podridão radicular geográfica (GHISSI; REIS; DEUNER, 2014); *R. solani* causador da rizoctoniose (GOULART, 2001; YANG, 2015) e *S. sclerotiorum* patógeno que infecta as plântulas danificando o hipocótilo (BRASIL, 2009).

Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o uso de produtos à base de RPCP e PGPF de forma isolada, em associação de dois e três produtos biológicos em sementes de soja para controle de fungos de solo.

## 6.2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DO ASSUNTO 4

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, dotada de sistema de controle de temperatura, fotoperíodo e sistema de irrigação manual, localizada na Estação Experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos. Foi conduzido um ensaio, utilizando-se sementes de soja da cultivar NS 6700 IPRO (Quadro 1). Para compor os tratamentos foram utilizados produtos comerciais biológicos, já descritos no estudo 3, a base de *T. harzianum*; *P. lilacinus*; *B. subtilis*; *A. brasiliense* e

*B. japonicum*, estes foram utilizados de forma individual ou associada, com exceção da sem tratamento a qual não recebeu nenhum tipo de tratamento (Tabela 23).

Inicialmente, preparou-se frascos contendo 710 mL de grãos de sorgo para serem utilizados como substrato para multiplicação dos fungos contaminantes. Estes frascos contendo o substrato foram autoclavados a 121 °C por 60 minutos, repetindo-se esse procedimento por três dias seguidos. Ao fim da autoclavagem, no terceiro dia os frascos foram deixados esfriar até temperatura ambiente ( $22 \pm 1$  °C).

Após, utilizando metodologia adaptada de Navi e Yang (2016), sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar, utilizou-se colônias puras em meio BDA dos fungos *Fusarium tucumaniae* (CMES 25); *Rizoctonia solani* (CMES 1861); *Macrophomina phaseolina* (CMES 1574); *Sclerotinia sclerotiorum* (CMES 2131) e *Phomopsis longicolla* (CMES 1582). Separadamente em cada frasco contendo grãos de sorgo foram adicionados seis tampões de ágar de cada isolado respectivamente. Estes foram mantidos em ambiente escuro por cinco semanas, para ocorrer colonização uniforme dos grãos durante esse período. Os frascos foram agitados manualmente pelo menos uma vez por semana.

Os grãos de sorgo infestados com os fungos citados anteriormente foram espalhados individualmente, em vasos de polietileno de 50 L, contendo latossolo de barranco peneirado, a uma concentração de 10% do volume do latossolo e em seguida efetuou-se a mistura manualmente.

Em copos de polietileno de 300 mL, sem drenos, foi adicionado o latossolo com o inóculo e após 24 horas, foram demarcados os pontos de semeadura equidistantes, em profundidade de aproximadamente de 2 cm. Em cada copo que continha um tratamento, efetuou-se a semeadura de cinco sementes que, foram cobertas com a mesma mistura de inóculo e latossolo e compactadas com um compactador de madeira manual. Logo, foi efetuada a irrigação dos copos até o ponto de saturação do solo para os fungos *F. tucumaniae*, *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *P. Longicolla*. Já para o patógeno *M. phaseolina* manteve-se o copo em condições de baixa umidade.

A irrigação dos copos foi realizada manualmente, uma vez ao dia. O experimento foi conduzido até 23 dias contados a partir da data de semeadura das sementes. Ao final

deste período, foram mensuradas as variáveis resposta nas plântulas emergidas descritas a seguir.

Emergência final, foi realizada por meio da contagem de plântulas emergidas aos 14 dias e os resultados expressos em porcentagem.

As plantas foram consideradas saudáveis quando não apresentaram grandes sintomas visíveis da doença no momento da amostragem (NAVI; YANG, 2016). Tais como, apodrecimento radicular, do caule e tombamento.

Após a avaliação dos sintomas, efetuou-se a aferição do comprimento da parte aérea e raiz primária das plântulas, utilizando-se uma folha de papel milimetrado. Os resultados foram expressos em centímetro por planta, especificamente para parte aérea (CPA) e raiz (CR).

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições cada copo contendo cinco sementes representou uma unidade experimental e cada plântula emergida uma unidade de observação. Para cada fungo patogênico, se considerou um experimento individual, não sendo estes considerados fatores de interação por ocasião da análise estatística.

Os conjuntos de dados observados, após tabelados em planilha Excel®, foram submetidos a análise de normalidade de Lilliefors, onde se confirmou a necessidade de transformação conforme apresentado na Tabela 26.

**Tabela 26** – Transformações utilizadas para as variáveis emergência final (%), comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas (%). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Variáveis	Transformações				
	<i>F. tucumaniae</i>	<i>R. solani</i>	<i>M. phaseolina</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>P. longicolla</i>
Emergência	X <sup>2</sup> +K	-	BoxCox	BoxCox	BoxCox
CT	-	-	-	Ln(X+K)	-
CR	X <sup>2</sup> +K	-	-	-	-
Sintomas	BoxCox	BoxCox	BoxCox	BoxCox	BoxCox

\*X<sup>2</sup>+K, 1/(X+K) e Ln(X+K) com software Genes®, BoxCox com software Action Stat®, Valor de K=1.

Fonte: Autoria própria (2020).

Após, confirmados os pressupostos dos modelos estatísticos, os conjuntos de dados foram submetidos à ANOVA pelo teste de análise de variância (p=0,05) e teste de médias Scott-Knott (p=0,05), com auxílio do software Genes® (CRUZ, 2016).

### 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES REFERENTES AO ASSUNTO 4

Para os fungos *F. tucumaniae* e *R. solani* de acordo com análise de variância não existiu diferença significativa entre os níveis do fator tratamentos biológicos para emergência, CPA e CR. Por outro lado, para variável sintomas houve diferença significativa em nível de 5% de probabilidade de erro (Apêndice E).

Para o fungo *M. phaseolina* de acordo com análise de variância não existiu diferença significativa entre os níveis do fator tratamentos biológicos para emergência, CPA, CR e sintomas (%) (Apêndice F).

Para o patógeno *S. sclerotiorum* de acordo com análise de variância não existiu diferença significativa entre os níveis do fator tratamentos biológicos para nenhuma das variáveis analisadas (Apêndice F).

Com relação ao patógeno *P. longicolla* de acordo com análise de variância não existiu diferença significativa entre os níveis do fator tratamentos biológicos para emergência, CT e CR. Já a variável sintomas foi significativa em nível de 5% de probabilidade de erro (Apêndice G).

O fato do não surgimento dos sintomas nas raízes das plântulas para os fungos *M. phaseolina* e *S. sclerotiorum*, pode ser porque a infecção nestas, ocorre geralmente na fase de plântula, entretanto, os sintomas secundários só se tornam visíveis nos estádios reprodutivos da soja. Plantas infectadas no estágio de primeiro trifólio exibem estatura menor que as normais e mostram súbita perda de vigor. Em estágio mais avançado da doença, os folíolos tornam-se amarelados, murcham, ficam pardos e retidos nos pecíolos (BOARETTO; DANELLI, 2012).

Outra característica crucial é a apresentada pelo fungo *M. phaseolina*, onde dificilmente ocorre isolado de outros fungos que causam podridões radiculares na soja, por isso há dificuldade em quantificar os danos que a doença pode causar (BOARETTO; DANELLI, 2012). Entretanto é conhecido por causar grandes perdas de produtividade. Yang e Navi (2005) citam reduções no rendimento de grãos, de 30 a 50% nas lavouras de soja, em alguns estados dos Estados Unidos. Esses danos podem ser ainda maiores quando plantas próximas à maturação sob alta temperatura (28 a 35 °C), sofrem estresse hídrico (BOARETTO; DANELLI, 2012).

Não houve incidência de sintomas causados por *F. tucumaniae*, em sementes que receberam os tratamentos *T. harzianum*; *B. subtilis*; *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis*; *T. harzianum* + *A. brasiliense*; *B. subtilis* + *A. brasiliense*; *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *P. lilacinus*; *A. brasiliense* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* e *A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* (Tabela 27).

Os sintomas causados nas plântulas de soja por *R. solani* não foram visíveis utilizando os tratamentos *T. harzianum* + *B. subtilis*; *T. harzianum* + *A. brasiliense*; *T. harzianum* + *P. lilacinus*; *B. subtilis* + *A. brasiliense*; *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *A. brasiliense* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* e *A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* (Tabela 27).

O patógeno *P. longicolla* não causou sintomas nas plântulas de soja, quando as sementes foram tratadas com *T. harzianum*; *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis*; *T. harzianum* + *A. brasiliense*; *B. subtilis* + *A. brasiliense*; *A. brasiliense* + *B. japonicum*; *A. brasiliense* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *A. brasiliense*; *T. harzianum* + *B. japonicum* + *P. lilacinus*; *T. harzianum* + *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* e *A. brasiliense* + *B. japonicum* + *P. lilacinus* (Tabela 27).

Tabela 27 - Comparação de médias da variável sintomas (%) (*F. tucumaniae*, *R. solani* e *P. longicolla*). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Tratamentos	Sintomas (%)		
	<i>F. tucumaniae</i>	<i>R. solani</i>	<i>P. longicolla</i>
<i>T. harzianum</i>	0,00 d	9,08 c	0,00 c
<i>B. subtilis</i>	0,00 d	17,17 c	17,42 c
<i>A. brasiliense</i>	41,66 b	33,33 b	17,42 c
<i>B. japonicum</i>	58,33 a	100,00 a	66,66 a
<i>P. lilacinus</i>	0,00 d	50,00 a	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i>	66,66 a	50,00 a	25,50 b
<i>T. harzianum</i> + <i>P. lilacinus</i>	33,33 b	0,00 d	17,42 c
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	0,00 d	41,66 a	17,42 c

CONTINUA...

...continuação

Tratamentos	Sintomas (%)		
	<i>F. tucumaniae</i>	<i>R. solani</i>	<i>P. longicolla</i>
<i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	0,00 d	33,33 a	33,83 b
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	100,00 a	0,00 d	0,00 c
<i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	50,00 a	50,00 a	25,75 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i>	41,66 b	66,66 a	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	58,33 a	0,00 d	33,83 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	0,00 d	41,66 a	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>T. harzianum</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	41,66 b	33,33 a	17,42 c
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i>	58,33 a	0,00 d	9,08 c
<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
<i>B. subtilis</i> + <i>A. brasiliense</i> + <i>P. lilacinus</i>	41,66 b	33,33 a	42,17 b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. lilacinus</i>	33,58 c	50,00 a	17,42 c
<i>A. brasiliense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>P. lilacinus</i>	0,00 d	0,00 d	0,00 c
Sem tratamento	83,33 a	75,00 a	75,00 a

\*Dados não seguidos por mesma letra, na coluna, diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo Lamichhane et al. (2017) o "*damping-off*" é considerado uma das principais doenças da soja, o mesmo é causado por um grupo de fungos de solo e de semente, que podem ocorrer de forma isolada ou em conjunto. Desta forma, as plântulas são levadas à tombamentos em pré e em pós-emergência. Entre os principais agentes causais destas patologias, estão os fungos *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *M. phaseolina* (ISHIKAWA et al., 2018). Assim, a pré-aplicação de agentes de biocontrole pode atuar impedindo o ataque da doença (IPPOLITO; NIGRO, 2000).

Desse modo, verificou-se no presente estudo a alta severidade dos fungos *F. tucumaniae* e *R. solani*, pois ocasionaram danos de até 100% de plântulas infectadas em alguns tratamentos (Tabela 27).

Também se verificou que os produtos que mostraram 100% de eficiência no controle das três doenças listadas na tabela acima, foram tratamentos de associação de dois e três produtos biológicos, reforçando que os biológicos utilizados juntos, somaram modos de ação e conferiram maior controle sobre os fitopatógenos estudados. O efeito



sinérgico de dois antagonistas combinados em um único tratamento pode ter uma propriedade de biocontrole mais eficiente (KHABBAZ; ABBASI, 2014).

Myresiotis e Vryzas (2014) demonstrou que em sementes de tomate inoculadas com uma combinação do *B. subtilis* GB03 e *B. pumilus* SE34 melhoraram a absorção de nutrientes e supressão de patógenos pelas plântulas.

Ainda, o uso de rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* como agentes de biocontrole tem mostrado bons resultados no manejo da murcha bacteriana em tomates (ANITH; MOMOL, 2004; VANITHA et al., 2009; WEI et al., 2011).

No presente estudo verificou-se que o uso individual de *B. subtilis* e *A. brasiliense* foi capaz de proteger as plântulas contra o ataque de *F. tucumaniae*, *R. solani* e *P. longicolla*. Todavia, quando utilizados com mais de um produto os resultados foram ainda melhores.

Carvalho et al. (2011c), verificaram que seis isolados de *T. harzianum* testados possuem potencial como antagonistas contra *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*. A produção de metabólitos voláteis é um mecanismo de ação comum a todos esses isolados. Neste estudo este mesmo agente de controle biológico, se mostrou eficaz na proteção de plântulas de soja contra o ataque de *F. tucumaniae*, *R. solani* e *P. longicolla*.

