

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

THANIÊ GOMES ALCAMIM

**ASSOCIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum*, BIOATIVADORES E
INTERFERÊNCIA DA UMIDADE DO SOLO NO CONTROLE DE
Sclerotinia sclerotiorum NA CULTURA DO FEIJÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS
2019

THANIÊ GOMES ALCAMIM

ASSOCIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum*, BIOATIVADORES E INTERFERÊNCIA DA UMIDADE DO SOLO NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DO FEIJÃO

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

DOIS VIZINHOS
2019



TERMO DE APROVAÇÃO

ASSOCIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum*, BIOATIVADORES E INTERFERÊNCIA DA UMIDADE DO SOLO NO CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* NA CULTURA DO FEIJÃO

por

THANIÊ GOMES ALCAMIM

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 02 de julho de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Sérgio Miguel Mazaró
Orientador
UTFPR – Dois Vizinhos

Jean Carlo Possenti
UTFPR – Dois Vizinhos

Stheffani Lucca dos Santos
Mestranda PPGAG
UTFPR – Dois Vizinhos

Angélica Signor Mendes
Responsável pelos Trabalhos de
Conclusão de Curso

Alessandro Jaquiel Waclawovsky
Coordenador do Curso
UTFPR – Dois Vizinhos

Aos meus **Avós paternos**,
Claudio de Souza Alcamim, *in memoriam*
Luiza Rozalem Alcamim, *in memoriam*
Aos meus **Avós maternos**,
Manoel Guillen Gomes *in memoriam*
Mathilde Garcia Padilha Gomes, *in memoriam*
Ao meu **Pai**,
Nelson de Souza Alcamim
A minha **Mãe**,
Teresinha Aparecida Padilha Gomes Alcamim
Ao meu **Irmão**,
Lucas Gomes Alcamim
A todos os meus amigos.

Com todo amor do mundo e gratidão a vocês dedico.

AGRADECIMENTOS

Estou ciente de que essa página jamais será capaz de conter o nome de todas as pessoas que tornaram essa trajetória de sucesso possível. Portanto desde já peço desculpa aqueles que não estão presentes nessas palavras, mas estejam certos que fazem parte do meu pensamento e da minha eterna gratidão.

Reverencio o Professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro, que dedicou horas em sua rotina atribulada para me orientar não apenas nesse projeto, mas em toda minha trajetória acadêmica. Agradeço por ter me acolhido, pelos ensinamentos compartilhados e dedicação incondicional.

Ao professor Dr. Jean Carlo Possenti, pela coorientação em diversos trabalhos, confiança, paciência e por prontamente me ajudar sempre que o procurei.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, seu corpo docente, direção e administração que possibilitaram o deslumbramento de um mundo cheio de possibilidades e oportunidades pessoais e profissionais.

Ao Grupo de Pesquisa em Fitopatologia e Análise de Sementes, graduandos e pós-graduandos com os quais tive o prazer de conviver e que muito ajudaram em meus experimentos.

À minhas amigas Luana Carolini Tozetto e Ariadny Sanches, que estão ao meu lado desde o primeiro dia de aula, foram elas que apesar das dificuldades, noites mal dormidas e frustrações me fizeram acreditar que esse dia chegaria. Devo a vocês os melhores e mais intensos momentos nesses 5 anos. Do mesmo modo, agradeço a minha amiga Samara Teles Ferraresi, que em 2015 aceitou enfrentar esse desafio ao meu lado, não hesitou nem por um instante, deixou família e amigos para que pudéssemos viver esse sonho juntas. A você o meu amor incondicional.

À minhas amigas de infância, que ao entrar na universidade a distância tornou-se inevitável, cada uma de vocês fizeram presente em minha vida de uma forma única e indispensável. Em especial à Celina Silva Lizidatti e Angela Cristina Pupim, responsáveis pela minha construção pessoal há mais de 10 anos, que apesar de todos os empecilhos e dias corridos, jamais mediram esforços para me ajudar e apoiar no que fosse preciso. A vocês minha devoção.

À minha família, pelo amor, incentivo, força e apoio incondicional. Em especial, aos meus pais Nelson de Souza Alcamim, Teresinha Aparecida Padilha Gomes Alcamim e irmão Lucas Gomes Alcamim, que tanto lutaram pela minha educação apesar de todas as dificuldades, me incentivaram sempre a ir além, confiaram em meu potencial e nunca me deixaram desistir. Nunca vou saber verdadeiramente como agradecer por tudo o que fizeram e fazem por mim, e

sei que qualquer homenagem torna-se banal comparado ao que sinto por vocês. Amo-vos, nessa e em outras vidas.

RESUMO

ALCAMIM, Thaniê Gomes. Associação de *Trichoderma harzianum*, bioativadores e interferência da umidade do solo no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura do feijão. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

O mofo branco, agente etiológico *Sclerotinia sclerotiorum*, é amplamente disseminado pelo mundo, sendo uma das principais doenças do feijoeiro. O fungo da espécie *Trichoderma harzianum* demonstra resultados como agente antagonista de *S. sclerotiorum*, mas sua associação com bioativadores e a umidade do solo são fatores que devem ser avaliados para melhorar sua estabilização e propiciar maior efetividade no biocontrole. O objetivo do trabalho foi avaliar a interferência da umidade do solo no momento da aplicação do *T. harzianum* e a sua associação com bioativadores no controle de *S. sclerotiorum* na cultura do feijoeiro. O experimento foi conduzido no campo experimental e em laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, no período de agosto a novembro de 2018. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram, testemunha (sem aplicação), *T. harzianum* isolado e em associação com bioativadores, sendo todos os tratamentos associados a alta ou baixa umidade do solo. Foram acondicionado 50 escleródios em saquinho de náilon (10x8 cm) e acomodados acima dos solo e abaixo da palhada. O biocontrole *T. harzianum* (Ecotrich[®]) foi aplicado na dose de 200 litros/ha no estágio fenológico V6 e o bioativador utilizado foi na dose de 300ml/ha (Moss). Após 20 dias da aplicação, os escleródios foram recolhidos e encaminhados ao laboratório para a avaliação micelogênica e carpogênica. As variáveis analisadas foram: percentual de escleródios germinados; número de apotécios; quantidade média de apotécios por escleródios. Os resultados demonstram que a aplicação do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum* em condição de alta umidade do solo contribui com a efetividade no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. O uso de *Trichoderma harzianum* em associação com bioativador melhora o desempenho do biocontrole sobre *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Controle biológico. Escleródios.

ABSTRACT

ALCAMIM, Thaniê Gomes. *Trichoderma harzianum* association, bioactivators and soil moisture interference in the control of *Sclerotinia sclerotiorum* on bean culture. 38 f. Completion of Course Work (Agronomy Course). Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhas, 2019.

White mold, etiological agent *Sclerotinia sclerotiorum*, is largely disseminated around the world, being one of the main diseases of the bean plant. *Trichoderma harzianum* mold species shows results as an antagonist agent of *S. sclerotiorum*, but its association with com bioactivators and soil moisture are factors that must be evaluated in order to improve its stabilization and e propitiata greater effectiveness in biocontrol. The purpose of the work was to evaluate the interference of soil moisture in the moment of *T. harzianum* application and its association with bioactivators in the control of *S. sclerotiorum* in bean plant culture. The experiment was conducted in experimental field and in laboratories of Federal Technological University of Paraná, Dois Vizinhas Campus, in the period of august to november, 2018. The experimental design utilized was the Completely Randomised Design, with six treatments and four repetitions. The treatments were control (no application), *T. harzianum* isolated and in association with bioactivators, all the treatments being associated with high or low soil moisture. 50 scleroses were packed in nylon sachets (10x8 cm) and accommodated above the soil and under the straw. The *T. harzianum* (Ecotrich®) biocontrol was applied in the dose of 200 liters/ha on phenological stage V6 and the bioactivator utilized was in the dose of 300ml/ha (Moss). After 20 days from the application, the sclerotia were collected and forwarded to lab for micelogenic and carpogenic evaluation. The tested variables were: germinated scleroderms percentage; number of apothecia; average amount of apothecia per sclerotia. The results show that the application of biological control agent *Trichoderma harzianum* in high soil moisture conditions contributes to the effectiveness in *Sclerotinia sclerotiorum* control. The use of *Trichoderma harzianum* in association with bioactivator improves the performance of the biocontrol over *S. sclerotiorum*.

Key words: *Phaseolus vulgaris*. Biological control. Sclerosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
2.1 OBJETIVO GERAL	9
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	9
3 REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1 ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA DO FEIJÃO NO BRASIL	10
3.2 IMPACTOS DO MOFO BRANCO NA CULTURA DO FEIJÃO	11
3.3 CICLO DE DESENVOLVIMENTO E EPIDEMIOLOGIA DO MOFO BRANCO	12
3.4 ASPECTOS SINTOMATOLÓGICOS DO MOFO BRANCO	14
3.5 ASPECTOS GERAIS DO <i>Trichoderma harzianum</i>	16
3.6 EFEITO ANTAGONISTA DE <i>Trichoderma harzianum</i> SOBRE O MOFO BRANCO ..	16
3.7 BIOATIVADORES NA AGRICULTURA	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AREA EXPERIMENTAL	21
4.2 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DOS ESCLERÓDIOS	21
4.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO EM CAMPO	22
4.3.1 Umidade do solo	23
4.3.2 Coleta dos escleródios	24
4.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO EM LABORATÓRIO	25
4.4.1 Autoclavagem do solo	25
4.4.2 Processo de montagem da germinação carpogênica	25
4.4.3 Processo de montagem da germinação miceliogênica	26
4.5 VARIÁVEIS ANALISADAS	27
4.5.1 Germinação carpogênica	27
4.5.2 Germinação miceliogênica	28
4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5 RESULTADOS E DISCUSÕES	29
5.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA	29
5.2 <i>Trichoderma harzianum</i> , BIOATIVADORES E O FATOR UMIDADE COMO CONTROLE DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA	33
6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIA	39

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um grande potencial para a produção de leguminosas, o que o favorece diante do apelo por uma maior demanda de alimentos, atingindo de acordo com a FAO a produção em 2014 no patamar de 77 milhões de toneladas. Entre as principais leguminosas está o cultivo do Feijão (*Phaseolus vulgaris*), que compõe a base alimentar de muitas famílias devido ao seu alto valor nutricional e boa aceitação de mercado (FAO, 2017).

O país está entre os principais produtores mundiais do feijão, com destaque ao estado do Paraná que atingiu uma safra de 590 mil toneladas no ano de 2016, o que corresponde a 22,57% do total produzido, em decorrência a facilidade do cultivo, ciclo curto e a possibilidade de realizar três safras ao ano (IBGE, 2017).