Rocha e Moura (2013), verificaram em ensaio em casa de vegetação, que as rizobactérias DFs1420 (*Bacillus* sp.) e DFs1421 (*Pseudomonas* sp.) o controle de *R. solanacearum*.

Os fungos fitopatogênicos, abrangendo oomicetos, são uma preocupação global à segurança alimentar, devido a serem difíceis de controlar por apresentarem plasticidade genética e variabilidade populacional (JIMTHA JOHN et al., 2016).

Os microrganismos benéficos somam importantes ferramentas para gerenciamento de culturas mais racionais e seguras (JIMTHA JOHN et al., 2016). Logo, agentes de controle biológico fúngico como *Trichoderma* possuem papel de destaque no controle destes fungos patogênicos de plantas, especialmente oomicetos (JIMTHA JOHN et al., 2016).

O *Bacillus* sp. também, são importantes agentes de biocontrole (LEE; KIM 2016) com potencial atividade antifúngica contra muitos patógenos vegetais (ZACCARDELLI et al., 2013). Além disso, é notável na planta hospedeira, aumento da

disponibilidade de nitrogênio e fósforo e, assim, ocasionando indisponibilidade de nutrientes aos fitopatógenos (MALVIYA et al., 2012).

Logo, estudos como este são de grande relevância para o contínuo avanço da agricultura. Verificar que é possível a utilização destes agentes de controle biológico de forma integrada somando mecanismos de ação para conter a infecção de plântulas por fitopatogenos é de grande relevância para agricultura mais sustentável. Além disso, cria-se alternativas para serem integradas ao controle químico, visto que há patógenos resistentes a muitas destas moléculas.

Do mesmo modo, o uso destes biológicos no tratamento de sementes muitas vezes proporcionaram melhor desenvolvimento de plântulas, seja atuando na indução de resistência ou pela produção de fitohormônios.

#### 6.4 CONCLUSÕES SOBRE O ASSUNTO 4

O tratamento de sementes com agentes biológicos isolados ou em associação apresentam eficiência no controle de fungos de solo.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O trabalho mostrou a eficiência do uso da associação de biológicos para o controle dos principais fungos de solo que acometem a cultura da soja.

O tratamento de sementes de soja com produtos biológicos não interfere na qualidade fisiológica das mesmas.

É importante ressaltar, que o presente trabalho não esgota o assunto a que se propôs investigar. Desta maneira, sugere-se que novos trabalhos possam ser desenvolvidos, considerando o uso a campo, haja visto as interações da biota do solo.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M.T.; ALI, N.Y.; SULEMAN, P. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v.27, p.1354-1359, 2008.
- ADAMS, D. Fungal cell wall chitinases and glucanases. **Microbiology**, v. 150, n. 7, p. 2029-2035, 2004.
- AGAMI, R.A.; MEDANI, R.A.; ABD EL-MOLA, I.A.; TAHA, R.S. Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress. **Int J Environ Agri Res**, v. 2, n. 5, p. 78, 2016.
- AGARWAL, M.; DHEEMAN, S.; DUBEY, R.C.; KUMAR, P.; MAHESHWARI, D.K.; BAJPAI, V.K. Differential antagonistic responses of *Bacillus pumilus* MSUA3 against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* causing fungal diseases in *Fagopyrum esculentum* Moench. **Microbiological research**, v. 205, p. 40-47, 2017.
- AHIMOUA, F.; JACQUES, P.; DELEUA, M. Surfactin and iturin A effects on *Bacillus subtilis* surface hydrophobicity. **Enzyme and microbial technology**, v. 27, n. 10, p. 749-754, 2000.
- AKTUGANOV, G.; MELENTJEV, A.; GALIMZIANOVA, N.; KHALIKOVA, E.; KORPELA, T.; SUSI, P. Wide-range antifungal antagonism of *Paenibacillus ehimensis* IB-Xb and its dependence on chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase production. **Canadian journal of microbiology**, v. 54, n. 7, p. 577-587, 2008.
- ALCÂNTARA NETO, F.; PACHECO, L.P.; ARAÚJO, A.S.F.; PETTER, F.A.; ALMEIDA, F.A.; ALBUQUERQUE, J.A.A. Tempo de contato e de combinações de fungicidas, aditivo e inoculante sobre a sobrevivência de rizóbios e nodulação da soja. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 8, n. 1, p. 149-154, 2014.
- ALI, H.Z.; QADER, A.R.A.A.; ABDULLAH, A.A.; SAOOD, H.M.; MOHAMMED, A.S.; SALMAN, S.D. Antagonistic activity between *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. rc, *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium meliloti* and certain fungal pathogens under laboratory conditions. **Asian Journal of Science and Technology**, v. 8, n. 5, p.4718-4728, 2017.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.J.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4. ed. São Paulo-SP: Agronômica Ceres, 2005. p. 570- 588.

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.; AMORIM, 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.

ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.; FARIAS, J.R.B.; DE OLIVEIRA, M.C.N.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; ... GAUDÊNCIO, C.D.A. *Macrophomina phaseolina* em soja. **Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E)**, 2014. 55p.

ALMEIDA, O.C.; ROBBS, C.F.; AKIBA, F.; KIMURA, O. Enfermidade nova em pimentão causada por *Rhizoctonia solani* Kühn, no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.5, p.7-10, 1980.

AL-NAEMI, F. A.; AHMED, T. A.; NISHAD, R.; RADWAN, O. Antagonistic effects of *Trichoderma harzianum* isolates against *Ceratocystis radicola*: pioneering a biocontrol strategy against black scorch disease in date palm trees. **Journal of Phytopathology**, v. 164, n. 7-8, p. 464-475, 2016.

ALTOMAR, C.; TRINGOVSKA, I. Beneficial soil microorganisms, an ecological alternative for soil fertility management. In: **Genetics, biofuels and local farming systems**. Springer, Dordrecht, 2011. p. 161-214.

ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMIA, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios**. São Paulo: Editora FAELQ, 2008. p. 69-110.

AMADIOHA, A.C. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachia indica*. **Crop Protection**. v. 19, p.287-290. 2000.

AMORIM, L. Sobrevivência do inóculo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. v.1, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995. p.246-267.

AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasítica* e *Phytophthora citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 565-568, 2002.

ANITH, K.N.; MOMOL, M.T. Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. **Plant Disease**, v. 88, p. 669-673, 2004.

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**, v. 46, n. 3, p. 162- 183, 2005.

ARANTES, B.H.T.; MARTINS, G.D.; CARVALHO, E.R.; NOGUEIRA, L.C.A. Identificação de ferrugem na soja por meio de imagens de alta resolução espacial. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 12, n. 03, p. 1003-1016, 2019.

ARAÚJO, A.S.F.; ARAÚJO, R.S. Sobrevivência e nodulação do *Rhizobium tropici* em sementes de feijão tratadas com fungicidas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 973-976, 2006.

ARAUJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 1639- 1645, 2005.

ARAUJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.2, p. 456-462, 2008.

ABRASEM - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Levantamento estatístico. Taxa de utilização de sementes, Brasil, 2012/2013**. Disponível em: < <http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anu%C3%A1rio-Abrasem-2014.pdf>>. Acesso em: 05 de junho de 2019.

ATHOW, K.L.; CALDWELL, R.M. A comparative study of *Diaporthe* stem canker and pod and stem blight of Soy-bean. **Phytopathology**. v.44, p. 319-325, 1954.

AULER, A.C.V.; CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 7, n. 3, p. 359-365, 2013.

AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Ecologia Microbiana. Jaguariuna: **Embrapa Meio Ambiente**, p. 117-137, 1998.

BABU B.K.; SAXENA A.K.; SRIVASTAVA A.K.; ARORA D.K. Identification and detection of *Macrophoma phaseolina* by using species-specific oligonucleotide primers and probe. **Mycologia**, v. 99, v. 6, p. 797-803, 2007.

BAIRD, R.E.; ABNEY, T.S.; MULLINIX, B.G. Fungi associated with pods and seeds during the R6 and R8 stages of four soybean cultivars in southwestern Indiana. **Phytoprotection**, v. 82, p.1-11, 2001.

BAKER, K.F.; COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. WH Freeman and Company., 1974, 433p.

BALDUCCHI A; McGEE D. Fatores ambientais que influenciam a infecção de sementes de soja pelas espécies *Phomopsis* e *Diaporthe* durante a maturação das sementes. **Plant Dis**, v. 71, n. 3, p. 209-12, 1987.

BAO, Z.; SASAKI, K.; OKUBO, T.; IKEDA, S.; ANDA, M.; HANZAWA, E.; KAKIZAKI, K.; SATO, T.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Impact of *Azospirillum* sp. B510 inoculation on rice-associated bacterial communities in a paddy field. **Microbes and Environments**, v. 28, n. 4, p. 487-490, 2013.

BARELLI, L.; MOONJELY.S.; BEHIE, S.W.; BIDOCHKA, M.J. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 657-664, 2016.

BASAMMA, H.; KULKARNI, S. Studies on Compatibility of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn. with Chemical Fungicides. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 6, n. 3, p. 578-586, 2017.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L.E. *Azospirillum* plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Horizontal and vertical movement of *Azospirillum brasilense* Cd in the soil and along the rhizosphere of wheat and weeds in controlled and field environments. **J. Gen. Microbiol**, v. 133, p. 3473-3480, 1987.

BASHAN, Y., *Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton, and wheat. **Can. J. Microbiol**, v. 44, p. 168-174, 1998.

BATISTA, D.D.C.; DE OLIVEIRA, S.M.; TAVARES, S.C.; LARANJEIRA, D.; NEVES, R. A.F.; SILVA, R.L. Efeitos de fungicidas inibindo o crescimento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e interferência com *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n. 4, p. 305-310, 2002.

BATTISTUS, A.G.; HACHMANN, T.L.; MIORANZA, T.M.; MULLER, M.A.; MADALOSSO, T.; FAVORITO, P.A.; GUIMARÃES, V.F.; KEIN, J.; KESTRING, D.; INAGAKI, A.M.; BULEGON, L.G. Synergistic action of *Azospirillum brasilense* combined with thiamethoxam on the physiological quality of maize seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v.13, n.49, p.4501-4507, 2014.

BAUDET, L.M.; VILLELA, F.A. Armazenamento de sementes, In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. (Eds.) – **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Ed. Universitária/UFPel, Pelotas, 2012, p. 481-528.

BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; FILHO, A.B.; Damping off. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. v. 1, p. 435-436, 2011.

BEHDANI, M.; ETEBARIAN, H.R.; KHODAKARAMIAN, G.; MOHAMMADIFAR, M. Biological control of *Bipolaris spicifera*, the causal agent of wheat root rot by

*Pseudomonas fluorescens* isolates. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 4, n. 8, p.483-488, 2012.

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L.M.P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p.1044-1051, 2012.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M. Comparación entre coinoculación con *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. 27, n. 2, 2010.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN, A.F.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 717-728.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. Plenum Press: New York, 1994. 445p.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, 663p.

BIZARI, E.H.; VAL, B.H.P.; PEREIRA, E.D.M.; MAURO, A.O.D.; UNÊDATREVISOLI, S.H. Selection indices for agronomic traits in segregating populations of soybean. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.1, p.110-117, 2017.

BLACK, R.J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectiva. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). **Soja: tecnologia de produção II.**, p.1- 18, 2000.

BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Curr Opin Plant Biol**, v. 4, p. 343-350, 2001.

BOARETTO, C; DANELLI, A.L.D. Podridão cinzenta da raiz. In: REIS, E.M.; CASA, R. T. **Doenças da soja: etiologia, sintomatologia, diagnose e manejo integrado**. Passo Fundo: Berthier, 2012. p. 281-296.

BOLTON, M.D.; THOMMA, B.P.H.J.; NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v.11, n.7, p.1-16, 2006.

BONETT, L.P.; HURMANN, E.M.S.; POZZA JÚNIOR, M.C.; ROSA, T.B.; SOARES, J.L. Biocontrole in vitro de *Colletotrichum musaeapor* Isolados de Trichodermaspp. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 5-10, 2013.



BOTELHO, L.S.; ZANCAN, W.L.A.; MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N. Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, p.35, p.153-160, 2013.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R.P. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 90, n. 1, p. 45-47, 1989.

BRACCINI, A.L.E.; DAN, L.G.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA M.C.; ORTIZ, A.H.T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.58-64, 2012.

BRACCINI, A.L.; MARIUCCI, G.E.G.; SUZUKAWA, A.K.; DA SILVA, L.L.H.; PICCININ, G.G. 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 Agraria Paranaensis**, v. 15, p. 27-35, 2016.

BRASIL. **Projeções do agronegócio. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília. Julho de 2016.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 399p., 2009.

BRITO, F.S.; MILLER, P.R.M.; STADNIK, M. Presença de *Trichoderma spp.* em composto e suas características para o controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, p. 43-53, 2010.

BULEGON, L.G.; KLEIN, J.; RAMPIM, L.; GUIMARÃES, V.F.; BATTISTUS, A.G.; KESTRING, D. Desenvolvimento inicial de plântulas de soja inoculadas e Co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Agronomic Sciences**, v.3, n.1, p.26-37, 2014.

BULEGON, L.G.; RAMPIM, L.; KLEIN, J.; KESTRING, D.; GUIMARÃES, V.F.; BATTISTUS, A.G.; INAGAKI, A.M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoam**, v. 34, p. 169-176, 2016.

CABANILLAS, E.; BARKER, K.R.; DAYKIN, M.E. Histology of the interactions of *Paecilomyces lilacinus* with *M. incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, v. 20, p. 362-365, 1988.

CABRA, T.C.; RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, C.A.; VILLOTA CUASQUER, C.P.; TAPASCO ALZATE, O.A.; HERNÁNDEZ, A.R. *Bacillus* effect on the germination and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L). **Acta Biológica Colombiana**, v. 22, n. 1, p. 37-44, 2017.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. *Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of Azospirillum and Arthrobacter*. **Plant and Soil**, v. 115, n. 1, p. 151-153, 1989.

CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.C.P.; MEYER, M.C.; SILVA, J.R.C.; NUNES JUNIOR, J. Mofo-branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p.100-101, 2010.

CAMPOS, R.J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicide and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v.48, n.1- 3, p.154-163, 2009.

CAO, Y.; PI, H.; CHANDRANGSU, P.; LI, Y.; WANG, Y.; ZHOU, H.; XIONG, H.; HELMANN, J.D.; CAI, Y. Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

CARDOSO, E.J.B.N.; NOGUEIRA, M.A. A Rizosfera e seus Efeitos na Comunidade Microbiana e na Nutrição de Plantas. In: SILVEIRA, A.P.D., FREITAS, S.D.S. **Bactérias Diazotróficas Associadas a Plantas Não-Leguminosas**. In: Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental. 1.ed. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p.79-96.

CARDOSO, M.B.; PASCUTTI, T.M.; FERREIRA FILHO, P.J.; PRADO, E.P.; GUERREIRO, J.C. Associação da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* com agrotóxicos utilizados no tratamento de sementes de soja/Association of *Bradyrhizobium japonicum* bacteria with pesticides used to treat soybean seeds. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 18526-18537, 2019.

CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A.M. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 822-828, 2011a.

CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO, J.; SILVA, M.C. Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli in vitro and on seeds and growth promotion of common bean in early stages by *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 28-34, 2011c.

CARVALHO, D.D.C.; MELLO, S.C.M.; LOBO JUNIOR, 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*. **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2011b.

CARVALHO, I.R.; NARDINO, M.; DEMARI, G.H.; SZARESKI, V.J.; FOLLMANN, D.N.; PELEGRIN, A.J.; FERRARI, M.; OLIVOTO, T.; BARBOSA, M.H.; OLIVEIRA, A.C.; MAIA, L.C.; SOUZA, V.Q. Relações entre características fenotípicas de vagens de

soja e hábito de crescimento. **Revista Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, v.12, p.450-458, 2017.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 e *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculados isoladamente ou em combinação, promovem a germinação das sementes e o crescimento precoce de plântulas de milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L.). **Revista Europeia de Biologia do Solo**, v. 45, n. 1, p. 28-35, 2009.

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F.D.; SALAMONE, I.G. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 61-86.

CASSÁN, F.D.; OKON, Y.; CREUS, C.M. Handbook for *Azospirillum*. **Springer, Basel. doi**, v. 10, p. 978-3, 2015.

CASSÁNA, C. DIAZ-ZORITAB, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 1, n. 103, p. 117-130, 2016.

CASTILLO, F.D.H.; PADILLA, A.M.B.; MORALES, G.G.; SILLER, M.C.; HERRERA, R.R.; GONZALES, C.N.A.; REYES, F.C. In vitro antagonist action of *Trichoderma* strains against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium cepivorum*. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 6, p. 410-417, 2011.

CERESINI, P.C.; FENILLE, R.C.; SOUZA, N.L. de. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* Kühn GA 4 HGI à vagens de amendoineiro (*Arachis hypogaea*) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.22, p.145-155, 1996.

CERESINI, P.C.; SOUZA, N.L. de. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* Kühn GA 4 HGI e GA 2-2 IIIB ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.23, p.14-24, 1997.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; CHAGAS, L.F.B.; DOS SANTOS, G.R.; MARTINS, A.L.L.; DE CARVALHO FILHO, M.R.; DE OLIVEIRA MILLER, L. Ação de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Agri-Environmental Sciences**, v. 4, n. 2, p. 9-15, 2018.

CHAGAS, L.F.B.; CASTRO, H.G.; COLONIA, B.S.O.; CARVALHO FILHO, M.R.; MILLER, L.O.; CHAGAS JUNIOR, A.F. Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 1- 11, 2016.

CHIBEBA, A.M.; DE FÁTIMA GUIMARÃES, M.; BRITO, O.R.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Co-Inoculation of Soybean with Bradyrhizobium and Azospirillum Promotes Early Nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p.1641-1649, 2015.

CHITTIHUNSA, T.; BANGEEKHAN, E.; WONGSAMITKUL, N.; SUBSOMBOON, T. Rastreio de *Bacillus spp.* suprimindo a infecção por *Trichoderma sp.* no cultivo de cogumelos. **KMITL Science and Technology J.**, v.7, (S1), p.19–27, 2007.

CHUNG, G.; SINGH, R.J. Broadening the Genetic Base of Soybean: A Multidisciplinary Approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n.5, p. 295-341, 2008.

COHEN, A.C.; TRAVAGLIA, C.N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P.N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, v.87, n.5, p.455-462, 2009.

CONAB – Companhia Nacional do Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos - Safra 2019/20**. v. 7, n.8, 2020.

CONCEIÇÃO, G.M.; BARBIERI, A.P.P.; LÚCIO, A.D.; MARTIN, T.N.; MERTZ, L.M.; MATTIONI, M.N.; LORENTZ, L.H. Desempenho de plântulas e produtividade de soja submetidas a diferentes tratamentos químicos nas sementes. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1711-1720, 2014.

COPPO, J.C.; STANGARLIN, J.R.; MIORANZA, T.M.; COLTRO-RONCATO, S.; KUHN, O.J. & SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Sanidade e germinação de sementes de soja tratadas com extratos de plantas e de fungo. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 15, n. 2, p. 92-99. 2017.

COSTA NETO, P.R.; ROSSI, L.F.; ZAGONEL, G.F.; RAMOS, L.P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 54, n. 11, p. 2833-2837, 1988.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**. v.38, n.4, p.547-552, 2016.

CUNHA, R.P.; CORRÊA, M.F.; SCHUCH, L.O.B.; OLIVEIRA, R.C.; ABREU JUNIOR, J.S.; SILVA, J.D.G.; ALMEIDA, T.L. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1761-1767, 2015.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.

DAS, S. N.; SARMA, T. C.; TAPADAR, S. A. In vitro evaluation of fungicides and two species of *Trichoderma* against *Phomopsis vexans* causing fruit rot of brinjal (*Solanum melongena* L.). *International Journal of Scientific and Research Publications*, v. 4, n. 9, 2014.

DA SILVA, A.F.; DE CARVALHO, M.A.C.; SCHONINGER, E.L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; SANTOS, P.A. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. *Bioscience Journal*, v. 27, n. 3, 2011.

DA SILVA, E.R.; SALLES, J.S.; ZUFFO, A.M.; STEINER, F. Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em sementes de amendoim de diferentes tamanhos. *Journal of neotropical agriculture*, v. 4, n. 5, p. 93-102, 2017.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J.C.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; CONTE, O. **Diversificação de espécies vegetais como fundamento para a sustentabilidade da cultura da soja**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2015. 60 p. (Embrapa Soja. Documentos Online, 366).

DEGENKOL, B.T.K.; FOG NIELSEN, R.; DIECKMANN, F.; BRANCO-ROCHA, P.; CHAVERRI, G.J.; SAMUELS, U.T.; HANS VON DÖHREN, A.; VILCINSKAS, H. Brückner Peptaibol, secondary-metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. *Chemistry & biodiversity*, v. 12, n. 4, p. 662-684, 2015.

DEMIRCI, F.; DENIZHAN, E. *Paecilomyces lilacinus*, a potential biocontrol agent on apple rust mite *Aculus schlechtendali* and interactions with some fungicides in vitro. *Phytoparasitica*, v. 38, n. 2, p. 125-132, 2010.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina***. Viçosa: UFV, 1978. 166p.

DHINGRA, O.D.; SILVA JUNIOR, G.J.; RODRIGUES, F.A. Patologia de Sementes. In: SEDIYAMA, T. **Tecnologia de Produção de Sementes de Soja**. Londrina: Mecenias, 2013, p.135-1162.

DINESH, R.; ANANDARAJ, M.; KUMAR, A.; BINI, Y.K.; SUBILA, K.P.; ARAVIND, R. Isolation, characterization, and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects on ginger. *Microbiol Res*, v. 173, p. 34-43, 2015.

DJIAN, C.; PIJAROWSKI, L.; PONCHET, M.; ARPIN, N. Favre-bonvin Acetic acid: a selective nematocidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. **Nematologica**, v. 37, p. 101-112, 1991.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, J.I. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, v. 34, n. 7, p. 869-881, 1982.

DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 1464–1473, 1976.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. **Compendium of soil fungi**. CRC Press, London. 1980. 630 p.

DOS SANTOS, E.L.; CATTELAN, A.J.; PRETE, C.E.C.; NEUMAIER, N.; DE OLIVEIRA, M.C.N.; FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L. Níveis de disponibilidade hídrica sobre componentes de produção e rendimento de cultivares de soja. **Global Science and technology**, v. 7, n. 3, p.1-11, 2014.

DOS SANTOS, M.P.; VALE, L.S.R.; REGES, N.P.R.; CARVALHO, B.M. Desempenho de sementes de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na microregião de cereais-go. **Global Science and Technology**, v. 8, n. 3, 2016.

DRUZHININA, I.S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B.A.; KENERLEY, C.M.; MONTE E.; MUKHERJEE, P.K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I.V.; KUBICEK, C.P. Trichoderma: a genômica do sucesso oportunista. **Nat Rev Microbiol**, v. 9, p.749–759, 2011.

EL-HENDAWY, H.H.; ABO-ELYOUSR, K.A.M. Combination of different antagonistic bacteria to control of potato blackleg disease caused by *Pectobacterium atrosepticum* under greenhouse and field conditions. **Int. J. Phytopathology**, v. 5, n. 1, p. 35-43, 2016.

ELIAS, S.G.; COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B.; BAALBAKI, R.Z. **Seed Testing: Principles and practices**. Michigan State University Press: East Lansing, 2012. 354p.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja - região Central do Brasil 2012 e 2013**. Londrina, 2011. 261p.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil 2005**: Soja: um sucesso brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 1º ed., n.6, 2004, 239p.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A.C.F.D.; STEFANELO, D.R.; ROCHA, E.K.D. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 127-133, 2005.

DELP, C. J.; DEKKER, J. Fungicide resistance: definitions and use of terms. **EPPO Bulletin**, v. 15, n. 3, p. 333-335, 1985.

FARIA, M.R.; TIGANO, M.S. **Coleção de fungos entomopatogênicos do Cenargen**. Brasília, DF: Embrapa, 1996. 76 p.

FELICI, C.; VETTORI, L.; GIRALDI, E.; FORINO, L.M.C.; TOFFANIN, A.; TAGLIASACCHI, A.M.; NUTI, M. Single and co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* on *Lycopersicon esculentum*: effects on plant growth and rhizosphere microbial community. **Appl Soil Ecol**, v. 40, n. 2, p. 260-270, 2008.

FERNANDO, W.G.D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG Y. Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary Recent. **Res. Dev. Environ. Biol.**, v. 1, p. 329-347, 2004.

FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S.; ALMEIDA, A.M.R. Moléstias e seu controle. In: Miyasaka, S.; Medina, J. C. (Ed.). **A soja no Brasil**, p. 603-639, 1981.

FERREIRA, F.C.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E.; SOARES, V.N. Cooling of soybean seeds and physiological quality during storage. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 4, p. 385-392, 2017.

FERRIGO, D.; RAIOLA, A.; PICCOLO, E.; SCOPEL, C.; CAUSIN, R. *Trichoderma harzianum* T22 induces in maize systemic resistance against *Fusarium verticillioides*. **J Plant Pathol**, v. 96, p.133-142, 2014.

FIEDLER, Z.; SOSNOWSKA, D. O fungo nematófago *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson também é um agente biológico para o controle de insetos de estufa e pragas de ácaros. **BioControl**, v. 52, p. 547-558, 2007.

FIGUEIREDO, M.V.B.; BONIFACIO, A.; RODRIGUES, A.C.; ARAUJO, F.F. Plant growth-promoting rhizobacteria: key mechanisms of action. CHAUDHARY, D.K.; VARMA, A. **Microbial-mediated induced systemic resistance in plants**. 1 ed Singapore: Springer, 2016, v. 1, p.23–37.