Todavia, o cultivo encontra algumas limitações em decorrência ao pouco investimento tecnológico, condições climáticas desfavoráveis, alta incidência de doenças e pragas (CONAB, 2016). Entre os fatores que comprometem a produção, a presença de *Sclerotinia sclerotiorum*, precursora do Mofo Branco na lavoura, merece um cuidado especial em decorrência às condições climáticas favoráveis à proliferação do fungo durante o ciclo da cultura.

A severidade da doença está relacionada à sua forma de disseminação e sobrevivência através dos escleródios, estruturas de resistência que permanecem viáveis no solo. Após o florescimento da cultura, a disseminação pelo vento permite um contato direto dos ascósporos (esporos sexuais do fungo) à abertura causada pela queda das pétalas de flores, podendo levar a perdas de 100% da produção (PURDY, 1979a). Em regiões com temperaturas amenas e elevada umidade relativa as perdas são mais severas, sendo que muitas áreas de cultivo já possuem a doença disseminada via semente contaminada (KAWASAKI, 2010).

Uma alternativa que vem ganhando espaço para a eliminação de *S. sclerotiorum* é a aplicação do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*, fungo de solo que parasita os escleródios impedindo a continuidade do ciclo da doença (JÚNIOR; GERALDI; CARVALHO, 2009). Um dos fatores que potencializam a ação do controle biológico é sua aplicação quando a umidade relativa estiver na faixa de 55% a 70%, condição ideal para o desenvolvimento de *T. harzianum* de campo (LATIFIAN; ESFAHANI; BARZEGAR, 2007). Além da questão da umidade vem se fazendo uso de forma associada de produtos como bioativadores, com função de melhorar a performance dos biológicos.

Os bioativadores surgem no mercado como uma opção de complexo nutricional que deve ser disponibilizado a planta, para potencializar suas estruturas de defesa e torná-las menos suscetíveis a condições bióticas e abióticas desfavoráveis ao seu desenvolvimento (CASTRO e

VIEIRA, 2001). De acordo com Castro (2006), os bioativadores atuam nas reações metabólicas e fisiológicas, potencializando o desenvolvimento da planta mesmo em condições adversas.

Muitos agricultores realizam a aplicação de bioativadores para agregar melhoria ao efeito do *Trichoderma harzianum*, sendo empregados com a argumentação de oferecerem uma disponibilidade de nutrientes aos agentes de biocontrole, na fase inicial de estabilização dos mesmos no solo (SANTIAGO *et al.*, 2017). No entanto, tal informação é uma hipótese, a qual necessita ser validada, bem como o efeito da umidade do solo no momento da aplicação do agente de controle biológico.

Diante da necessidade de um controle eficaz de *Sclerotinia sclerotiorum* no cultivo de Feijão e estudos que demonstrem a efetividade da associação entre bioativadores e *Trichoderma harzianum* com interferência da umidade do solo, o presente trabalho teve como objetivo demonstrar o efeito desses fatores sobre a melhoria do potencial do biocontrole.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de *Trichoderma harzianum* com bioativador e umidade do solo quanto à eficiência no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura do feijão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o controle da germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios através da associação de bioativador e *Trichoderma harzianum* utilizado na cultura do feijão em condição de alta e baixa umidade do solo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA DO FEIJÃO NO BRASIL

Resultado de um reflexo do hábito alimentar dos brasileiros, hoje o país é considerado o maior produtor mundial de Feijão (*Phaseolus vulgaris*), atingindo na safra de 2017/2018 uma produção média no patamar de 3,37 milhões de toneladas (1.014 kg/ha) ocupando uma área de 3,233 milhões de hectares (CONAB, 2018a), sendo parte do investimento voltado ao cultivo do feijão preto destinado à exportação e o feijão carioca responsável pelo abastecimento do mercado interno (SENA, 2017).

A cultura possui uma importante vertente socioeconômica e cultural, devido, primeiramente, ao aspecto nutricional, possuindo mais de 70 componentes entre carboidratos, proteínas e minerais, gerando na safra de 2018 um consumo de 3,3 milhões de toneladas, valores expressivos em comparação aos demais países (CONAB, 2018b). Seguido pela alta demanda de mão de obra para o processo produtivo, resultando em rentabilidade às pequenas e médias propriedades que são as responsáveis pelo maior volume produzido no país (MDA, 2015).

O maior gargalo de produção é a preferência nacional pelo feijão-cores (Carioca) pressionando os agricultores a produzi-lo em maior proporção, ocasionando a limitação na exportação quando a produção excede a necessidade do consumo interno, pois o carioca não possui boa aceitação do mercado internacional (BRASIL, 2019). A situação contrária também é possível, ou seja, a queda na produção favorece a importação, algo raro de acontecer sendo uma estratégia para diminuição do preço pela falta de oferta (SANTA CATARINA, 2012).

Para contornar ou amenizar os desafios do cultivo de Feijão os aspectos produtivos devem estar atrelados ao manejo daquilo que o limita, para que o produtor invista em algo que lhe garanta retorno, com segurança alimentar e otimização de tempo e gastos. Alguns dos principais desafios são: ausência de um efetivo manejo fitossanitário e uso de sementes próprias do plantio anterior, gerando desta forma em desuniformidade de plantio, heterogeneidade entre plantas, baixo rendimento do grão e principalmente disseminação de doenças (SÁ; AZEVEDO, 2012).

3.2 IMPACTOS DO MOFO BRANCO NA CULTURA DO FEIJÃO

O Mofo Branco ou Podridão de Esclerotinia é conhecido como uma doença cosmopolita disseminada por quase todo o mundo em decorrência às suas características de fácil adaptação a condições adversas (PURDY, 1979b). Esse contexto a permitiu estar entre as doenças mais severas, englobando uma vasta gama de plantas hospedeiras, incluindo: 408 espécies, 42 variedades, 278 gêneros e 75 famílias (BOLAND; HALL, 1994).

O primeiro relato da *S. sclerotiorum* no Brasil foi em 1920 na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) no estado de São Paulo (CHAVES, 1964). Porém no mundo o seu relato é ainda mais antigo sendo estabelecido em 1884 a nomenclatura adequada e atualmente vigente: *Sclerotinia Sclerotiorum* (Lib.) de Bary (PURDY, 1979c).

No Brasil as perdas por Mofo Branco no Feijoeiro, no início, restringiam-se ao extremo Sul do país e de modo tênue em algumas regiões do cerrado, que adotaram, após a década de 90, a expansão da técnica do cultivo de feijão irrigado, com produtores da região Centro Sul que a viram como possibilidade de colheita no período seco. No entanto, a técnica beneficiou a proliferação da doença nas safras de outono-inverno, gerando ambiente ideal para o fungo: alta umidade relativa, disponibilidade hídrica no solo principalmente por pivô central e temperaturas atmosféricas amenas (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2006; BALLARIS, 2014). Purdy (1979) relacionou a severidade da doença à incidência do fungo na área de cultivo, que em casos extremos pode levar a perdas de 100% na produção, com problemas em todo ciclo da cultura no caso do feijoeiro, afetando a planta a partir da emergência de campo até estádios mais avançados do cultivo.

No estado de Goiás durante a 3ª safra de cultivo irrigado de feijão os prejuízos gerados pelo mofo branco em 2007, entre gastos com controle e queda na produção, somaram cerca de R\$ 674,57/ha, sendo os valores de produtividade ainda mais notáveis, uma queda em torno de 21.252 toneladas em área total de cultivo no estado (RICARDO; WANDER; JUNIOR, 2008). As perdas chegaram a 70% em sistema de pivô central e 50% no cultivo de feijão comum, antes da cultura atingir o estágio de enchimento dos grãos, onde a principal responsável pela proliferação da doença é o uso de sementes piratas, sendo que não existe tolerância para sementes contaminadas com *Sclerotinia sclerotiorum* (CARDOSO, 1994; NASSER; NAPOLEÃO; CARVAJAL, 1999).

Da mesma forma a doença é um agravante para os Estados Unidos, gerando perdas consideráveis, chegando a valores que ultrapassam os US\$ 200 milhões por ano, pressionando

o país a investir em pesquisas que apresentem alternativas de controle (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2005a). Várias regiões da América do Norte tiveram sérias perdas de produção, sendo em 1946 o seu primeiro relato em Illinois e em 1994 foi enquadrado como um dos fungos mais danosos a agricultura (HOFFMAN *et al.*, 1998).

Visto sua importância e como a mesma pode influenciar negativamente na cultura do Feijoeiro, trabalhos que apontem soluções e alternativas ao problema tornam-se necessários, principalmente em decorrência às características do fungo que o tornam de difícil controle e a intensificação do plantio de culturas hospedeiras, que ainda não possuem material genético de resistência à doença em condições de campo.

3.3 CICLO DE DESENVOLVIMENTO E EPIDEMIOLOGIA DO MOFO BRANCO

A *Sclerotinia Sclerotiorum* é um microrganismo pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, Ordem Helotiales, Família *Sclerotiniaceae* e Gênero *Sclerotinia* (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2005b). Durante todo o ciclo de desenvolvimento, o fungo passa por três distintas fases que inclui dormência, saprofitismo e parasitismo (KORA *et al.* 2003).

Durante períodos em que não há condições ideais para a germinação do fungo, estruturas de resistência são formadas através de uma massa de hifas, de coloração escura e tamanho irregular (Figura 1), denominados escleródios que são alocados dentro ou sobre o tecido vegetal e retornam ao solo através dos restos culturais, onde permanecem viáveis por muito tempo até que encontrem condições ideais e hospedeiros susceptíveis para sua germinação (KIMATI *et al.*, 1997a; GARCIA *et al.*, 2012). Os constituintes químicos que compõem a formação dos escleródios são os esteroides e peróxido de ergosterol, além de triglicerídeos e ácidos graxos em menor quantidade (GARCEZ *et al.*, 2005).

Para a continuidade do ciclo os escleródios germinarão quando as condições do ambiente estiverem propícias ao seu desenvolvimento, normalmente no estágio fenológico R1 da cultura, onde o estabelecimento do crescimento vegetativo fornece um microclima no dossel adequado ao fungo (GÖRGEN *et al.*, 2007). A germinação ocorre de duas possíveis formas, tanto miceliogênica gerando uma massa de hifas que materializam-se em micélios, ou carpogênica, precursora de corpos de frutificação macroscópicos, conhecidos como apotécios

(REIS *et al.*, 2011). Todas essas etapas estão intimamente ligadas às condições de clima (temperatura, umidade), pH do solo e aeração do solo, disponibilidade de nutriente no substrato para o crescimento micelial, idade do escleródio e profundidade que se encontra no solo (WILLETS; WONG 1980, PHILLIPS, 1987). Na figura 1 é possível observar as duas formas de germinação dos escleródios.



(a) Escleródios sobre Gerbox® após germinação carpopêgica com a formação de apotécios.

(b) Escleródios sobre Gerbox® após germinação miceliogênica com a formação de massa de micélios.

Figura 1 – Estruturas de resistência (escleródios) de *Sclerotinia sclerotiorum* com distintas formas de germinação para a continuidade do ciclo da doença.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Durante a reprodução sexuada, ocorre a formação dos apotécios, quando a temperatura estiver em torno de 10 a 25°C, alta disponibilidade hídrica, tanto por meio de chuva ou irrigação que mantenha o solo saturado e alta umidade (SILVA, 2007). A liberação dos ascósporos ocorre em torno de nove dias, tendo produção máxima ao 3° e 4° dia. Apesar de não contaminarem de forma direta o tecido vegetal, poderão de 2 a 3 dias penetrar e colonizar a planta por meio da disseminação pelo vento que facilita o contato entre a estrutura do fungo e a abertura floral (KOHN, 1979; SARTORATO; RAVA, 1994a; CARNEIRO, 2009).

A segunda forma de germinação do fungo transcorre-se assexuadamente pela utilização das reservas nutricionais do fungo para a germinação de micélios estéreis que infectam partes da planta que tenham contato direto com o solo. Ao avançar da doença em condições de alta umidade e temperatura (20 a 25°C), ocorrerá a formação dos escleródios na parte interior e exterior do tecido vegetal, onde retornarão ao solo como fonte de inóculo,

alojando-se em restos culturais, dando origem a novos ciclos da doença (ABAWI; GROGAN, 1979; BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIM, 1995; GOMES *et al.* 2017). Na figura 2 é possível observar de forma dinâmica o ciclo de vida de *S. sclerotiorum* nas duas formas de germinação: carpogênica e miceliogênica.

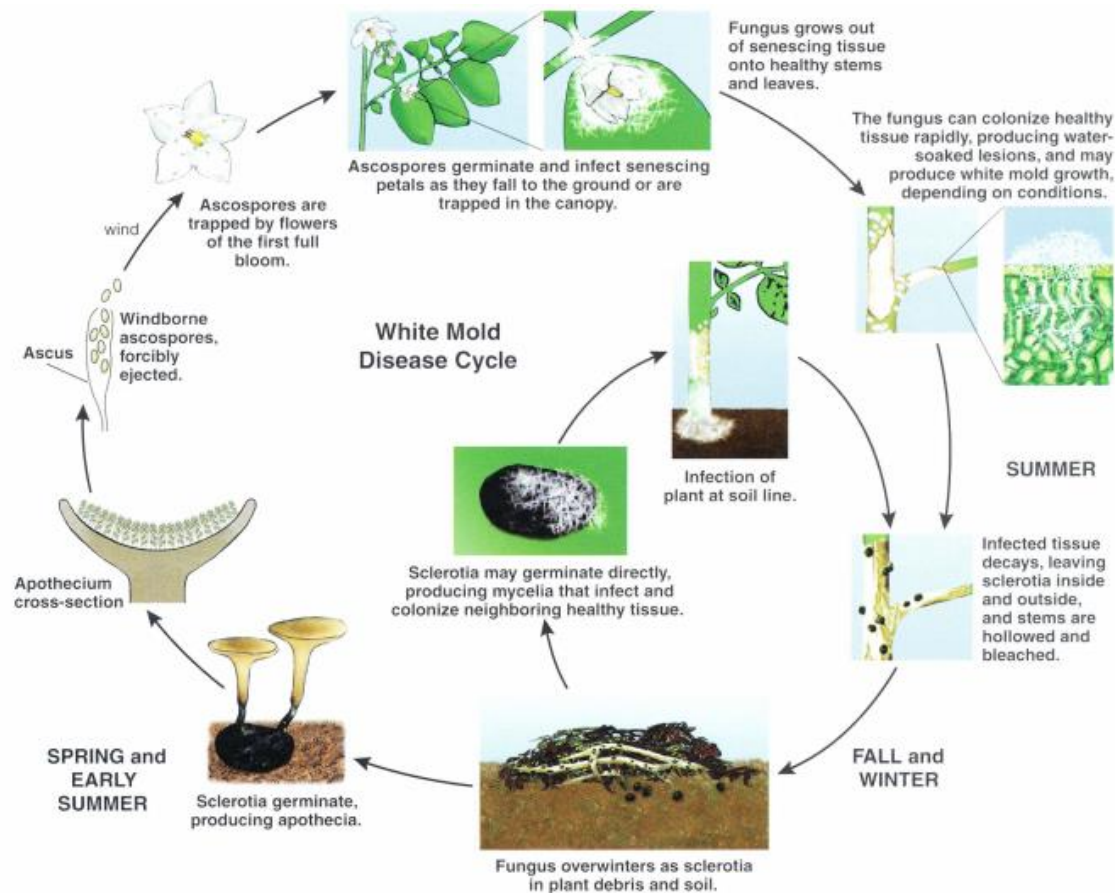


Figura 2 – Ciclo de vida *Sclerotinia sclerotiorum*.
Fonte: Wharton e Kirk (2007).

3.4 ASPECTOS SINTOMATOLÓGICOS DO MOFO BRANCO

O processo infeccioso ocorre em torno de 10 a 15 cm acima da linha no solo, na junção do pecíolo com a haste, onde partes do material vegetal como flores, pétalas e folhas ficam retidas, sendo fontes exógenas de nutrientes para a proliferação do fungo (SARTORATO; RAVA, 1994b).

Durante a fase vegetativa onde a planta está mais susceptível os sintomas mais evidentes surgem, como pequenas manchas de aspecto aquoso (SARAN, 2013). Com o agravante da doença e o aumento representativo das manchas, os órgãos vegetais infectados perdem a cor e apresentam podridão mole, que por sua vez, em condições adequadas propiciará a formação de micélios brancos e cotonosos (KIMATI *et al.*, 1997b). Na figura 3 é possível observar os sintomas da *S. sclerotiorum* no feijoeiro.



**Figura 3 – Vagens de Feijão contaminado por micélio cotonoso em estágio avançado do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*).
Fonte: Embrapa (2008).**

A massa de micélios irá se diferenciar em escleródios na superfície do vegetal e caso exista um rompimento do caule podem infestar a medula (CHAMBERLAIN, 1973). As sementes similarmente são afetadas, refletem os sintomas com a formação de massa de micélios que envolvem-nas ocasionando perdas de coloração, tamanho reduzido e anormalidade no formato que passa a não corresponder ao padrão da cultura (VENEGAS, 2006; PARISI *et al.* 2006).

Com a evolução da infecção do fungo através da liberação de suas toxinas, pode ocorrer a debilitação generalizada na planta, incluindo seus diferentes órgãos, como, haste principal e hastes laterais, flores, folhas e vagens, anulando a capacidade de defesa da planta e adiantando assim seu processo de senescência e por fim, sua morte (MEYER *et al.*, 2014).

3.5 ASPECTOS GERAIS DO *Trichoderma harzianum*

O uso de biológicos vem sendo utilizado como uma alternativa aos produtos químicos, que surge como uma forma de contribuição no que diz respeito à sustentabilidade, proporcionando a segurança alimentar, um importante conceito a ser seguido. Nesse sentido, o *Trichoderma* está entre os microorganismos com grande potencial antagonista para o manejo biológico de doença com destaque ao Mofo Branco, representando o principal constituinte de metade dos produtos biológicos comercializados, onde deste total, 38% é destinada a produção a base do gênero *Trichoderma harzianum* (BETTIOL *et al.*, 2012).

O *Trichoderma harzianum* é um fungo saprofítico de comportamento cosmopolita, habitando diferentes tipos de solos em decorrência das suas características morfológicas e rápido crescimento, que o possibilitou agressividade competitiva em detrimento aos demais fungos (LUCON, CHAVES, BACILIERI; 2014). Esse gênero está classificado taxonomicamente ao Filo Ascomycetes, Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales e Família Hypocreaceae (BLASZCZYK *et al.*, 2014).

O fungo é caracterizado pela presença de conídios (esporos) ovoides, globosos e subglobosos sendo as linhagens em sua maioria uninucleadas influenciando diretamente na variabilidade *Trichoderma harzianum* (PERES; MELO, 1995; SHAH; NASREEN; SHEIKH, 2012). A mudança em sua coloração está intimamente ligada as diferentes fases do ciclo de desenvolvimento do fungo, possuindo em um período inicial micélios de coloração esbranquiçados, onde em decorrência da esporulação tornaram-se verde escuro e cotonosos, todas essas mudanças de fases (crescimento e amadurecimento) são altamente dependentes das condições ideais de clima, pH e alta umidade (OMERO - ARENAS *et al.*, 2009).

3.6 EFEITO ANTAGONISTA DE *Trichoderma harzianum* SOBRE O MOFO BRANCO

O primeiro relato que associou a eficiência do *Trichoderma* ao controle de patógenos ocorreu no ano de 1950 na cultura do Fumo com o propósito de inativar o mosaico comum através das substâncias tóxicas liberadas pelo fungo (FORSTER, 1950). Desde então inúmeros

estudos foram feitos sendo hoje um dos agentes de controle de maior investimento na área da pesquisa, em decorrência as suas características que o tornam eficaz e rentável no setor agrícola.

Devido à alta capacidade de colonizar a rizosfera em áreas de plantas cultivadas e se estabelecer em restos culturais onde auxilia no processo de decomposição da matéria orgânica, o fungo pode afetar inúmeros patógenos de diversas maneiras, tais como antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação ou indução de defesa do hospedeiro (GAUCH; ZOBEL, 1996, GERALDINE *et al.*, 2011). Para inibir a germinação do micro-organismo fitopatogênico há liberação de substâncias tóxicas constituídas de enzimas antifúngicas, incluindo quitinases e beta-1,3 glucanases (HARMAN, 2006).

Para que haja efetividade na ação antagonista do *Trichoderma* sobre a *Sclerotinia sclerotiorum* as aberturas naturais resultantes da germinação carpogênica facilitam a penetração do fungo que adotam um comportamento parasitário (GERALDINE; LOBO JUNIOR, 2011). Temperaturas entre 22 e 30°C em conjunto com umidade do solo em torno de 70% se mostram como as condições ideais para sobrevivência do patógeno, assim como para o desenvolvimento do agente de controle biológico (FIPKE *et al.*, 2015; JACOB *et al.*, 2018). Em condições de campo, a palhada potencializa a atividade biocontroladora sendo o fungo dependendo de um microclima favorável a sua ação, de tal modo obtém-se maior número de escleródios parasitados por *Trichoderma harzianum* em solos com cobertura (GÖRGEN *et al.*, 2009). Na figura 4 é notável a colonização de escleródios por *Trichoderma* impossibilitando a continuidade do ciclo da doença.