FIGUEREDO, M.S.; TONELLI, M.L.; IBÁÑEZ, F.; MORLA, F.; CERIONI, G.; DE CARMEN TORDABLE, M.; FABRA, A. Resistência sistêmica induzida e desempenho simbiótico de plantas de amendoim desafiadas com patógenos fúngicos e co-inoculadas com o agente de biocontrole *Bacillus* sp. CHEP5 e *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144. **Pesquisa microbiológica**, v. 197, p. 65-73, 2017.

FOTOOHIYAN, Z.; REZAEI, S.; BONJAR, G.H.S.; MOHAMMADI, A.H.; MORADI, M. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* in controlling wilt disease of pistachio caused by *Verticillium dahliae*. **Journal of plant protection research**, v. 57, n. 2, p. 185-193, 2017.

FRANÇA-NETO, J.B. Evolução do conceito de qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, v. 19, n. 2, p. 76-80, 2009.

FRANÇA-NETO J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Importância do uso de semente de soja de alta qualidade. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1,2, p. 37-38, 2010.

FRANÇA-NETO, J. B. Características fisiológicas da semente: germinação, vigor, viabilidade, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio e dano por percevejo tetrazólio. In: LORINI, I. (Ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil – safra 2014/15**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. p.31-47. (Embrapa Soja. Documentos, 378).

FRANCISCO, E.A.; RIBEIRO, B.M.; SILVA, M.J.; SANTOS, I.I.; FERREIRA, M.G.; SCHKALEI, S. Avaliação do efeito de defensivos químicos sobre a germinação de conídios de *Trichoderma endophyticum*. In: **16º Simpósio de Controle Biológico (SICONBIOL)**, Londrina, PR. 2019.

FIDDAMAN, P.J.; ROSSALL, S. The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*. **J. Appl. Bacteriol**, v.74, p.119–126, 1993.

FUKAMI, J.; DE LA OSA, C.; OLLERO, F.J.; MEGÍAS, M.E.; HUNGRIA, M. Co-inoculação de milho com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* como estratégia para mitigar o estresse salino. **Biologia Funcional de Plantas**, v. 45, n. 3, p. 328-339, 2018.

GACITÚA, S.A.; VALIENTE, C.F.; DÍAZ, K.P.; HERNÁNDEZ, J.C.; URIBE, M.M.; SANFUENTES E.V. Identification and biological characterization of isolates with activity inhibitive against *Macrophomina phaseolina* (tassi) goid. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 69, n. 4, p. 526-533, 2009.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTE, J.L.M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertili-zation and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, 2016.

GARCÍA, J.E.; MARONICHE, G.; CREUS, C.; SUÁREZ-RODRÍGUEZ, R.; RAMIREZ-TRUJILLO, J.A.; GROPPA, M.D. In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. **Microbiol. Res.**, v. 202, p. 21–29, 2017.



GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C. Avaliação da resistência da soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, v.37, p.196-203, 2012.

GARY, F.A.; MIHAIL, J.D.; LAVIGNE, R.J.; PORTER, P.M. Incidence of charcoal rot of sorghum and soil populations of *Macrophomina phaseolina* associated with sorghum and native vegetation in Somalia. **Mycopathologia**, v. 114, p. 145–151, 1991.

GEORGHIOU, G.P. **Pest Resistance to Pesticides**. Springer Science & Business Media, Boston, MA 2012, 808p.

GHISSI, V.C.; REIS, E.M.; DEUNER, C.C. Etiology of phomopsis root rot in soybean. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 3, p. 270-272, 2014.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; ... STEWART, A. Have biopesticides come of age?. **Trends in biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.

GLICK, B.R.; CHENG, Z.; CZARNY, J.; DUAN J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. **Eur J Plant Pathol**, v. 119, n. 3, p. 329-339, 2007.

GOPALAKRISHNAN, S.; SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI, R.; VARSHNEY, R.K.; GOWDA, C.L.; KRISHNAMURTHY, L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. **Biotech.**, v. 5, n. 4, p. 355-377, 2015.

GOULART, A.C.P. Fungos no algodão. **Embrapa Agropecuária Oeste. Cultivar**, v. 27. p. 399-402. 2001.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A.; ANDRADE, P.J.M. Qualidade sanitária de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) produzidas no Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 1, p. 42-46, 1995.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R.J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.

GRAY, E.J.; SMITH, D.L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p.395–412, 2005.

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

GUPTA, G.K.; SHARMA. S.K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to

charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v.160, n. 1, p.167-180, 2012.

GUPTA, R.; VAKHLU, J. *Bacillus amyloliquefaciens* W2 nativo como um potencial biocontrole para *Fusarium oxysporum* R1 causando podridão de *Crocus Sativus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 143, p. 123-131, 2015.

GUSAIN, Y.S.; SINGH, U.S.; SHARMA, A.K. Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **Afr J Biotechnol**, v. 14, p. 764-773, 2015.

GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M.D.; OLMEDO-MONFIL V.; HERRERA-ESTRELLA, A. Trichoderma species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 9, p. 6-16, 2019.

HADDAD, P.E.; LEITE, L.G.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Selection of Trichoderma spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesq Agropecu Bras**, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017.

HALFELD-VIEIRA, B.A.; VIEIRA, J.R.; ROMEIRO, R.S.; SILVA, H.S.A.; BARACATPEREIRA, M.C. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n. 8, p. 1247-1252, 2006.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43 – 56, 2004.

HEIMPEL, G.E.; MILLS, N.J. **Biological control: ecology and applications**. Cambridge University Press, Cambridge, 2017, 380p.

HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; LORINI, I. **Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La Niña”**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2010. 7 p. (Circular técnica, 82).

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

HENNING, A.A.; ALMEIDA, Á.M.R.; GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; YORINORI, J.T., COSTAMILAN, L.M., ... DIAS, W.P. Manual de identificação de doenças de soja. **Embrapa Soja-Docmentos (INFOTECA)**, 2014.

HENNING, A. A. Fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de soja. In: Simpósio brasileiro de patologia de sementes, 4., 1996, Gramado. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 40-44.

HENNING, A.A. Manejo de doenças da soja (*Glycine Max.* L. Merrill). **Informativo Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Embrapa Soja**, v.19, n.3. p.09-12. 2009.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A.; RUÍZ-BELTRÁN, Y.; ACEBO-GUERRERO, Y.; MIGUÉLEZ-SIERRA, Y.; HEYDRICH-PÉREZ, M. Microbial antagonists to manage black pod rot in *Theobroma cacao* L. Their present status and perspective use in Cuba. **Rev Protección Veg.**, v. 29, n. 1, p. 11-19, 2014.

HIRAKURI, M.H.; LAZAROTTO, J.J. **Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. 3. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 11-12.

HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J.J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Documentos Embrapa, Londrina, n. 349, 2014.

HOBBS, T.W., SCHMITTHENNER, A.F.; KUTER, G.A. A new *Phomopsis* species from soybean. **Mycologia**, v. 77, p. 535-544, 1985.

HÖFS, A.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T.; BARROS, A.C.S.A. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.92-97, 2004.

HOWELL C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. **Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-35.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **Am. J. Plant Sci.**, v. 6, p. 811-817, 2015.

HUNGRIA, M. CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 413- 425, 2010.

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja – Documentos 325, 2011, 36p.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C. **Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: Bruijn FJ (ed) Biological nitrogen fixations**. Wiley, Ney Jersey, p.1009–1021, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

HU, X.; ZHOU, S.; HE, Y.; LIAO, M.; CHEN, Y.; CHEN, Z. Growth promoting function and application of *Paecilomyces lilacinus* in tobacco production. **Southwest China Journal of Agricultural Sciences**, v. 31, p. 973–979, 2018.

HUYNH, T.T. T. Potencial de biocontrole do *Bradyrhizobium japonicum* contra a síndrome da morte súbita da soja. 2019. **Dissertação** (Patologia Vegetal e Microbiologia), 2019, 98f.

IDRIS, E.E.S.; IGLESIAS, D.; TALON, M.; BORRIS, R. Tryptophan dependent production of 492 indole-3-acetic acids (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus 493 amyloliquefaciens* FZB42. **Molecular PlantMicrobe Interaction**, v. 20, p. 619–626, 2007.

INAGAKI, A.M.; GUIMARÃES, V.F.; RODRIGUES, L.F.O.S.; SILVA, M.B.; DIAMANTE, M.S.; RAMPIM, L.; MIORANZA, T.M.; DUARTE JÚNIOR, J.B. Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 48, p. 3480-3487, 2014.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impacto da aplicação pré-colheita de agentes de controle biológico nas doenças pós-colheita de frutas e legumes frescos. **Crop Prot.**, v. 19 n. 8-10, p. 715-723, 2000.

ISHIKAWA, M.S.; RIBEIRO, N.R.; OLIVEIRA, E.C.; ALMEIDA, A.A.; BALBI-PEÑA, M.I. (2018) - Screening of soybean cultivars resistant to black root rot (*Macrophomina phaseolina*). **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 38-44.

ISLAM, S.; AKANDA, A.M.; PROVA, A. ISLAM, M.D.T.; HOSSAIN, M.D.M. Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression. **Front Microbiol**, v 6, n.1360, 2016.

IZZEDDIN, N.; MEDINA, L. Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. **Salus**, v. 15, n 3, p. 8-18, 2011.

JABER, L.R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological control**, v. 103, p. 187-195, 2016.

JACOBS, H.; GRAY, S.N.; CRUMP, D.H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. **Mycological Research**, v.107, n. 1, p. 47-56, 2003.

JIMTHA, J.C.; JISHMA, P.; ARATHY, G.B.; ANISHA, C.; RADHAKRISHNAN, E.K.; Identificação do crescimento vegetal promovendo Rhizosphere Bacillus sp. Antagonista do WG4 em *Pythium myriotylum* e seu efeito antifúngico aumentado em associação com *Trichoderma*. **Revista de ciência do solo e nutrição de plantas**, v. 16, n. 3, p. 578-590, 2016.

JULIATTI, F.C. Avanços no tratamento químico de sementes. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 3, 2010.

JALILI, F.; KHAVAZI, K.; PAZIRA, E.; NEJATI, A.; RAHMANI, H.A.; SADAGHIANI, H.R.; MIRANSARI, M. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. **J Plant Physiol**, v. 166, n. 6, p. 667-674, 2009.

JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturæ**, v. 196, p. 3-14, 2015.

JATALA, P. Biological control of nematodes. In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C. (eds). **An Advanced Treatise on Meloidogyne**, v. 1. North Carolina State. 1985, p.303-308.

JÚNIOR, A.G.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, 2000.

KARLIDAG, H.; YILDIRIM, E.; TURAN, M.; PEHLUVAN, M.; DONMEZ, F. Plant growth-promoting Rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria xananassa*). **HortScience**, v. 48, n. 5, p. 563-567, 2013.

KIIHL, R.A.S.; GARCIA, A. The use of long juvenile trait in breeding soybean cultivars. In: **World Soybean Research Conference**. v. 4, p.994-1000, 1989.

KHAN, S.N. Macrophomina phaseolina como agente causal de podridão de carvão girassol. **Mycopath**, v 5, p. 111-118, 2007.

KHAN, A.; WILLIAMS, K.; MOLLOY M.P. Purification and characterization of a serine protease and chitinases from *Paecilomyces lilacinus* and detection of chitinase activity on 2D gels Prot. **Expr. Purif.**, v. 32, p. 210-220, 2003.

KHABBAZ, S.; ZHANG, L.; CÁCERES, L.; SUMARAH, M.; WANG, A.; ABBASI, P. Characterisation of antagonistic Bacillus and Pseudomonas strains for biocontrol potential and suppression of damping-off and root rot diseases. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 3, p. 456–471, 2015.

KHABBAZ, S.E.; ABBASI, P.A. Isolamento, caracterização e formulação de bactérias antagonicas para o manejo de amortecimento de mudas e doenças de podridão radicular do pepino. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 60, p. 25-33, 2014.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v.7, p.39-43, 1999.

KOHLER, J.; HERNANDEZ, J.A.; CARAVACA, F.; ROLDAN, A. Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. **Funct Plant Biol**, v. 35, n. 2, p. 141-151, 2008.

KOLCHINSKI, E.M.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005.

KRUGNER, T.L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, 1995, p. 85.

KRZYZANOWSKI, F. C. Desafios tecnológicos para produção de semente de soja na região tropical brasileira. In: World soybean research conference, 7.; International soybean processing and utilization conference, 4.; Congresso brasileiro de soja, 3., 2004. **Proceedings...** Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 1324-1335.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A. **A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura**. Londrina, PR, Embrapa, 2018.

KRZYANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A.; COSTA, N.P. A Semente de soja como tecnologia e base para altas produtividades - Série Sementes. **Circular técnica** 55, 2008, p. 1-8.

KULIK, M.M.; SINCLAIR, J.B. Phomopsis seed decay and pod and stem blight. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B. & RUPE, J.C. (eds.). **Compendium of Soybean Diseases**. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, 1999, p.31-33.