Figura 4 – Escleródios (estrutura de resistência) de *Sclerotinia sclerotiorum*, fungo responsável pelo Mofo Branco, colonizados por *Trichoderma* spp.
Fonte: Maurício C. Meyer (2016).

O efeito positivo do *Trichoderma* não está somente relacionado ao controle direto dos escleródios, mas em fatores interligados a proteção do sistema radicular, que por sua vez, gera plantas mais vigorosas e adaptadas a condições adversas (BINSFELD *et al.*, 2014a). Quando testado o fungo em soja, feijão caupi, arroz e milho os resultados obtidos indicaram melhor absorção de nutrientes, aumento da parte aérea e volume radicular de tal forma a gerar resultados acima de 60% de biomassa, quando comparadas à cultivares que não tiveram *Trichoderma* em contato com a raiz (CHAGAS *et al.*, 2017).

A tecnologia de aplicação de *Trichoderma* em plantio de feijão garante o sucesso da ação do fungo, sendo adequado o processo via barra de pulverização ou água de irrigação, para cobrir 100% da área infestada com o patógeno, porém o efeito só será satisfatório quando as condições climáticas no momento da aplicação estiverem ideais (JÚNIOR *et al.*, 2009). Naher *et al.* (2014) relataram que em condições de campo o *Trichoderma* é resistente a maioria dos insumos utilizados na agricultura como herbicidas, fungicidas e compostos fenólicos atribuindo vantagens a sua associação para um manejo de doença eficiente.

3.7 BIOATIVADORES NA AGRICULTURA

Novas tecnologias são lançadas no mercado com o objetivo de preservar ou até mesmo aumentar produção agrícola em locais que apresentem condições bióticas e abióticas adversas, tais como produtos intitulados bioativadores, que buscam interferir na resposta natural da planta e permiti-la máxima expressão (ASSIS *et al.*, 2014). Castro (2006) os definiu como substâncias orgânicas complexas modificadoras do crescimento capazes de atuar em fatores de transcrição da planta e na expressão gênica, em proteína de membrana alterando o transporte iônico e em enzimas metabólicas capazes de afetar o metabolismo secundário, de modo a modificar a nutrição mineral, produzir precursores de hormônios vegetais, levando a síntese hormonal e a resposta das plantas a nutrientes e hormônios.

Alguns trabalhos constataam a eficiência dos bioativadores em tratamentos de semente, onde Battistus *et al.* (2013) demonstraram que inseticidas com propriedade bioativadora Tiametoxam associados a fungicidas proporcionam melhor controle de ferrugem na folha em plantas de trigo. Almeida *et al.* (2011) mostraram que em doses muito elevada do produto ocorre um decréscimo na resposta da planta, sendo na cultura do arroz doses em torno de 300

a 400 mL de produto para 100 kg semente as mais indicadas para a melhoria no desempenho fisiológico.

Na cultura do feijão existem vários trabalhos em diferentes áreas que apontam os pontos positivos no uso de bioativadores. Dentre eles, Castellanos *et al.* (2015) demonstraram que plântulas após tratamento com dose de 105 g de thiamethoxam por 100 kg, aumentaram os valores de clorofila devido à melhoria dos teores de aminoácidos, atividade de enzimas e síntese de hormônios vegetais. Deuner *et al.* (2016) apontaram que sementes de cultivares de Perola e Iapar tratadas com bioativador em doses de 1; 2; 3; 4 e 5 ml por Kg não sofrem influência negativa nas isoenzimas que desempenham funções metabólicas específicas de extrema importância para a manutenção do metabolismo da planta.

Cunha *et al.* (2016) estudaram o efeito do bioativador em diferentes doses sobre sementes de milho com diferentes intensidades na qualidade do lote. Os autores constataram que em 210 a 230 mL de produto por 100 kg de semente a resposta fisiológica e o potencial germinativo foram expressivos, principalmente em lotes com baixa qualidade. O mesmo foi observado em sementes de feijão perola onde em doses de 500 mL por 100 Kg de sementes o bioativador proporciona acréscimos na velocidade de germinação aos 72, 96, 120 e 144 dias após a semeadura (CARVALHO *et al.*, 2014).

Trevisan e Smiderle Junior (2016) concluíram que soja Nidera 5909 com aplicação de bioativador, na quantidade de 2 mL para cada quilograma de sementes em associação a três aplicações foliares, obteve resultados superiores em aspectos como: comprimento da raiz pivotante, número de raízes secundárias, massa seca de parte aérea e de raiz, estatura, número de vagem, número de grãos por vagem. A substância possui boa resposta em hortaliças e frutíferas com melhoria na fisiologia e quebra de dormência respectivamente. Desta forma, Almeida *et al.* (2009) observaram que em sementes de cenouras tratadas em concentrações de 0,05 e 0,4 mL/L do bioativador houve aumento no desempenho fisiológico, independente se ocorreu ou não estresse hídrico, visto a limitação da cultura em condições de campo devido a germinação lenta e desuniformidade na emergência. O Bioativador utilizado na quebra de dormência em gemas de pessegueiros com as cultivares ‘Chiripá’ e Rubidoux apresentou boa quebra de dormência, aumento de frutos por planta e antecipação da colheita (CASTRO *et al.*, 2016).

Apesar de ser amplamente comercializado ainda há controvérsias sobre os seus reais efeitos mostrando resultados conflitantes (VASCONCELOS, 2006). Em germinação de sementes de soja de alto vigor em casa de vegetação, obteve-se resultados negativos quando comparadas às testadas em laboratório, mostrando que não somente o efeito do bioativador

pode ser negativo mas também a necessidade de se testar em diferentes ambientes para obtenção de resultados confiáveis (BINSFELD *et al.*, 2014b).

Há uma dificuldade em encontrar trabalhos que relatem o bioativador como componente que potencialize o agente de controle biológico para eliminação do Mofo Branco. Sobre a umidade relativa adequada para o momento de aplicação os resultados são ainda mais escassos, validando a importância do presente trabalho.

4 MATERIAIS E METÓDOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento em campo foi conduzido na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada na estrada para Boa Esperança, Km 04 - Zona Rural, Dois Vizinhos – PR. A microrregião pertence ao 3º Planalto Paranaense, com altitude média 509 metros acima do nível do mar (planalto com altitude), entre as coordenadas geográficas 25° 44' 03" - 25° 46' 05" Sul e 53° 03' 01" - 53° 03' 10" Oeste – GR. O clima de acordo com a classificação climática de Koeppen que ocorre no município o do tipo climático Cfa.

4.2 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DOS ESCLERÓDIOS

Os escleródios foram obtidos em uma unidade de processamento de grãos, no processo de pré-limpeza, oriundos de lavoura de soja, localizada no município de Guarapuava – PR. Dessa forma, obteve-se escleródios viáveis e com alta patogenicidade, os quais foram utilizados no trabalho. Os escleródios foram devidamente separados de forma aleatória, agrupando 50 escleródios por sacos de tela de náilon com malha de 1,5 mm (Figura 4). Posteriormente, levados em campo, fixados por bandeiras para a demarcação da posição de cada tratamento e sua respectiva repetição.



Figura 5 – Separação dos escleródios alocados em sacos de tela de náilon, posteriormente levados em campo.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

4.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO EM CAMPO

Os produtos testados foram preparados em laboratório, conforme as respectivas doses e recomendação da bula para alvo biológico, e preparado volume de 5 litros, utilizado no experimento, como consta a Tabela 1.

Tabela 1. Doses de recomendação de bula e quantidade adaptada ao volume de calda a ser utilizado. UTFPR, Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Produto	Recomendação de bula	Quantidade para vol. de calda de 5L
<i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich®)	250 g/ha	8,3 g
Bioativador (Moss®)	300 mL/ha	10 ml

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com parcelas de 4 linhas em 6 m de comprimento, em 6 repetições.

Foi realizada uma única aplicação no estágio vegetativo em V6 (Figura 6), sendo calibrado para 200 litros de calda por hectare, com as respectivas associações como pode ser observado na Tabela 2. Os escleródios foram posicionados acima do solo e abaixo da palhada de gramíneas (Figura 7).



a

(a) Demarcação do campo do experimento.



b

(b) Mistura dos produtos realizado no campo em pulverizador costal.

Figura 6 – Etapa de implantação do experimento em campo com a indicação das repetições e tratamentos, assim como mistura correta dos produtos e sua aplicação com pulverizador costal.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).



(a) Aplicação do produto com pulverizador costal em meio a cultura do feijão.



(b) Palhada sobre os escleródios em sistema de plantio direto.

Figura 7 – Aplicação dos produtos e adição de palhada para simulação das condições naturais de campo em sistema de plantio direto caracterizando a última etapa da implantação do experimento em campo

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Tabela 2. Tratamentos que foram avaliados quanto a sua eficiência na germinação de escleródios, em condição de campo na cultura do feijão. UTFPR, Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

TRATAMENTOS	ASSOCIAÇÕES
T1	Testemunha (baixa umidade)
T2	Testemunha (alta umidade)
T3	<i>Trichoderma harzianum</i> + baixa umidade
T4	<i>Trichoderma harzianum</i> + alta umidade
T5	<i>Trichoderma harzianum</i> + Bioativador (MOSS®) + baixa umidade
T6	<i>Trichoderma harzianum</i> + Bioativador (MOSS®) + Alta umidade

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

4.3.1 Umidade do solo

Em campo, para manter a alta umidade do solo, foram a cada dois dias, irrigado a área considerada com alta umidade, com auxílio de um regador, sendo simulada uma chuva de 20

milímetros (Figura 8). A palhada permaneceu sobre o material para que os escleródios não ficassem expostos e manteve-se o ambiente adequado ao fungo.



Figura 8 – Aplicação de água com auxílio do regador para manutenção da umidade sobre os tratamentos previamente determinados
Fonte: Arquivo pessoal (2019).

4.3.2 Coleta dos escleródios

Ao final de 20 dias após a aplicação os escleródios foram retirados do campo, condicionados em sacos de plásticos transparentes onde todas as amostras estavam separadas por tratamento e repetição através de identificação e encaminhadas ao laboratório para a condução das próximas etapas do experimento (Figura 9).