KUMAR, T.V.; VEENA, S.S.; KARTHIKEYAN, S.; SREEKUMAR, J. Compatibility of Trichoderma asperellum with Fungicides, Insecticides, Inorganic fertilizers and Bio-pesticides. **Journal of root crops**, v. 43, n. 2, p. 68-75, 2017.

KUMAWAT, K.C.; SHARMA, P.; SIRARI, A.; SINGH, I.; GILL, B.S.; SINGH, U.; SAHARAN, K. Synergism of Pseudomonas aeruginosa (LSE-2) nodule endophyte with

Bradyrhizobium sp.(LSBR-3) for improving plant growth, nutrient acquisition and soil health in soybean. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 3, p. 47, 2019.

LAGUNAS-LAGUNAS, J.; ZAVALA-MEJÍA, E.; OSADA-KAWASOE, S.; ARANDA-OCAMPO, S.; LUNA-ROMERO, I.; VAQUERA-HUERTA, H. Bacillus firmus como agente de control biológico de Phytophthora capsici Leo. en jitomate (Lycopersicon esculentum Mill.). **Rev Mex Fitop.**, v. 19, n. 1, p. 57-65, 2001.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes. washington: Secretaria Geral da organização dos Estados Americanos**, 1983. 174p.

LAHA, G.S.; VENKATARAMAN, S. Manejo da queima da bainha em arroz com agentes de biocontrole. **Indian Phytopathology** , v. 54, n. 4, p. 461-464, 2001.

LAMICHHANE, J.R.; DURR, C.; SCHWANCK, A.A.; ROBIN, M.H.; SARTHOU, J.P.; CELLIER, V.; MESSÉAN, A.; AUBERTOT, J.N. Integrated management of damping-off diseases. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 37, n. 2, p. 10-25, 2017.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por Bacillus subtilis. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.

LARRAN, S.; SIMON, M.R.; MORENO, M.V.; SIURANA, M.S.; PERELLÓ, A. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. **Biological control**, v. 92, p. 17-23, 2016.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agrícola**, v. 54, p. 89-96, 1997.

LEITE, R.M.V.B. de C. Ocorrência de doenças causadas por Sclerotinia sclerotiorum em girassol e soja. Londrina: Embrapa Soja, (**Embrapa Soja. Circular Técnica, 76**), 2005. 3p.

LEELASUPHAKUL, W.; PRANOM, S.; SOUWALAK, P.H. Purification, characterization and synergistic activity of 1, 3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic Bacillus subtilis NSRS 89-24 against rice blast and sheath blight. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 990–997, 2006.

LEE, Y.S.; KIM, K.Y. Potencial antagônico de Bacillus pumilus L1 contra nemátodo do nó-raiz, Meloidogyne arenaria. **Jornal de Fitopatologia**, v. 164, p. 29-39, 2016.

LEIFERT, C.; LI, H.; CHIDBUREE, S.; HAMPSON, S.; WORKMAN, S.; SIGEE, D.; EPTON, H.A.S.; HARBOUR, A.; Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus*

*subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 78, p. 97-108, 1995.

LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P.; VALLE, L.A.C. Controle Genético de Doenças Radiculares. In: MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, D.E.G.; HENNING, A.A. **Manual de Identificação de Doenças de soja**. 1 ed. Londrina, PR: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Documentos Online, 256), 2005, 72 p.

LIMA, O.D.D.R.; DOS SANTOS, M.S.B.; RODRIGUES, A.A.C. Ação antifúngica in vitro de isolados de *Bacillus* ssp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p.57-64, 2014.

LIM, J.H.; KIM, S.D. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in pepper. **Plant Pathol J.**; v. 29, n. 2, p. 201-208, 2013.

LI, R.; FENG, C.; PANG, G.; SHEN, Q.; LI, R.; CHEN, W. Solubilization of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relations with the Promotion of Tomato Plant Growth. **PLOS One**, v.25, p.1-16, 2015.

LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulants: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Sci Hortic.**, v. 196, p. 109-123, 2015.

LOPEZ, D.C.; SWORD, G.A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological control**, v. 89, p. 53-60, 2015.

LORINI, I. Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil-safra 2015/16. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2017.

LOUREIRO, DE S.E.; NETO, J.A.D.; PESSOA, L.G.A.; DIAS, P.M.; ADÃO, D.V.; YOKOTA, L.A. Effect of plant protection chemicals about the fungi *Trichoderma harzianum* and *Purpureocillium lilacinum*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 6, p. 1-15, 2020.

LUCCA FILHO, O. A.; FARIAS, C. R. J. Patologia de Sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E.; **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**, 3 ed. UFPel: Pelotas, 2012. 573p.

LUNA-MARTÍNEZ, L.; MARTÍNEZ PENICHE, R.A.; HERNÁNDEZ ITURRIAGA, M.; ARVIZU MEDRANO, S.M.; PACHECO AGUILAR, J.R. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. **Rev Fitotec Mex**, v. 36, n. 1, p. 63-69, 2013.

MACENA, A.M.; KOBORI, N.N.; MASCARIN, G.M.; VIDA, J.B.; HARTMAN, G.L. Antagonism of *Trichoderma*-based biofungicides against Brazilian and North American



isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* and growth promotion of soybean. **BioControl**, v. 65, n. 2, p. 235-246, 2020.

MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.D.; ANTONIOLLI, Z.I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAHDIZADEHNARAGHI, R.; HEYDARI, A.; ZAMANIZADEH, H.R.; REZAEI, S.; NIKAN J. Biological control of garlic (*Allium*) white rot disease using antagonistic fungi-based bioformulations. **Journal of Plant Protection Research**, v. 55, n. 2, p. 136-141, 2015.

MALVIYA, M.K.; SHARMA, A.; PANDEY, A.; RINU, K.; SATI, P.; PALNI, L.M.S. *Bacillus subtilis* NRRL B-30408: Um potencial inoculante para culturas cultivadas sob condições de chuva nas montanhas. **Revista de ciência do solo e nutrição de plantas**, v. 12, p. 811-824, 2012.

MANSOUR, A.T.; NIDA, A.I.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Proection**, v. 27, n. 10, p. 1354-1359, 2008.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Abrates: Londrina, 2015. 660p.

MARKOVICH, N.A.; KONONOVA, G.L. Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in protecting plants from fungal diseases. **Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia**, v. 39, n. 4, p. 389-400, 2015.

MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. **Microbiol. Res.**, v. 169, v. 7-8, p. 609–615, 2014.

MASCIARELLI, O.; URBANI L.; REINOSO, H.; LUNA, V. Alternative Mechanism for the Evaluation of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by *Azospirillum brasilense* Strains and Its Effects on the Germination and Growth of Maize Seedlings. **Journal of Microbiology**, vol. 51, n. 5, p. 590-597, 2013.

MASSENSINI, A.M.; BONDUKI, V.H.A.; MELO, C.A.D.; TÓTOLA, M.R.; FERREIRA, F.A., COSTA, M.D. Relative importance of soil physico-chemical characteristics and plant species identity to the determination of soil microbial community structure. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 8-15, 2015.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G.E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, v. 100, n. 11, p. 1213-1221, 2010.

MAYO, S.; GUTIERREZ, S.; MALMIERCA, M.G.; LORENZANA, A.; CAMPELO, M.P.; HERMOSA, R.; CASQUERO, P.A. Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 685, 2015.

MAZZUCHELLI, R.C.L.; SOSSAI, B.F.; ARAÚJO, F.F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 40-47, 2014.

MEDEIROS, J.G.F.; FONTES, I.C.G.; SILVA, E.C.D.; SANTOS, P.D.D.; RODRIGUES, R.D.M. Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) submetidas ao calor húmido. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 191-200, 2019.

MEDEIROS, J.G.F.; NETO, A.C.A.; URSULINO, M.M.; NASCIMENTO, L.C.; ALVES, E.U. Fungos associados às sementes de *Enterolobium contortisiliquum*: análise da incidência, controle e efeitos na qualidade fisiológica com o uso de extratos vegetais. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 47-58, 2016.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLATI, S.F. Controle biológico de doenças em plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5 ed., v.1. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2018, p. 261-274.

MEENA, H.; AHMED, M.A.; PRAKASH, P. Amelioration of heat stress in wheat, *Triticum aestivum* by PGPR (*Pseudomonas aeruginosa* strain 2CpS1). **Bioscience Biotechnology Research Communications**, v. 8, n. 2, p. 171-174, 2015.

MEENA, R.; ARSIA, S.K.; JAIN, Y.K.; DONGRE, M. Compatibility of fungicides with *Trichoderma viridae* against fusarium wilt caused by *Fusarium udum*. **Int. J. Agric. Sci**, v. 10, p. 5268-5271, 2018.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle Biológico de doenças de plantas**. EMBRAPA-CNPDA, p. 7-23, 1991.

MELO, S.C.M. Recursos genéticos de microrganismos. In: Albuquerque, A.C.S.; Silva, A.G. **Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucional e políticas**. **Embrapa Informação Tecnológica**, 2009. v.2, p.679-700.

MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Agro, 1995. 321 p.

MENTEN, J.O.; MORAES, M.H.D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefício. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 3, 2010.

MERCANTE, F.M.; COSTA, M.R.; KAWSKI, N.L.; TARASIUK, V.A.; GOULART, A.C.P. Sobrevivência de *Bradyrhizobium* spp em sementes de soja tratadas com fungicidas e seus efeitos na nodulação das plantas. In: **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 31., 2007, Gramado. Microbiologia do solo: conquistas e desafios para a ciência do solo. [Porto Alegre]: UFRGS Solos: SBCS, Núcleo Regional Sul, 2007.

MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D. Guerra ao mofo. **Cultivar Grandes Culturas**, v.11, n.120, p.16-18, 2009.

MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M. (Ed.). **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p.

MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Universidade Federal Rural de Pernambuco departamento de agronomia are de fitossanidade. Recife 2001, p.123-133.

MISHRA B.K.; MISHRA R.K.; MISHRA R.C.; TIWARI A.K.; YADAV R.S.; DIKSHIT A. Biocontrol efficiency of *Trichoderma viride* isolates against fungal plant pathogens causing disease in *Vigna radiata* L. **Archives of Applied Science Research**, v. 3, n. 2, p. 361-369, 2011.

MISHRA, S.; MISHRA, P.; SINGH, R.; SINGH, G.; SACHAN, S.K. Compatibilidade de diferentes fungicidas sistêmicos e não sistêmicos com *Trichoderma viride*. **Int. J. Curr. Microbiol. Aplicativo. Sei**, v. 8, n. 1, p. 1005-1010, 2019.

MONFORT, E.; LOPEZ-LORCA, L.V.; JANSSON, H.B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonization of seminal roots of wheat and barley by eggparasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1229-1235, 2005.

MONTEIRO, V.N.; SILVA, R.N.; STEINDORFF, A.S.; COSTA, F.T.; NORONHA, E.F.; RICART, C.A.O. New insights in *Trichoderma harzianum* antagonism of fungal plant pathogens by secreted protein analysis. **Current. Microbiol.**, v.61, n.4, p.298-305, 2010.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Eds). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**. p.07-14, 2009.

MOREIRA, C.G.Á.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; BONALDO, S.M.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.DAS. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon*

nardus com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichu lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.332-337, 2008.

MOREIRA, F.M.D.S.; DA SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; DE CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MORGAN-JONES, G. The *Diaporthe Phaseolorum* complex of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v.17, p. 359-367, 1992.

MÜLLER, H.; BERG, C.; LANDA, B.B.; AUERBACH, A.; MOISSEL-EICHINGER, C.; BERG, G. Plant genotype-specific archaeal and bacterial endophytes but similar *Bacillus* antagonists colonize Mediterranean olive trees. **Front Microbiol**, v. 6, p.138, 2015.

MÜLLER, T.M.; SANDINI, I.E.; RODRIGUES, J.D.; NOVAKOWISKI, J.H.; BASI, S.; KAMINSKI, T.H.; Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, v.46, n.2, 2016.

MUNARETO, J.D.; MARTIN, T.N.; MÜLLER, T.M.; NUNES, U.R.; DA ROSA, G.B.; GRANDO, L.F.T. Compatibilidade de *Azospirillum brasilense* com fungicida e inseticida e seus efeitos na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 855-864, 2018.

MUNAWAR, M.; KHAN, S.A.; JAVED, N.; HAQ, I.U.; GONDAL, A.S. Bio-management of tomato wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. **Nematology**, v. 17, n. 4, p. 479-485, 2015.

MUÑOZ-LEOZ, B.; GARBISU, C.; CHARCOSSET, J.Y.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J.M.; ANTIGÜEDAD, I.; RUIZ-ROMERA, E. Non-target effects of three formulated pesticides on microbially-mediated processes in a clay-loam soil. **Sci. Total Environ**, v. 449, p. 345-354, 2013.

MYRESIOTIS, C.K.; VRYZAS, Z. Papadopoulou-Mourkidou E. Enhanced root uptake of acibenzolar-S-methyl (ASM) by tomato plants inoculated with selected *Bacillus* plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **App Soil Ecol.**, v. 77, p. 26-33, 2014.