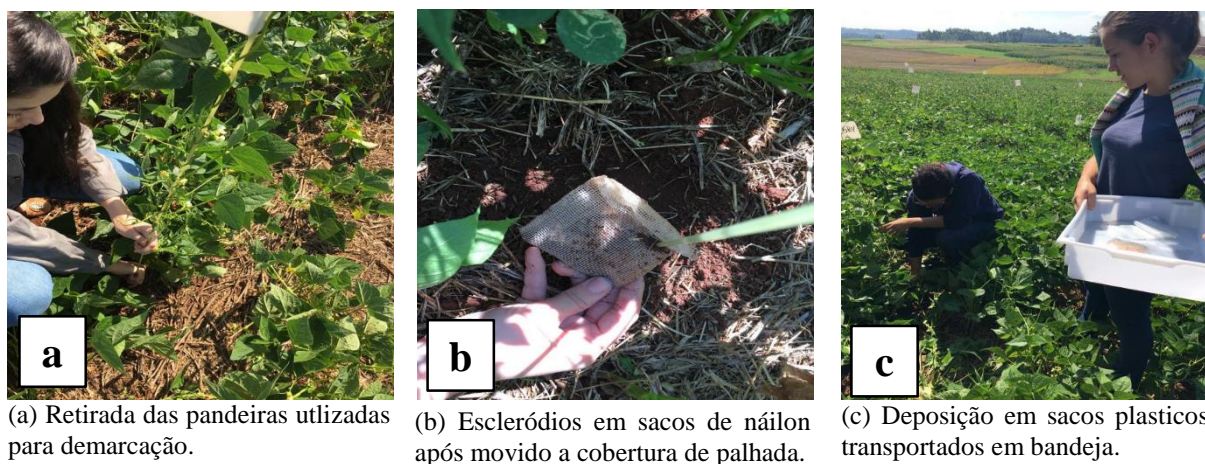


Figura 9 – Processo de retirada dos escleródios em meio ao cultivo de feijão, para posteriormente serem conduzidos em laboratório.
Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

6.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO EM LABORATÓRIO

6.4.1 Autoclavagem do solo

O solo foi coletado na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, que caracteriza-se como o Nitossolo vermelho distroférico, foi realizado o armazenamento em sacos de polipropileno, com espessura de 30 micras que acomoda 4 Kg, após ser devidamente vedado, acomodado na autoclave com uma temperatura de 121°C e pressão de trabalho de 1,2 Kgf cm² (SIEGA, 2018). O processo durou ao todo 3 dias onde o solo permaneceu por 1h em processo de autoclave e intervalo de 24h repetindo o método até completar o total de dias.

6.4.2 Processo de montagem da germinação carpogênica

Foram selecionadas 24 caixas de Gerbox[®] (11 x 11 x 3,5 cm com capacidade máxima de 250 ml) que acomodaram 25 escleródios em 200 g de solo. Crato (2013) indicou que o solo

deve ser umedecido de forma a atingir 100% da capacidade de campo, sendo assim, 6,0 mm de acordo com o volume de solo utilizado por Gerbox[®].

Os escleródios retirados do campo não receberam nenhum tipo de desinfecção para obtenção de reais resultados do condicionamento em campo, portanto, apenas foram retirados das telas de náilon em que estavam e distribuídos diretamente em caixas Gerbox[®] com solo autoclavado (Figura 10).

Os Gerbox[®] depois de vedados foram acomodados e incubados na estufa do Laboratório de Microscopia da UTFPR – DV com temperatura em torno de 18°C (\pm 2°C), fotoperíodo contínuo por 30 dias para a formação dos apotécios e avaliação final do experimento. Nesse período, para manter a capacidade de campo do solo, observou-se a necessidade de reposição de água e adicionou-se conforme a falta.



(a) Escleródios, retirados do campo sem esterilização, separados por tratamento e repetição. (b) Colocação dos escleródios em caixas Gerbox[®]. (c) 25 escleródios por caixas Gerbox[®].

Figura 10 – Processo de montagem em laboratório dos escleródios para avaliação da germinação carpogênica.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

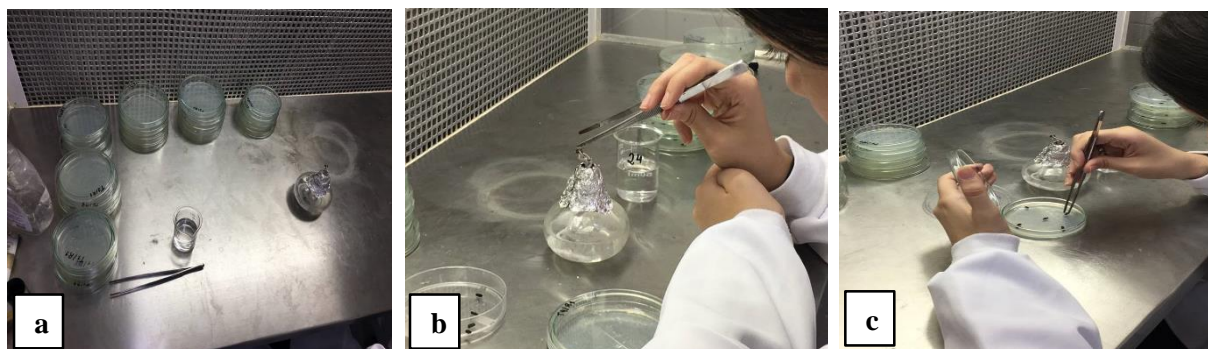
4.4.3 Processo de montagem da germinação miceliogênica

Foram necessárias 24 placas de Petri[®] previamente autoclavadas, contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) sendo sua composição 200g de batata, 20g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada.

Em Câmara de fluxo laminar o meio de cultura foi vertido nas Placas de Petri. Após sua solidificação, foram depositados 5 escleródios por placa, manuseadas em torno da chama de lamparina para não ocorrer contaminação externa no material. Com auxílio da pinça os

escleródios (sem receber tratamento para desinfestação) foram gentilmente organizados de forma a ficarem bem distribuídos e facilitar no momento de avaliação (Figura 11).

Após, as placas foram vedadas e armazenadas em Incubadora BOD a 20°C, fotoperíodo de 12 horas e umidade de 40 a 85% para germinarem.



(a) Placas autoclavadas, com meio de cultura em câmara de fluxo laminar.

(b) Pinça esterilizada em torno da chama de lamparina e imersa em álcool 70% para evitar a contaminação dos tratamentos.

(c) Colocação de 5 escleródios por placa através do auxílio de pinça.

Figura 11 – Processo de manuseio dos escleródios em laboratório para montagem da avaliação da germinação miceliogênica.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

4.5 VARIÁVEIS ANALISADAS

4.5.1 Germinação carpogênica

Foram avaliados após o encerramento do experimento aos 30 dias diversas características dos escleródios em uma avaliação carpogênica: quantificação de germinados, número de apotécios (separados de acordo com seus respectivos tamanhos) e estipe por escleródios, escleródios com micélios, apotécios com alguma deformação e escleródios parasitados por efeito antagonista do *Trichoderma* (aspecto esverdeado dependendo do avanço do fungo).

O procedimento foi realizado em local bem iluminado que facilitou a visualização, tomando todos os cuidados para não modificar o meio e alterar os resultados. Todos os valores foram anotados para a análise estatística.

4.5.2 Germinação miceliogênica

Foram avaliados diariamente, durante uma semana os escleródios germinados e o crescimento micelial (tempo médio que os micélios levam para contaminar toda a placa) e possível infestação de *Trichoderma* de forma a completar 24, 48, 72 e 96 horas após o início da incubação.

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), em 6 tratamentos de 4 repetições para o experimento de germinação carpogênica e germinação miceliogênica. Os resultados obtidos das avaliações foram submetidos ao teste de normalidade e posteriormente a análise de variância (ANOVA) e como significativos foi utilizado o teste de comparação de médias através do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro para constatar a significância do efeito dos blocos. Utilizou-se o software Rbio (BHERING, 2017) para germinação carpogênica, miceliogênica e obtenção da análise de regressão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA

Os dados da tabela 3 descrevem a interação entre os fatores em estudo, umidade e tratamentos, através do percentual de germinação dos escleródios.

Tabela 3. Médias da interação dos fatores no Percentual de escleródios que germinaram (%). UTFPR, Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Percentual de escleródios que germinaram (%)			
Fator	Testemunha	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i> + Bioativador
Alta umidade	4,0 aA	2,66 bA	1,33 bA
Baixa umidade	13,33 aC	52 aA	34,66 aB
CV %	36,06		

Médias seguidas de letras distintas diferenciam-se estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Os resultados demonstraram o potencial o efeito da umidade do solo em relação a viabilidade dos escleródios. Em condição de alta umidade do solo, ocorreu uma menor germinação da *S. sclerotiorum* para todos os tratamentos avaliados (Figura 12). Nessa condição, mesmo na testemunha ocorreu baixa germinação, fator que pode estar relacionado a presença de agentes de biocontrole de forma natural no campo. Tal resultado, nos sugerem que a aplicação de *Trichoderma* deve ser realizado em condição de alta umidade do solo, fator essencial para estabilização do agente biológico e eficiência no controle de *S. sclerotiorum*.

De acordo com Machado *et al.* (2012), a aplicação de *Trichoderma* deve ser realizada em condições de alta umidade relativa, e Howell (2003) confirma que a umidade é um dos fatores principais que interferem no desempenho de *Trichoderma*, seja em condições de inoculação na semente ou tratamento aplicado em substrato. Latifian, Esfahani e Barzegar (2007) relataram que o alto teor de umidade interferiu significativamente na atividade

enzimática e produção de celulase em uma espécie de *Trichoderma*, relatos que confirmam o comportamento esperado do *T. harzianum* nessas condições.

Braúna (2011) constatou que o agente de biocontrole tem picos de esporulação quando submetido a água na proporção de 80%. Sugere resultados semelhantes ao encontrado no presente trabalho, visto que ambos constatarem que o maior desempenho do *Trichoderma* ocorre com a presença de umidade.



(a) Número total de escleródios germinados em condição de alta umidade do solo com *T. harzianum*



(b) Número total de escleródios germinados em condição de baixa umidade do solo com *T. harzianum*



(c) Número total de escleródios germinados em condição de alta umidade do solo com *T. harzianum* + Bioativador



(d) Número total de escleródios germinados em condição de baixa umidade do solo com *T. harzianum* + Bioativador

Figura 12 – Escleródios extraídos do campo em cultivo de feijão, submetidos a diferentes tratamentos sob alta e baixa umidade do solo. Posteriormente levados a laboratório em caixa Gerbox®.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Na tabela 4 pode-se observar a formação de apotécio nos escleródios viáveis, ou seja, os que não foram inviabilizados por *Trichoderma*.

Tabela 4. Médias da interação dos fatores na formação de apotécios (n°). UTFPR, Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Apotécios (n°)			
Fator	Testemunha	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i> + Bioativador
Alta umidade	22,33 aA	18 aB	12,0 aC
Baixa umidade	10,66 aB	6,33 bB	11,66 aA
CV %	14,12		

Médias seguidas de letras distintas diferenciam-se estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Os resultados demonstram que os escleródios que germinaram e formaram apotécio, na condição de alta umidade, com *Trichoderma* e *Trichoderma* + bioativador reduziu o número de apotécios. Tal resultado nos sugere que além da condição de umidade ser um fator preponderante na efetividade do biocontrole (Tabela 3), a associação com bioativadores reduz o número de apotécio (Tabela 4), fator importante considerando a epidemiologia do mofo branco, o qual cada apotécio tem capacidade de disseminar um grande número de ascósporos, e a redução de apotécios, conseqüentemente reduz a fonte de inoculo inicial.

Já foi comprovado a capacidade de sobrevivência a longo prazo e potencial reprodutivo de *S. sclerotiorum* (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2005c), com a grande disseminação de ascósporos que são a principal fonte de inóculo, sendo portando proporcional seu aumento com a maior quantidade de apotécios. Há relatos de que o apotécio descarrega seus ascósporos à uma distância maior de 1 cm, e esses, são transportados pelas correntes de ar por centenas de metros e até quilômetros de distância (BEN-YEPHET; BITTON, 1985).

Rocha *et al.* (2018) constataram que *S. sclerotiorum* apresenta variabilidade de agressividade no hospedeiro, através do estudo da distribuição do patógeno em campo de feijoeiro, sob diferentes formas de controle foliar. A partir deste, reafirmou-se a importância do controle efetivo do fungo no solo para inibir a formação de apotécios e, conseqüentemente, ascósporos, pois a severidade da doença é proporcional à quantidade de inóculo presente no

solo, o que torna o resultado encontrado (Tabela 4) um potencial de controle das estruturas de frutificação do patógeno, sob as condições estabelecidas.

Na tabela 5, podemos observar o efeito dos tratamentos quanto ao número de apotécios por escleródios na condição de alta umidade, ou seja, a condição de melhor efetividade do biocontrole.

Tabela 5. Médias da Quantidade de Apotécio por Escleródio nos tratamentos submetidos à alta umidade, que obtiveram diferença significativa apenas para o fator de tratamento. UTFPR, Campus Dois Vizinhos – PR, 2019.

Quantidade média de Apotécio/Escleródio	
Fator	Alta umidade
Testemunha	2,80 a
<i>T. harzianum</i>	1,95 b
<i>T. harzianum</i> + Bioativador	1,24 c
CV %	18,85

Médias seguidas de letras distintas diferenciam-se entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Os resultados demonstram que o *Trichoderma* e a associação com bioativadores reduziu o número de apotécios, e de forma mais eficiente com o uso do bioativador. Tal fator pode estar relacionado ao melhor desempenho do biocontrole quando aplicado com fontes nutricionais, no caso o bioativador.

Rossi – Rodrigues *et al.* (2009), relataram que apesar do *Trichoderma* ser adaptado a sobreviver em solos pobres, sua ação pode ser potencializada quando condicionados em ambiente rico nutricionalmente com nitrogênio e carbono. Deste modo a eficiência do bioativador como composto potencializador do *Trichoderma harzianum*, visto que ambos são fontes de micro e macro nutrientes incluindo o Nitrogênio.

5.2 *Trichoderma harzianum*, BIOATIVADORES E O FATOR UMIDADE COMO CONTROLE DA GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA

As figuras 13 e 14 apresentam as equações de regressão para as linhas de tendência em função da germinação dos escleródios em relação ao período após o plaqueamento para os diferentes tratamentos. O melhor ajuste do modelo linear na condição de alta umidade (Figura 1) foi obtido com as médias de germinação dos tratamentos submetidos à alta umidade com *T. harzianum* ($R^2=1$) e *T. harzianum* + Bioativador ($R^2=1$) o que significa que há 100% de correlação entre o período após o plaqueamento e a quantidade de escleródios germinados. Para a Testemunha ($R^2=0.9781$) essa correlação é de 97,81%, menor que 100% mas ainda considerada uma forte correlação, demonstrando que a variação da germinação (eixo y) depende do período após o plaqueamento (eixo x), uma correlação direta ($r > 0$).

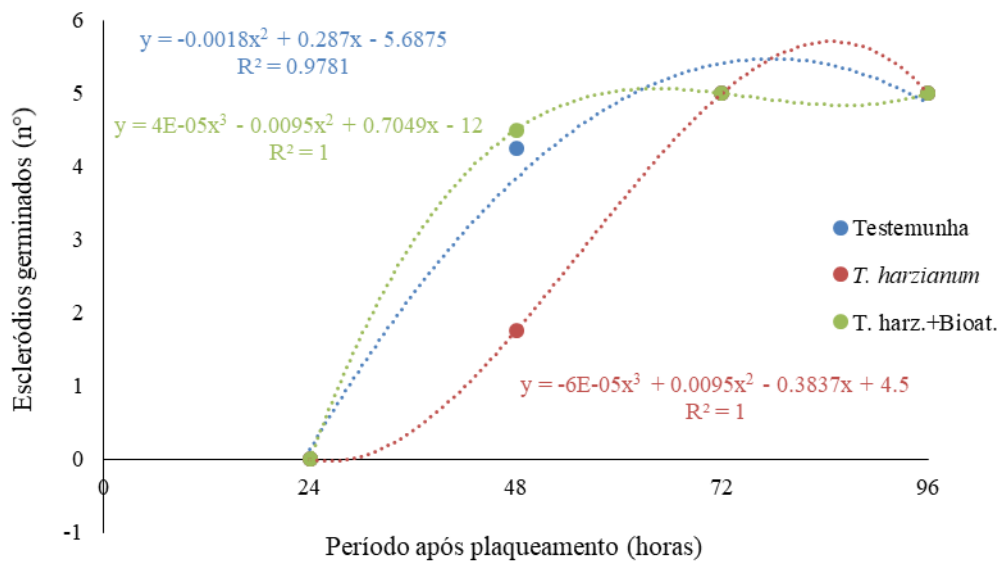


Figura 13 – Germinação de escleródios em função do tempo em condições de umidade e *T. harzianum* isolado e em associação com Bioativador.
Fonte: Arquivo pessoal (2019).

O tratamento que mais tardou a germinação miceliogênica foi o *T. harzianum*, o que pode ser observado na comparação entre as linhas de tendência, no período de 48hs, onde há menor número de escleródios germinados nesse período para o *T. harzianum*, determinando-o como melhor controle nas condições de umidade. A Testemunha seria o segundo melhor controle pela quantidade inicial menor de germinados, no entanto a associação dos produtos (*T.*

harz. + Bioat.) demonstra potencial, pois ao longo do período houve redução na germinação (72hs) enquanto na Testemunha, apesar do controle inicial maior, houve maior intensidade no crescimento ao longo do período. As linhas se aproximam conforme completa-se o período máximo de 96hs, com a quantidade total de escleródios (5) germinados para todos os tratamentos.

Resultados que demonstram o potencial de biocontrole do *Trichoderma* já foram encontrados, como altamente antagonico à *S. sclerotiorum*, além de sua potencialização de ação em alta umidade, recomendando sua aplicação nessas condições (ALVARENGA *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2012b) Moraes e Carvalho (2015) relataram resultados semelhantes do potencial de controle do *Trichoderma* ao avaliar o antagonismo *in vitro* de isolados de *Trichoderma* sp. contra *S. sclerotiorum*, onde foi possível constatar que todos os isolados inibiram o crescimento do patógeno comparado com a testemunha.

Já na associação de produtos (*T. harz.* + Bioat.), o complexo nutricional fornecido interfere na maior colonização do *Trichoderma*, assim como observou-se na germinação carpogênica, pois o bioagente é capaz de utilizar as fontes nutricionais fornecidas para seu crescimento e sobrevivência (ROSSI – RODRIGUES *et al.*, 2009b) o que pode explicar a melhor estabilização na germinação dos escleródios com a associação.

Para as condições sem umidade (Figura 2), o melhor ajuste do modelo linear foi obtido com as médias de germinação da Testemunha ($R^2=1$), com 100% de correlação entre o período após o plaqueamento e a quantidade de escleródios germinados e para o *T. harzianum* ($R^2=0.9953$) a correlação foi de 99,53% e 99,1% para *T. harzianum* + Bioativador ($R^2=0.991$), uma forte correlação e igualada à Testemunha de 100% demonstrando que a variação da germinação (eixo y) depende do período após o plaqueamento (eixo x), uma correlação direta ($r > 0$).