NAKAJIMA, T.; MITSUEDA, T.; CHARCHAR, M.J.D. First occurrence of sudden death syndrome of soybean in Brazil. **Japanese Agricultural Research Quarterly**, v. 30, n.1, p. 31-34, 1996.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plantas. In: KRZYZANOSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2.1-2.24.

NASCIMENTO, S.R.C.; SILVA, F.H.A.; CRUZ, B.L.S.; DANTAS, A.M.M.; AMBRÓSIO, M.M.Q.; SENHOR, R.F. Sobrevivência de estrutura de resistência de *Macrophomina*

phaseolina e *Sclerotium rolfsii* em solo tratado biologicamente. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 10, n. 1, p. 50-56, 2016.

NAVEED, M.; HUSSAIN, M.B.; ZAHIR, Z.A.; MITTER, B.; SESSITSCH, A. Drought stress amelioration in wheat through inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. **Plant Growth Regul**, v. 73, p. 121-131, 2014.

NAVI, S.S.; YANG, X.B. Impact of crop residue and corn-soybean rotation on the survival of *Fusarium virguliforme* a causal agent of sudden death syndrome of soybean. **J. Plant Pathol. Microbiol**, v. 7, p. 330, 2016.

NCCLS. **Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica dos fungos filamentosos: norma aprovada**. Wayne, Pensilvânia, USA: NCCLS/CLSI by Anvisa (tradução), 2002, 50 p.

NECHET, K.de.L.; DINIZ, I.S.; MARTINS, S.A.; SOUZA, G.R.de; HALFELD-VIEIRA, B. de.A. Mecanismos de ação de rizobactérias do feijão-caupi selecionadas para redução da viabilidade de escleródios de *Rhizoctonia solani*. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 5., 2011, Jaguariúna.[Anais...] Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 1 CD ROM., 2011.

NGUYEN, T.T.T.; PAUL, N.C.; LEE, H.B. Caracterização de *Paecilomyces variotii* e *Talaromyces amestolkiae* na Coréia Com base nas características morfológicas e nas análises filogenéticas multigênicas. **Mycobiology**, v. 44, p. 248–259, 2016.

NOMURA, M.; BARBOSA, G.G.F.; DE LIMA, C.H.; COSTA, E.M.; VENTURA, M.V.A.; VILARINHO, M.S.; PEREIRA, L.S. Qualidade fisiológica de sementes de soja submetidas a doses do inoculante *Bradyrhizobium japonicum*. **Ipê Agronomic Journal**, v. 3, n. 1, p. 91-96, 2019.

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.

OLIVEIRA, A.G.; CHAGAS JÚNIOR, A.F.; SANTOS, G.R.; MILLER, L.O.; CHAGAS, L.F.B. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 149-155, 2012.

PABLO, C.; GARCÍA, R.M.; RIVERO, J.M.; RUIZ, L.R. The role of fungicides in the physiology of higher plants: Implications for defense responses. **The Botanical Review**, v. 69, n. 2, p.162-172, 2003.

PÁDUA, R.R.; ALVARENGA, D.O.; QUEIROZ, P.R.; MELLO, S.C.M. Avaliação e caracterização de potenciais antagonistas de *Sclerotium rolfsii* pertencentes ao gênero *Trichoderma*. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, (Boletim de pesquisa e desenvolvimento), 2007, 23 p.

PANDOLFO, J. D. Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli. 2007. 67 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Fitossanidade) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PANKIEVICZ, V.C.S.; AMARAL, F.P.; SANTOS, K.F.D.N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M.J.; ARISI, A.C.M.; STEFFENS, M.B.R.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; STACEY, G.; FERRIERI, R.A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 907-919, 2015.

PARK, J.O.; HARGREAVES, J.R.; MCCONVILLE, E.J.; STIRLING, G.R.; GHISALBERTI, E.L.; SIVASITHAMPARAM K. Production of leucinostatins and nematocidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson Lett. **Appl. Microbiol.**, v. 38, p. 271-276, 2004.

PARSA, S.; GARCIA-LEMONS, A.M.; CASTILLO, K.; ORTIZ, V.; LOPEZ-LAVALLE, L.A.B.; JEROME, F.B.V. Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 5, p. 783-790, 2016.

PASTOR, F.J.; GUARRO, J. Manifestações clínicas, tratamento e resultado de infecções por *Paecilomyces lilacinus*. **Clin Microbiol Infect**, v. 12, p. 948-960, 2006.

PAULA JÚNIOR, T.J.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R.F.; MORANDI, M.A.B.; LEHNER, M.S.; LIMA, R.C.; CARNEIRO, J.E.S. Limitations in controlling white mold on common beans with *Trichoderma* spp. at the fall-winter season. **Summa Phytopathologica**, v. 38, p.337-340, 2012.

PEARSON, C.A.S.; SCHWENK, F.W.; CROWE, F.J.; KELLY, K. Colonization of soybean roots by *Macrophomina phaseolina*. **Plant Disease**, v. 68, n. 12, p. 1086-1088. 1984.

PEIXOTO NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 62- 77, 2002.

PEREG, L.; DE-BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant Soil**, v. 399, p. 389-414, 2016.

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*. **Revista Agro@ambiente**, v.4, n.2, p.62- 66, 2010.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.E.; ROSA, M.C.M.; COSTA NETO, J. Tratamento fungicida via peliculização e inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja. **Revista Ciências Agrônômicas**, v. 40, p. 433-440, 2009.

PEREIRA NETO, J.V.; BLUM, L.E.B. Adição de palha de milho ao solo para redução da podridão do colo em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 3, 2010.

PERELLÓ, A.; SIMON, M.R.; ARAMBARRI, A.M. Interactions between foliar pathogens and the saprophytic microflora of the wheat (*Triticum aestivum* L.) phylloplane. **Journal of Phytopathology**, v. 150, n. 4-5, p. 232-243, 2002.

PESKE, S.T.; BARROS, A.C.S.A.; SCHUCH, L.O.B. Produção de Sementes, In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E.; **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**, 3 ed. UFPel: Pelotas, 2012. 573p.

PESKE, S.T.; BAUDET, L.M. Beneficiamento de sementes. In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: UFPEL, 2012, 573p.

PICANÇO, M. C. Introdução a entomologia econômica. **Manejo integrado de pragas**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2010, p. 1-12.

PIZÁ, M.C.P.; PREVOSTO, L.; ZILLI, C.; CEJAS, E.; KELLY, H.; BALESTRASSE, K. Effects of non-thermal plas-mas on seed-borne *Diaporthe/Phomopsis* complex and germination parameters of soybean seeds. **Innova-tive Food Science & Emerging Technologies**, v. 49, p. 82-91, 2018.

PHAE, C.; SHODA, M. Investigation of optimal conditions for foam separation of iturin an antifungal peptide produced by *Bacillus subtilis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.71, p.118-121, 1991.

POMMERESCHE, R.; HANSEN, S. Examining root nodule activity on legumes. **FertilCrop Technical Note**, p.1-4, 2017.

POOLE, P.P.; RAMACHANDRAN, V.; TERPOLILLI, J. Rhizobia: de saprófitas a endossimbiontes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 291-303, 2018.

PURKAYASTHA S.; KAUR B.; DILBAGHI N.; CHAUDHURY A. Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. **Plant Pathology**, v. 55, n. 1, p. 106-116, 2006.

QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; SILVA, P.R.F.; VIEIRA, V.M.; ROEHRS, D.D.; CAMARGO, F.A.O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v.61, n.2, p.209-218, 2014.

QUEIROGA, M.D.F.; GOMES, J.P.; ALMEIDA, F.D.A.; PESSOA, E.B.; ALVES, N. Aplicação de óleo no controle de *Zabrotes subfasciatus* e na germinação de *Phaseolis vulgaris*. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v. 16, n. 7, 2012.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J. A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento in vitro de porta-enxertos de macieira'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 624-628, 2002.

RAIS, A.; JABEEN, Z.; SHAIR, F.; HAFEEZ, F.Y.; HASSAN, M.N. *Bacillus spp.*, a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*. **PLoS One**, v. 12, n. 11, 2017.

RAMOS, M.L.G.; RIBEIRO JÚNIOR, W.Q. Effect of fungicide on survival of Rhizobium on seeds and the nodulation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, v.152, n.1, p.145-150, 1993.

RANGNATHSWAMY, M.; PATIBANDA, A.K.; CHANDRASEKHAR, G.S.; SANDEEP, D.; MALLESH, S.B.; AND KUMAR, H.B.H. Compatibility of Trichoderma isolates with selected fungicides in vitro. **International Journal of Plant Protection**, v. 5, n. 1, p. 12-15, 2012.

REGO, F.A.; DIOP, I.; SADIO, O.; SYLVA, M.C.; AGBANGBA, C.E.; TOURÉ, O.; WADE, T.K. Response of cowpea to symbiotic microorganisms inoculation (Arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium*) in cultivated soils in Senegal. **Univers J Plant Sci**, v. 3, n. 2, p. 32-42, 2015.

REINO, J.L.; GUERRERO, R.F.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; COLLADO, I.G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v.7, p. 89-123, 2008.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; MEDEIROS, C.A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina: MC Gráfica Ltda, 2001. 94p.

REIS, E.R.; SEGALIN, M.; MORAES, N.L.; GHISSI, V.C. Efeitos da rotação de culturas na incidência de podridões radicais e no rendimento de grãos da soja. **Summa Phytopathologica**, v.40, p.000-000, 2014.

RIBEIRO, F.C.; COLOMBO, G.A.; CARVALHO, E.V.; PELÚZIO, J.M.; ERASMO, E.A.L. **Controle químico de mancha-alvo da soja (*Corynespora cassiicola*) no cerrado tocantinense –Brasil**. Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, 2017, p26-36.



RICHETTI A.; GOULART A.C.P. Custo de tratar. **Revista Cultivar**, n. 244, p. 18-20, 2019.

ROCHA, G.C.; NETO, A.R.; CRUZ, S.J.S.; CAMPOS, G.W.B.; DE OLIVEIRA CASTRO, A.C.; SIMON, G.A. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas e armazenadas-Physiological quality of treated and stored soybean seeds. **Cientific@-Multidisciplinary Journal**, v. 4, n. 1, p. 50-65, 2017.

ROCHA, D.J.A.; MOURA, A.B. Controle biológico da murcha do tomateiro causada por *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici por rizobactérias. **Trop. plant pathol**, v.38, n.5, 2013.

RODRIGUES, A.C.; ANTUNES, J.E.L.; DE MEDEIROS, V.V.; DE FRANÇA BARROS, B.G.; FIGUEIREDO, M.D.V.B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience journal**, v. 28, n. 1, 2012.

ROJAS, M.M.; TEJEDA, B.; LARREA, J.A.; MAHILLON, J.; HEYDRICH, M. Aislamiento y caracterización de cepas de Bacillus asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). **Rev Bras Agroecol**, v. 6, n. 1, p. 90-99, 2011.

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

ROY, K.W. *Fusarium solani* on soybean roots: nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. **Plant Disease**, v. 81, p. 259-266, 1997.

RUMBOS, C.I.; KIEWNICK, S. Efeito de espécies vegetais na persistência da *Paecilomyces lilacinus* cepa 251 no solo e na colonização radicular pelo fungo. **Plant and Solo**, v. 283, p. 25-31, 2006.

RUPE, J. C. Effects of temperature on the rate of infection of soybean seedlings by *Phomopsis longicolla*. **Can. J. Plant Pathol.**, v. 12, p. 43- 47, 1990.

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

RUPE, J.C.; WEIDEMANN, G.J. Pathogenicity of a *Fusarium* sp. isolated from soybean plants with Sudden death syndrome. **Phytopathology**, v. 76, n. 10, p. 1080-1080, 1986.

RYAN, R.P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D.J.; DOWLING, D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v.278, p.1-9, 2008.

SAHA, D.; PURKAYASTHA, G.D.; GHOSH, A.; ISHA, M.E.; SAHA, A. Isolamento e caracterização de duas novas linhagens de *Bacillus subtilis* da rizosfera de berinjela como potenciais agentes de biocontrole. **Jornal de Patologia Vegetal**, v. 94, n. 1, p. 109-118, 2012.

SAMSON, R.A. Paecilomyces and some allied hyphomycetes. Studies in Mycology. **Baarn: Centralbureau voor Schimmelcultures**, n. 6, p. 119, 1974.

SAMUELS, G.J. Trichoderma: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.

SANTOS, J.M.; VRANDECIC, K.; COSIC, J.; DUVNJAK, T.; PHILLIPS, A.J.L. Resolving the Diaporthe species occurring on soybean in Croatia. **Persoonia, Leiden**, v. 27, p. 9-19, 2011.

SANTOS, H.A.; MELLO, S.C.M.; PEIXOTO, J.R. Associação de isolados de *Trichoderma spp.* e ácido indol-3-butírico (AIB) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 6, p. 966-972, 2010.