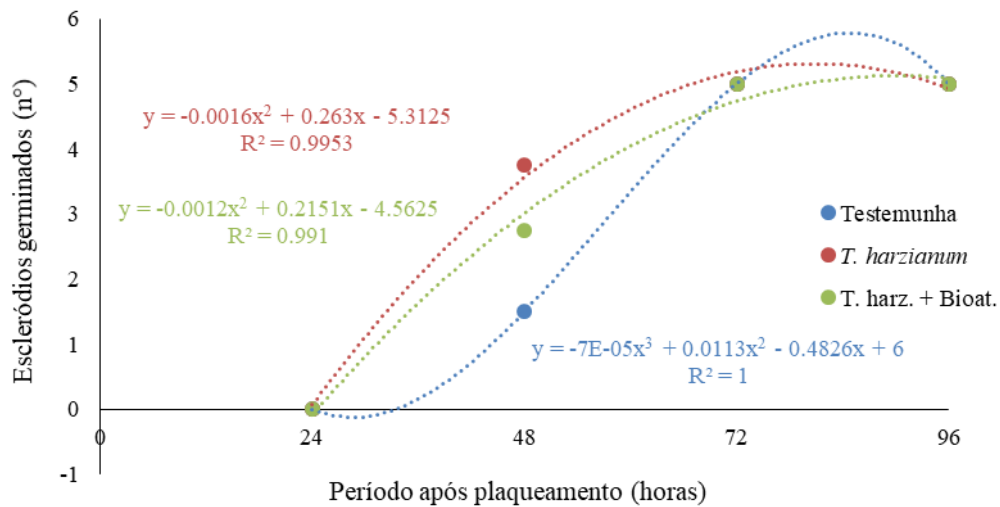
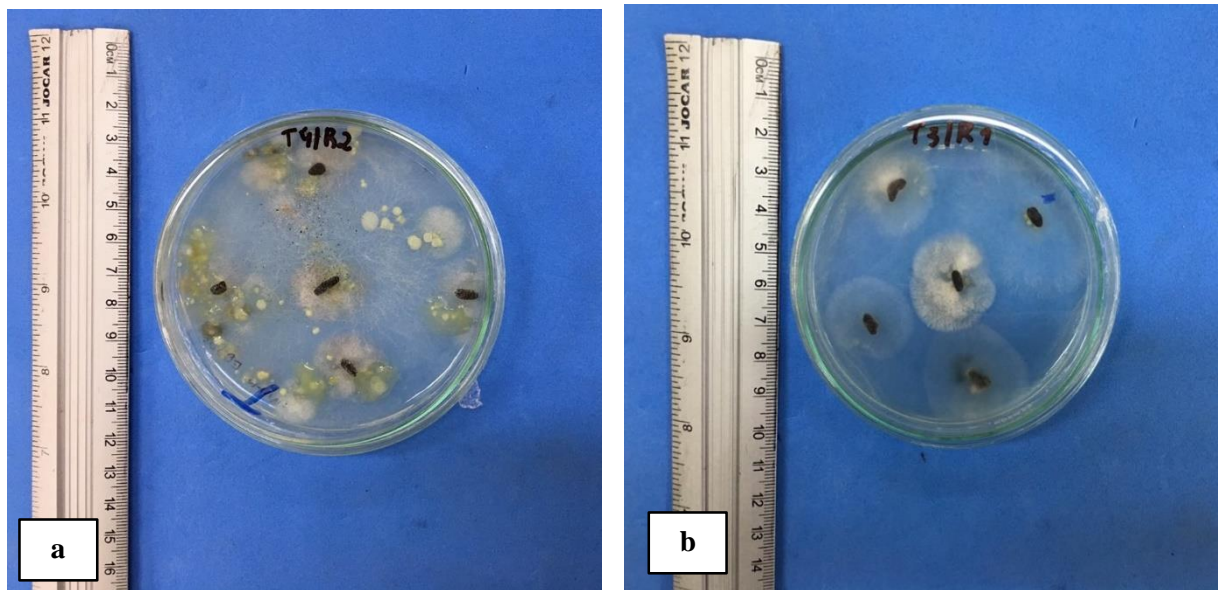


Figura 14 – Germinação de escleródios em função do tempo em condições sem umidade e *T. harzianum* isolado e em associação com Bioativador.
Fonte: Arquivo pessoal (2019).

A Testemunha apresentou maior controle da germinação miceliogênica na condição sem umidade, inicialmente, observando-se a comparação no período de 48hs onde há menor quantidade de escleródios germinados. No entanto, o tratamento de associação entre *T. harzianum* + Bioativador apresenta potencial, pois ao longo do período os escleródios com o tratamento Testemunha apresentaram germinação mais intensa que os demais, como ocorre de forma semelhante na figura anterior. Sendo assim, a associação (*T. harz.* + Bioat.) se destaca pelo melhor controle micelial em relação ao *T. harzianum* por proporcionar menor quantidade de escleródios germinados ao longo de todo período e por apresentar menor intensidade final na germinação em relação à Testemunha.

A menor ação do *Trichoderma* na condição sem umidade é esperada, pois, conforme descrito pelos trabalhos, sua aplicação para melhor desempenho deve ser feita em condições de umidade (JONES; BIENKOWSKI; STEWART, 2015) o que é observado com sua melhor atuação na figura anterior e a partir disso, confirmando seu baixo desempenho em relação ao tratamento de associação dos produtos (Figura 15).



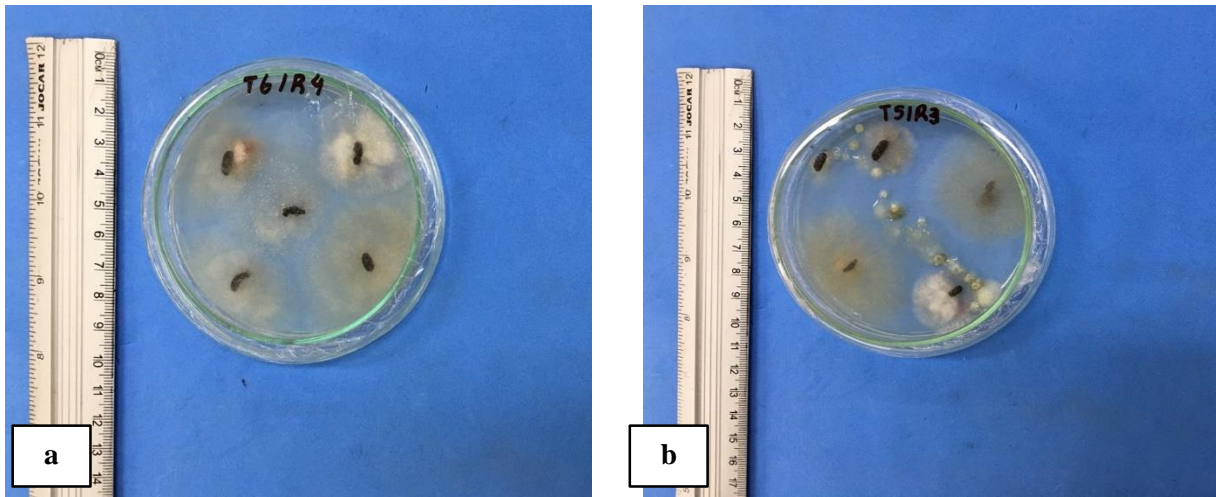
(a) Avaliação em 96 horas do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em condição de alta umidade, tratados com *T. harzianum*

(b) Avaliação em 96 horas do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em condição de baixa umidade, tratados com *T. harzianum*.

Figura 15 – Escleródios retirados do campo em plantio de feijão, para avaliação do biocontrole de *T. harzianum*, sob alta e baixa umidade em relação a germinação micelológica.

Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

O comportamento da associação entre os produtos se tornou melhor em relação ao *Trichoderma*, conforme descrito, devido ao fornecimento do complexo nutricional, que em baixa umidade pode ser determinante para o desenvolvimento do biocontrole. O mesmo explica a estabilização da germinação dos escleródios no terceiro dia, em relação a testemunha. Ambrósio *et al.* (2008) e Neto *et al.* (2016) constataram que do fornecimento de nutrientes auxilia no controle de diversos patógenos, quando em alta concentração de nutrientes no substrato, da mesma forma que sua redução irá estabilizar seu crescimento até a falta total de nutrientes causando a morte dos agentes de biocontrole (Figura 16). O resultado da combinação entre os produtos demonstra assim que apesar das condições de competição entre o patógeno e o *T. harzianum* ter gerado uma atuação mediana, tal associação pode ser vista como potencial de uso.



(a) Avaliação em 96 horas do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em condição de alta umidade, tratados com *T. harzianum* + Bioativador

(b) Avaliação em 96 horas do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em condição de baixa umidade, tratados com *T. harzianum* + Bioativador

Figura 16 - Escleródios retirados do campo em plantio de feijão, para avaliação do biocontrole de *T. harzianum* + Bioativador, sob alta e baixa umidade em relação a germinação micelológica.
Fonte: Arquivo Pessoal (2019).

6 CONCLUSÕES

A aplicação do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum* em condição de alta umidade do solo é um fator que contribui com a efetividade no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*.

O uso de *Trichoderma harzianum* em associação com bioativador melhora o desempenho do biocontrole sobre *S. sclerotiorum*.

REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of Diseases Caused by *Sclerotinia* Species. **Phytopathology**, New York, v. 69, n. 8, p.899-904, 1979.

ALMEIDA, A. da S. *et al.* Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 3, p.501-510, 25 jan. 2011.

ALMEIDA, A. da S. *et al.* Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, [s.l.], v. 31, n. 3, p.87-95, mar. 2009.

ALVARENGA, D. O.; QUEIROZ, P. R.; ALMEIDA, A. M.; MELLO, S. C. M. **Aspectos relacionados ao controle biológico do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum***. Brasília: Boletim de Pesquisa e desenvolvimento/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2007.

AMBRÓSIO, M. M. de Q.; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 34, n. 4, p.354-358, ago. 2008.

ASSIS, R. T. de *et al.* Novas tecnologias para a agricultura brasileira. Araxá: Instituto de Ciências da Saúde, **Agrárias e Humanas**, 2014. 7 p. Disponível em: <<http://apps.uniaraaxa.edu.br/site/extensao/atividades-dos-cursos/novas-tecnologias-para-a-agricultura-brasileira>>. Acesso em: 15 maio 2018.

BALLARIS, A. de L. **Amostragem Sequencial de Sementes de soja e feijão na detecção de *Sclerotinia Sclerotiorum***. 2014. 75 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Departamento de Patologia de Sementes, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.

BATTISTUS, A. G. *et al.* Comportamento da cultura do trigo tratado com enraizador e bioativador de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 12, n. 1, p.17-29, mar. 2013.

BEN-YEPHET, Y.; BITTON, S. Use of a selective medium to study the dispersal of ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytoparasitica**, Cham, v.13, n.1, p.33-40, 1985. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02994435>>. Acesso em: 15 jun. 2019.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3a Ed, Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo SP. 1995.

BETTIOL, W. *et al.* **Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: Embrapa, 2012. 155 p. (Documentos 88). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/930378/produtos-comerciais-a-base-de-agentes-de-biocontrole-de-doencas-de-plantas>>. Acesso em: 30 maio 2018.

BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.17: 187-190p, 2017.

BINSFELD, J. A. *et al.* Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p.88-94, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632014000100010>>. Acesso em: 20 maio 2018

BLASZCZYK, L.; SIWULSKI, M.; SOBIERALSKI, K.; LISIECKA, J. *Trichoderma* spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. **Journal Of Plant Protection Research**, Poland, v. 54, n. 4, p.319-317, 30 jan. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0047>>. Acesso em: 31 maio 2018.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Of Plant Pathology**, Guelph, v. 16, n. 2, p.93-108, jun. 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07060669409500766>>. Acesso em: 01 maio 2019.

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**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-16, jan. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>>. Acesso em: 05 maio 2018.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento (Org.). **Perspectivas de diversificação e de investimentos na produção de arroz - trigo - feijão: Estudo preliminar**. Brasília: Conab, 2016. 51 p. (2448-3710). Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 28 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Desenvolvimento da Cadeia do Feijão e Pulses. Brasília. 2019.

BRAÚNA, Leonardo Minaré. **Controle biológico do mofo branco por isolados de *Trichoderma* nas culturas de soja e feijão comum**. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Cap. 2.