SANTOS, A.F.Dos; DHINGRA, O.D. Pathogenicity of *Trichoderma spp.* on the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, n. 4, p. 472-475, 1982.

SANTOS, L.A.; FARIA, C.M.D.R.; MAREK, J.; DUHATSCHEK, E.; MARTINICHEN, D. Radioterapia e Termoterapia como tratamentos de sementes de Soja. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 37-44, 2016.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M.; DEL C.; GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 8, p. 855-872, 2012.

SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 18-29, 2014.

SARAN, P.E. **Manual de identificação das doenças da soja**. 2013. 196 p.

SARAVANAKUMAR, K.; YU, C.; DOU, K.; WANG, M.; LI, Y.; CHEN, J. Biodiversity of *Trichoderma* Community in the Tidal Flats and Wetland of Southeastern China. **Plos One**, v. 11, n. 12, p. 1-18, 2016.

SAVCI, S. Um poluente agrícola: fertilizante químico. **Revista Internacional de Ciência e Desenvolvimento Ambiental**, v. 3, n. 1, p. 73, 2012.

SCHEEREN, B.R.; PESKE, S.T.; SCHUCH, L.O.B.; BARROS, A.C.A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3 p. 035-041, 2010.

SCHUCH, L.O.B.; KOLCHINSKI, E.M.; FINATTO, J.A. Qualidade fisiológica da semente e desempenho de plantas isoladas em soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p.144-149, 2009.

SCHUMACHER, V.; POEHLING, H.M. Efeito in vitro de pesticidas na germinação, crescimento vegetativo e produção de conídios de duas linhagens de *Metarhizium anisopliae*. **Biologia fúngica**, v.116, p. 121-132, 2012.

SEAB - SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABRASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. **Soja – Análise da conjuntura agropecuária, Novembro, 2013.**

SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R.C.T.; NOGUEIRA, A.P.O. Importância Econômica da semente. In: SEDIYAMA, T. **Tecnologia de Produção de Sementes de Soja**. p.11-14. Londrina: Mecenass, 2013

SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R.C.T.; SEDIYAMA, H.A. A soja. In: SEDIYAMA, T.(Ed.) **Produtividade da Soja**. Mecenass: Londrina, 2016. p. 11-18.

SEMENTES MAUÁ. **Cultivar NS 6700 IPRO**. Disponível em: <<https://sementesmaua.com.br/soja/ns-6700-ipro/>>. Acesso em: 24 de abril de 2020.

SHORESH, M.F.; MASTOURI, G.E. HarmanInduced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents Annu. **Rev. Phytopathol.**, v. 48, p. 21-24, 2010.

SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Envolvimento da via de sinalização ácido jasmônico / etileno na resistência sistêmica induzida no pepino por *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, p. 76-84, 2005.

SIEROTZKI, H.; SCALLIET, G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. **Phytopathology**, v. 103, p. 880-887, 2013.

SILVA, J.C.; TORRES, D.B.; LUSTOSA, D.C.; FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. Amazonian. **Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012.

SILVA, J.B.T.; MELLO, S.C.M. Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos. Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2007.

SINCLAIR, J.B. Reevaluation of grading standards and discounts for fungus-damaged soybean seeds. **Journal of the American Oil Chemists Society, Quebec**, v. 72, p. 1415- 1419, 1995.

SINGH, R.K.; SANYAL, P.K.; PATEL, N.K.; SARKAR, A.K.; SANTRA, A.K.; PAL, S.; MANDAL, S.C. Fungus–benzimidazole interactions: a prerequisite to deploying egg-parasitic fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamyosporium* as biocontrol agents against fascioliasis and amphistomiasis in ruminant livestock. **Journal of helminthology**, v. 84, n. 2, p. 123-131, 2010.

SINGH, R.P.; HODSON, D.P.; JIN, Y.; LAGUDAH, E.S.; AYLIFFE, M.A.; BHAVANI, S.; ROUSE, M.N.; PRETORIUS, Z.A.; SZABO, L.J.; HUERTA-ESPINO, J. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: continued threat to food security and prospects of genetic control. **Phytopathology**, v. 105, p. 872–884, 2015.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC: ABEAS, Esal: FAEPE, 1988. 235 p.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. **A review. African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 16, p. 1265-1277, 2014.

SHARMA, R.D.; GOMES, A.C. Effect of *Bacillus* spp. toxins on oviposition and juvenile hatching of *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 53-62, 1996.

SOLANKI, M.K.; SINGH, R.K.; SRIVASTAVA, S.; KUMAR, S.; KASHYAP, P.L.; SRIVASTAVA, A.K. Caracterização do potencial antagônico de duas linhagens de *Bacillus* e sua atividade de biocontrole contra *Rhizoctonia solani* em tomate. **Journal of Basic Microbiology**, v. 53, p. 1-9, 2013.

SOLDERA, M. V., LAURINDO, D., MORALES, A., MARIN, S., BINNEK, E., & ALMEIDA, A. Diversidade genética do complexo diaporthe/phomopsis em soja, no Brasil. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 2008, Londrina. Resumos expandidos... Londrina: Embrapa Soja, 2008., 2008.

SOSA-GOMEZ, D.R. Fungos entomopatogênicos: catálogo de isolados. Londrina: **Embrapa-Soja**, (Série Documentos), v. 1, p. 1-32, 2002.

SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a Biocontrol Agent Against Soilborne Fungi and Plant-parasitic Nematodes in Israel. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 3, n. 3, p. 169-175, 1998.

SRIVASTAVA, R.; KHALID, A.; SINGH, U.S. E SHARMA, A.K. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation

against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. **Biological Control**, v.53, n.1 p. 24-31, 2010.

STOCCO, M.C.; MÓNACO, C.I.; ABRAMOFF, C.; LAMPUGNANI, G.; SALERNO, G.; KRIPPELZ, N.; ... CONSOLO, V.F. Selection and characterization of Argentine isolates of *Trichoderma harzianum* for effective biocontrol of *Septoria* leaf blotch of wheat. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 49, 2016.

SUMIDA, C.H.; DANIEL, J.F.S.; ARAUJOD, A.P.C.S.; PEITL, D.C.; ABREU, L.M.; DEKKER, R.F.H.; CANTERI, M.G. *Trichoderma asperelloides* antagonism to nine *Sclerotinia sclerotiorum* strains and biological control of white mold disease in soybean plants. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 142-156, 2018.

SZARESKI, V.J.; CARVALHO, I.R.; DEMARI, G.H.; PELISSARI, G.; PELEGRIN, A.J.; BARBOSA, M.H.; ROSA, T.C.; SANTOS, N.L.; MARTINS, T.; NARDINO, M.; PEDO, T.; SOUZA, V.Q.; AUMONDE, T.Z. Análise de caminhos aplicada a características agronômicas de soja com hábitos de crescimento contrastantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.12, p.531-538, 2018.

TABERNERO, C.; COLL, P.M.; FERNANDEZ-ABALOS, J.M.; PEREZ, P.; SANTAMARIA, R.I. Cloning and DNA sequencing of bga A, a gene encoding an endo-1,3- 223 1,4-glucanase, from an alkalophilic *Bacillus strain* (N137). **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 60, n. 4, p. 1213-1220, 1994.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA. 3. ed., 2013, 719 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, Porto Alegre, Brazil. 2017, 858p.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 967-980, 1978.

TELES, A.P.; TAKAHASHI, J.Á. Paecilomide, a new acetylcholinesterase inhibitor from *Paecilomyces lilacinus*. **Microbiological research**, v. 168, n. 4, p. 204-210, 2013.

TENDULKAR, S.; SAIKUMARI, Y.; PATEL, V.; RAGHOTAMA, S.; MUNSHI, T.; BALARAM, P.; CHATTOO, B. Isolation, purification and characterization of an antifungal molecule produced by *Bacillus licheniformis* BC98, and its effect on phytopathogen *Magnaporthe grisea*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 6, p. 2331–2339, 2007.

TOMER, A.; SINGH, R.; PRASAD, D. Compatibility *Trichoderma harzianum* with Systemic and Two non Systemic Fungicides of in vitro. **Asian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 4, p. 174-179, 2018.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S.Y.; CHERDYNTSEVA, T.A.; NETRUSOV, A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Appl Biochem Microbiol**, v. 42, n. 2, p. 117-126, 2006.

UNITED STATES. Department of Agriculture. **Market and trade data**. 2017. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>>. Acesso em: 21 Janeiro 2020.

VAN BRUGGEN, A.H.C.; FINCKH, M. Plant diseases and management approaches in organic farming systems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 54, p. 25-54, 2016.

VAN BRUGGEN, A.H.C.; SEMENOV, A.M. Soil Health and Soilborne Diseases in Organic Agriculture (Chapter 3.2). In: FINCKH, M.; VAN BRUGGEN, A.H.C.; TAMM, L. (Eds.), **Plant Diseases and Their Management in Organic Agriculture**, 2015, p. 67-89.

VANITHA, S.C.; NIRANJANA, S.R.; MORTENSEN, C.N.; UMESHA, S. Bacterial wilt of tomato in Karnataka and its management by *Pseudomonas fluorescens*. **Biocontrol**, v. 54, n. 5, p. 685-695, 2009.

VAN SCHOONEVELD, T.; FREIFELD, A.; LESIAK, B.; KALIL, A.; SUTTON, D.A.; IWEN, P.C. *Paecilomyces lilacinus* infection in a liver transplant patient: case report and review of the literature. **Transplant Infectious Disease**, v. 10, n. 2, p. 117-122, 2008.

VENTURI, V.; KEEL, C. Signaling in the rhizosphere. **Trends Plant Sci**, v. 21, n. 3, p. 187-198, 2016.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ, B.A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability a review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.

VIEIRA, S. **Introdução a bioestatística**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 345p.

VIJAYKRISHNA, K.; REDDY, M.S.; KLOEPPER, J.W.; YELLAREDDYGARI, S.; LAWRENCE, K.S.; ZHOU, X.G.; SUDINI, H.; MILLER, M.E.; APPA RAO, P.; SURENDRANATHA REDDY, E.; NIRANJANA S.R.; CHANDRA NAYAKA, S.R. Plant growth-promoting activities of *Bacillus subtilis* mbi 600 (integral®) and its compatibility with commonly used fungicides in rice sheath blight management. **Int. J. Microbiol. Res.**, v. 3, n. 2, p. 120-130, 2011.

VILLA, P.; ALFONSO, I.; RIVERO, M.J.; GONZÁLEZ, G. Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del. **Redalyc. XLI**. v.1, p.52-56, 2007.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; WOO, S.L.; LORITO, M. Trichoderma plant pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.

VOS, C.M.F.; DE CREMER, K.; CAMMUE, B.P.A.; DE CONINCK, B. The toolbox of *Trichoderma spp.* in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p. 400-412, 2015.

VURUKONDA, S.S.K.P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.S.K.Z.A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

WAGHUNDE, R.R.; SHELAKE, R.M.; SABALPARA, A.N. Trichoderma: A significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.

WANG, E.; MARTÍNEZ-ROMERO, E., Sesbania herbacea-Rhizobium huautlense nodulation in flooded soils and comparative characterization of S. herbacea-nodulating rhizobia in different environments. **Microb. Ecol.**, v. 40, p. 25-32, 2000.

WANG, H.; WEN, K.; ZHAO, X.; WANG, X.; LI, A.; HONG, H. The inhibitory activity of endophytic *Bacillus sp.* strain CHM1 against plant pathogenic fungi and its plant growth-promoting effect. **Crop Protection**, v. 28, p. 634-639, 2009.

WEDAJO, B. Compatibility studies of fungicides with combination of *Trichoderma* species under in vitro conditions. **Virol-mycol**, v. 4, p. 149, 2015.

WEI, Z.; YANG, X.; YIN, S.; SHEN, Q.; RAN, W.; XU, Y. Efficacy of *Bacillus*-fortified organic fertiliser in controlling bacterial wilt of tomato in the field. **Applied Soil Ecology**, v. 48, p. 152-159, 2011.

WERLE, M. R. Compatibilidade in vitro de *Trichoderma spp.* frente a diferentes agrotóxicos. 2017. TCC (Trabalho de conclusão de curso). **Bacharel em Agronomia**, 2017, 49f.

WHEELER, T.; RUSH, C.M. Soilborne diseases. In: MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. (Eds.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. New York. JohnWiley & Sons. 2001. p. 935-947.

WIDNYANA K.I.; COKORDA J. Activities *Pseudomonas spp.* and *Bacillus sp.* to stimulate germination and seedling growth of tomato plants. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 9, p. 419-423, 2016.

XIANG, N.; LAWRENCE, K.S.; KLOEPPER, J.W.; DONALD, P.A.; MCINROY, J.A. Biological control of *Heterodera glycines* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soybean. **PLoS one**, v. 12, n. 7, 2017.

XIAO-YING, G.; CHUN-E, H.; TAO, L.; ZHU, O. Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* growth of greenhouse tomato and rhizosphere microbial community. **Journal of Northeast Agricultural University**, v. 22, n. 3, p. 32-42, 2015.

XIA, X.J.; HUANG, Y.Y.; WANG, L.; HUANG, L.F.; YU, Y.L.; ZHOU, Y.H.; YU, J.Q. Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 86, n. 1, p. 42-48, 2006.

YADI, S.; DWININGSIH, S.; TRINY, S.; ZUHAY, R.Z.; NURUL, H.; NISA, R.M. Bioformulation of Antagonistic Bacterial Consortium for Controlling Blast, Sheath Blight and Bacterial Blight Diseases on Rice. **Asian Journal of Plant Pathology**, v. 7, p. 92-108, 2013.

YANG D.; WANG B.; WANG J.; CHEN Y.; ZHOU M. Activity and efficacy of *Bacillus subtilis* strain NJ-18 against rice sheath blight and *Sclerotinia* stem rot of rape. **Biological Control**, v. 51, n. 1, p. 61-65, 2009.

YANG, F.; ABDELNABBY, H.; XIAO, Y. A mutant of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) is a novel biocontrol agent for *Sclerotinia sclerotiorum*. **Microbial pathogenesis**, v. 89, p. 169-176, 2015.

YANG, X.B.; NAVI, S.S. First report of charcoal rot epidemics caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean in Iowa. **Plant Disease**, v. 89, n. 5, p. 526, 2005.

YORINORI, J.T. **Cancro da haste da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, (EMBRAPA CNPSo, comunicado técnico, 44), 1990. 8p.

YORINORI, J.T.; CHARCHAR, M.J.D.; NASSER, L.C.B.; HENNING, A.A. Doenças de soja e seu controle. In: ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. **Cultura da Soja nos Cerrados**, 1993, p. 333-397.

YORINORI, J.T. Epifítia de podridão da raiz na soja causada por *Rhizoctonia solani* no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.2, p.106-107, 1977.

YORINORI, J.T.; YUYAMA, M.M.; SIQUERI, F.V. Doenças da soja. **Boletim de pesquisa de soja**, p. 180-222, 2009.

YOUSSEF, S.A.; TARTOURA, K.A.; ABDELRAOUF, G.A. Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of



ROS-scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. **Biol Control.**, v. 100, p. 79-86, 2016.

YU, D.; LI, C.; HUANG, Y.; HUANG, Z. Joint action of *Trichoderma hamatum* and difenoconazole on growth of a phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* under laboratory conditions. **Pak J Zool**, v. 50, n. 6, p. 2249-2259, 2019.

YU, Z.; ZHANG, Y.; LUO, W.; WANG, Y. Root colonization and effect of biocontrol fungus *Paecilomyces lilacinus* on composition of ammonia-oxidizing bacteria, ammonia-oxidizing archaea and fungal populations of tomato rhizosphere. **Biology and fertility of soils**, v. 51, n. 3, p. 343-351, 2015.

ZACCARDELLI, M.; DE NICOLA, F.; VILLECCO, D.; SCOTTI, R. O desenvolvimento e a atividade supressora de comunidades microbianas do solo sob alteração de compostagem. **Revista de ciência do solo e nutrição de plantas**, v. 13, p. 730-742, 2013.

ZANDONÁ, R.R.; PAZDIORA, P.C.; DE BASTOS PAZINI, J.; SEIDEL, E.J.; ETHUR, L. Z. Insumos químico e biológico no tratamento de sementes e sua interferência no desenvolvimento e produção de soja. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 559-565, 2019.

ZAWOZNIK, M.S.; AMENEIROS, M.; BENAVIDES, M.P.; VÁZQUEZ, S.; GROPPA, M.D. Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum*-inoculated barley seedlings. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.90, n.4, p.1389- 1397, 2011.

ZHANG, F.; GE, H.; ZHANG, F.; GUO, N.; WANG, Y.; CHEN, L.; JI, X.; LI, C. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.100, p.64-74, 2016.

ZHANG, S.M.; WANG, Y.X.; MENG, L.Q.; LI, J.; ZHAO, X.Y.; CAO, X.; ... LI, J.F. Isolation and characterization of antifungal lipopeptides produced by endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* TF28. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 8, p. 1747-1755, 2012.

ZHANG, W.; JIANG, F.; OU, J. Global pesticide consumption and pollution: With China as a focus. **Proc. Int. Acad. Ecol. Environ. Sci.**, v. 1, p. 125-144, 2011.

ZHAO, X.; KUIPERS, O.P. Identification and classification of known and putative antimicrobial compounds produced by a wide variety of *Bacillales species*. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 882, 2016.

ZIMMER, P.D. Fundamentos da qualidade da semente. In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**, 3 ed. UFPel: Pelotas, 2012. 573p.

**APÊNDICE**

Apêndice A – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis Sementes com *T. harzianum* (%), Sementes com *P. lilacinus* (%), Sementes com *B. subtilis* (%), Sementes com *A. brasiliense* (%), Sementes com *B. japonicum* (%). UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Fonte de variação	GL	<i>T. harzianum</i> (%)	<i>P. lilacinus</i> (%)	<i>B. subtilis</i> (%)	<i>A. brasiliense</i> (%)	<i>B. japonicum</i> (%)
Tratamento	8	7.334,0278*	6.140,2778*	7.000,0000*	4.262,5000*	3.887,5000*
Erro	27	23,1481	21,2963	18,5185	28,7037	28,7037
Total	35	-	-	-	-	-
Média geral	-	35,28	24,72	31,67	24,17	20,83
CV (%)	-	13,64	18,67	13,59	22,17	25,72

\* Significativo. <sup>ns</sup> Não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice B – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25 e T26) e cinco tempos de avaliação (0, 24, 48, 72 e 96 horas), conduzido no delineamento inteiramente casualizado. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>F. crassistipitatum</i>	<i>F. tucumaniae</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	20,4403*	9,1219*
Tempo (B)	7	271,7450*	336,4231*
A x B	175	1,3980*	1,1892*
Erro	624	0,0673	0,0513
Total	831		
Média Geral	-	3,28	3,51
CV(%)	-	7,91	6,45

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>R. solani</i>	<i>M. phaseolina</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	4,1114*	7,5590*
Tempo (B)	4	342,8106*	447,2544*
A x B	100	1,6082*	1,4968*
Erro	390	0,0576	0,1349
Total	519		
Média Geral	-	3,01	3,29
CV(%)	-	7,96	11,16

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>S. sclerotiorum</i>	<i>P. longicolla</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	3,8227*	5,5920*
Tempo (B)	4	451,6341*	336,9153*
A x B	100	1,0855*	1,9444*
Erro	390	0,1655	0,2839
Total	519		
Média Geral	-	3,76	3,24
CV(%)	-	10,81	16,46

\* Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice C – Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis de crescimento micelial final: *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *P. longicolla* em função do potencial antagonista de produtos biológicos de um experimento com 26 níveis de controle (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25 e T26), conduzido no delineamento inteiramente casualizado. UTFPR, Campus Pato Branco, 2020.

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>F. crassistipitatum</i>	<i>F. tucumaniae</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	5,6924	4,1862
Erro	78	0,0329	0,0486
Total	103	-	-
Média Geral	-	5,22	5,57
CV(%)	-	3,48	3,96

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>R. solani</i>	<i>M. phaseolina</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	8,2515	3,4513
Erro	78	0,1010	0,0875
Total	103	-	-
Média Geral	-	5,07	5,63
CV(%)	-	6,26	5,25

Fonte de variação	GL	QM	
		<i>S. sclerotiorum</i>	<i>P. longicolla</i>
Agentes de controle biológico (A)	25	4,1527	5,3240
Erro	78	0,0877	0,0947
Total	103	-	-
Média Geral	-	5,73	5,17
CV(%)	-	5,17	5,95

\* Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.  
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice D - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis porcentagem de plântulas normais, anormais e mortas da germinação, porcentagem de emergência a campo, índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), comprimento de plântulas número de plântulas normais, comprimento total e comprimento de raiz. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Fonte de variação	GL	QM		
		Germinação		
		Normais	Anormais	Mortas
Tratamentos	25	1,258,1615*	1,174,3138*	7,7061 <sup>ns</sup>
Erro	78	441,667	398,462	57,308
Total	103	-	-	-
Média geral	-	74,10%	23,46%	2,44%
CV(%)	-	8,97	4,58	98,02

Fonte de variação	GL	QM		
		Comprimento de plântulas		Campo
		CPA	Raiz	Emergência
Tratamentos	25	10,0861*	16,3529*	45,3862*
Erro	78	10,378	20,183	311,923
Total	103	-	-	-
Média geral	-	7,96 cm	15,23 cm	91,56%
CV(%)	-	12,79	9,33	6,10

Fonte de variação	GL	QM	
		Campo	
		IVE	TME
Tratamentos	25	0,3382 <sup>ns</sup>	0,2079 <sup>ns</sup>
Erro	78	0,2354	0,2056
Total	103	-	-
Média geral	-	5,70	8,20 dias
CV(%)	-	8,51	5,53

\* Significativo. <sup>ns</sup> Não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.  
 Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice E - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos *F. tucumaniae* e *R. solani*, respectivamente. UTFPR, *Campus* Pato Branco, 2020.

Fonte de variação	GL	<i>F. tucumaniae</i>			
		QM			
		Emergência final	CT	CR	Sintomas
Blocos	3	538,4615 <sup>ns</sup>	17,9496 <sup>ns</sup>	7,9614 <sup>ns</sup>	66,6065 <sup>ns</sup>
Tratamentos	25	438,1538 <sup>ns</sup>	60,2933 <sup>ns</sup>	18,0740 <sup>ns</sup>	3.722,4434*
Resíduo	75	4,131,282	381,573	129,236	222,371
Total	103	-	-	-	-
Média	-	86,54%	21,19 cm	9,63 cm	27,75%
CV(%)	-	23,49	29,15	37,31	23,55
Fonte de variação	GL	<i>R. solani</i>			
		QM			
		Emergência final	CT	CR	Sintomas
Blocos	3	3,655,1282 <sup>ns</sup>	409,6757 <sup>ns</sup>	273,4866 <sup>ns</sup>	72,5239 <sup>ns</sup>
Tratamentos	25	1,272,1538 <sup>ns</sup>	86,9120 <sup>ns</sup>	45,2231 <sup>ns</sup>	3,162,1619*
Resíduo	75	10,977,949	86,494	348,089	2,326,099
Total	103	-	-	-	-
Média	-	64,04%	21,47 cm	12,11 cm	26,75%
CV(%)	-	51,74	43,33	48,72	29,37

\* Significativo. <sup>ns</sup> Não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.  
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice F - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos *M. phaseolina* e *S. sclerotiorum*, respectivamente. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Fonte de variação	GL	<i>M. phaseolina</i>			
		QM			
		Emergência final	CT	CR	Sintomas
Blocos	3	1.827,4103 <sup>ns</sup>	436,3055 <sup>ns</sup>	199,4725 <sup>ns</sup>	970,5991 <sup>ns</sup>
Tratamentos	25	1.215,9815 <sup>ns</sup>	88,3944 <sup>ns</sup>	50,7591 <sup>ns</sup>	1.524,0239 <sup>ns</sup>
Resíduo	75	1.361,0103	97,0407	48,4852	1.250,9861
Total	103	-	-	-	-
Média		54,35	17,9	11,59	21,86
CV(%)		61,35	55,03	60,06	150,41

Fonte de variação	GL	<i>S. sclerotiorum</i>			
		QM			
		Emergência final	CT	CR	Sintomas
Blocos	3	1.282,0513 <sup>ns</sup>	16.874,1549 <sup>ns</sup>	154,3161 <sup>ns</sup>	6.295,9516 <sup>ns</sup>
Tratamentos	25	520,6154 <sup>ns</sup>	13.905,5047 <sup>ns</sup>	35,0353 <sup>ns</sup>	1.295,6325 <sup>ns</sup>
Resíduo	75	487,3846	13.848,6859	36,8475	1.036,9753
Total	103	-	-	-	-
Média		83,08	30,33	9,84	23,08
CV(%)		26,57	46,91	61,67	139,55

\* Significativo. <sup>ns</sup> Não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Apêndice G - Graus de liberdade e quadrados médios da análise de variância para as variáveis emergência final, índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), comprimento total de plântulas (CT), comprimento de raiz (CR) e sintomas para os fungos *P. longicolla*. UTFPR, *Campus Pato Branco*, 2020.

Fonte de variação	GL	<i>P. longicolla</i>			
		QM			
		Emergência final	CT	CR	Sintomas
Blocos	3	1.607,6923 <sup>ns</sup>	175,8724 <sup>ns</sup>	31,7676 <sup>ns</sup>	1.381,1221 <sup>ns</sup>
Tratamentos	25	933,5385 <sup>ns</sup>	70,7781 <sup>ns</sup>	24,3056 <sup>ns</sup>	1.649,1401*
Resíduo	75	642,359	461,695	180,679	6,344,358
Total	103	-	-	-	-
Média	-	84,23%	21,89 cm	11,47 cm	16,47%
CV(%)	-	20,16	31,04	37,04	152,90

\* Significativo. <sup>ns</sup> Não significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.