CARDOSO, J.E. Mofo branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C.A. (Eds.) **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília. EMBRAPA-SPI. 1994. p.111-122. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/199890>>. Acesso em: 30 abr. 2019.

CARNEIRO, F. F. **Genética da resistência do feijoeiro ao mofo branco e uso do retrocruzamento assistido por marcadores microssatélite**. 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009. Cap. 2. Disponível em: < <http://repositorio.ufla.br/handle/1/4280>>. Acesso em: 01 mai. 2019.

CARVALHO, L. S. M. de J. de *et al.* Desempenho fisiológico de sementes de feijão tratadas com produto bioativador. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 10, n. 18, p.1163-1172, 01 jul. 2014.

CASTELLANOS, C. I. S. *et al.* Efeito do tratamento de sementes de feijão com bioativador sobre o teor de clorofila das plântulas resultantes. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 11, n. 21, p.908-914, 01 jun. 2015.

CASTRO, P. R. C; VIEIRA, E. L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.222-228, 2001.

CASTRO, P. R. de C. e *et al.* **Biorreguladores na agricultura**. Piracicaba: Editoração Eletrônica, 2016. 154 p. (ISSN: 1414-4530).

CASTRO, P.R.C Triametoxam. **Uma revolução na agricultura brasileira**. São Paulo, 410p. 2006.

CHAGAS, L. F. B. *et al.* *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 3, n. 4, p.97-102, 17 jul. 2017. Disponível em: <<http://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/1529>>. Acesso em: 05 maio 2018.

CHAMBERLAIN, D. W. **Soybean Diseases in Illinois**. Urbana. Illinois: Issued In Furtherance Of Cooperative Extension Work, 1973. 31 p (Circular 1085).

CHAVES, G. M. **Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary.** [S.l.]: Universidade Federal de Viçosa, 1964.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Grãos - Série Histórica.** Disponível em: <<https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

CRATO, F. F. do. **Quantificação de escleródios e germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* oriundos da cultura da soja tratada química e biologicamente.** 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/12184>>. Acesso em: 31 maio 2018.

CUNHA, R. P. da. *et al.* Performance fisiológica de sementes de milho (*Pennisetum americanum*) tratadas com bioativador. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 39, n. 3, p.376-382, set. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.19084/RCA15127>>. Acesso em: 15 maio 2018.

DEUNER, C. *et al.* Expressão de isoenzimas em plântula de feijão oriundas de sementes tratadas com biativador. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 10, n. 2, p.69-73, abr. 2016.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. **Resultado do Ano Internacional das leguminosas devem permanecer para além de 2016.** 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/471433/>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

FIPKE, G. M.; PAZINI, J. de B.; ETHUR, L. Z. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. **Magistra**, Cruz das Almas- Ba, v. 27, n. 1, p.23-32, mar. 2015. Disponível em: <<https://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/362/44>>. Acesso em: 04 maio 2018.

FONSÊCA NETO, Joacy *et al.* Efeito de adubo verde e *Trichoderma harzianum* na sobrevivência de *Fusarium solani* e no desenvolvimento do meloeiro. **Revista Agroambiente On-line**, Boa Vista, v. 10, n. 1, p.44-49, 7 jun. 2016.

FORSTER, R. Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. **Bragantia**, Campinas, v. 10, n. 5, p.138-148, maio 1950. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87051950000500002>>. Acesso em: 09 maio 2018.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; BISOLI, E.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Constituintes químicos de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. In: 28ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química. 2005, Poços de Caldas, MG. **Anais da 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, p.255, 2005.

GARCIA, R. A. **Caracterização biológica e fisiológica de populações de *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliação da resistência genética em cultivares de soja**. 2014. 15 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/449>>. Acesso em: 02 maio 2018.

GAUCH, H.G.; ZOBEL, R.W. AMMI analysis of yield trials. In: KANG, M.S.; GAUCH, H.G. (Eds). **Genotype by environment interaction**. Boca Raton, USA, p.85-122, 1996.

GERALDINE, A. M. *et al.* Controle biológico do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em cultivo de feijão comum com *Trichoderma* spp . In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 63., 2011, Goiânia. **Anais**. Goiânia: SBPC, 2011. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/4828.htm>>. Acesso em: 03 maio 2018.

GERALDINE, V. A.; LOBO JUNIOR, M. Efeito de *Trichoderma* spp. na sobrevivência de escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 44..2011, Bento Gonçalves. **Anais**. Rio Grande do Sul: SBF, 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/918150>>. Acesso em: 01 maio 2018.

GOMES, R. dos S. S. *et al.* Caracterização da *Sclerotinia sclerotiorum*, transmissão e qualidade fisiológica em sementes de algodoeiro. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 6, n. 4, p.105-113, 19 dez. 2017.

GÖRGEN, C. A. *et al.* Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p.1583-1590, dez. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2009001200004>>. Acesso em: 05 maio 2018.

GÖRGEN, C. A. *et al.* Manejo integrado de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 4. 2007, Samambaia. **Anais**. Samambaia: UFG, 2007. p. 2054 - 2058. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/arroz-e-feijao/busca-de-publicacoes/-/publicacao/216030/manejo-integrado-de-sclerotinia-sclerotiorum-na-cultura-da-soja>>. Acesso em: 29 maio 2018.

GÖRGEN, C. A. *et al.* **Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* com o Manejo de *Brachiaria ruziziensis* e Aplicação de *Trichoderma harzianum*.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2008. 4 p. (Circular Técnica, 81). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/216271/control-de-sclerotinia-sclerotiorum-com-o-manejo-de-brachiaria-ruziziensis-e-aplicacao-de-trichoderma-harzianum>>. Acesso em: 15 maio 2018.

HARMAN, G. E. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, [S.l.], v. 96, n. 2, p.190-194, fev. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1094/phyto-96-0190>>. Acesso em: 01 maio 2018.

HOFFMAN, P. F. *et al.* A Neoproterozoic Snowball Earth. **Science**, Cambridge, v. 281, n. 5381, p.1342-1346, 28 ago. 1998.

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. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>>. Acesso em: 15 jun. 2019

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Maior produtor de feijão do país, Paraná responde ao Censo Agro 2017.** 2017. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/18110-censo-agro-no-parana-a-busca-pela-realidade-rural-no-estado-que-mais-produz-feijao-no-pais.html>>. Acesso em: 28 abr. 2018.

JACOB, E. P.; MOCHI, D. A.; RIGOBELLO, E. C. Efeito do *Trichoderma* spp. Sobre escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA AMBIENTAL E DE BIOCOMBUSTÍVEIS, 2018, Jaboticabal. **Anais**. Jaboticabal: Ciência & Tecnologia Fatec-jb, 2018. v. 10, p. 01 - 05. Disponível em: <<http://citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/1250/1034>>. Acesso em: 04 maio 2018

JONES, E. E.; BIENKOWSKI, D. A.; STEWART, A. The importance of water potential range tolerance as a limiting factor on *Trichoderma* spp. biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Ann. Appl. Biol.** 168, 41–51, ago 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/aab.12240#accessDenialLayout>>. Acesso em: 15 jun. 2019.

JÚNIOR, M. L.; GERALDI, A. M.; CARVALHO, D.D.C. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum.** Circular Técnica n. 85, Embrapa Arroz e Feijão, Dez. 2009. Disponível em: <[https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=697319&biblioteca=vazio&busca=autoria:"CARVALHO,%20D.%20D."&qFacets=autoria:"CARVALHO,%20D.%20D."&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=697319&biblioteca=vazio&busca=autoria:)>. Acesso em: 28 abr.2018.

KAWASAKI, V. H. **Uso de Restritores Hídricos na Detecção de *Sclerotinia sclerotiorum*, em semente de feijão, soja e algodão pelo método de incubação em meio ágar - azul e bromofenol (neon)**. 2010. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/handle/1/3169>>. Acesso em: 28 abr. 2018.

KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia. v.2: Doenças das Plantas Cultivadas**. 3ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.

KOHN, L.M. Delimitation of the Economically Important Plant Pathogenic *Sclerotinia* Species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p.881-886, 1979.

KORA, C.; McDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. *Sclerotinia* rot of carrot – An example of phenological adaptation and bicyclic development by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 87, n. 5, p. 456-471, 2003.

LATIFIAN, M.; HAMIDIESFAHANI, Z.; BARZEGAR, M. Evaluation of culture conditions for cellulase production by two *Trichoderma reesei* mutants under solid-state fermentation conditions. **Bioresource Technology**, Tehran, v. 98, n. 18, p.3634-3637, dez. 2007.

LUCON, C. M. M.; CHAVES, A. L. R.; BACILIERI, S. **Trichoderma: O que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/pdf/cartilhas/trichoderma.pdf>>. Acesso em: 31 maio 2018.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. da; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Rev. de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p. 274-288, jun 2012. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2012000100026&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 15 jun. 2019.

MEYER, M. C. *et al.* **Ensaio cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2015/2016**. Londrina: Embrapa, 2016. 5 p. (Circular Técnica 124). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1055842/ensaios-cooperativos-de-controle-biologico-de-sclerotinia-sclerotiorum-na-cultura-da-soja-resultados-sumarizados-da-safra-20152016>>. Acesso em: 28 maio 2018.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODO, C. V. Mofo-branco: desafios do manejo na cultura da soja. **Cultivar: Grandes Culturas**, [s.l.], v. 181, p.22-24, jun. 2014. Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/acervo/364>>. Acesso em: 03 maio 2018.

MORAES, G. de M.; CARVALHO, L. R. de. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* sp. Contra *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Faculdade Montes Belos**, São Luís de Montes Belos, v. 8, n. 5, p.1-16, abr. 2015.
<[Http://www.fmb.edu.br/revistaFmb/index.php/fmb/article/view/169/161](http://www.fmb.edu.br/revistaFmb/index.php/fmb/article/view/169/161)>. Acesso em: 17 jun. 2019.

NAHER, L. *et al.* *Trichoderma* spp.: A biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. **Pakistan Journal Of Botany**, v. 46, n. 4, p.1489-1493, ago. 2014. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/281736621>>. Acesso em: 05 maio 2018.

NASSER, L. C. B.; NAPOLEÃO, R.; CARVAJAL, R. A. Mofo branco - cuidado com a semente. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, São Paulo, n.4, mai.1999. Disponível em: <<file:///C:/Documents%20and%20Settings/Helena/Meus%20documentos/CI%C3%A1udio%20-%20UEPG/Est%C3%A1gio/Sclerotinia/artigo.asp.html>>. Acesso em: 30 abr. 2018.

OMERO-ARENAS, O. *et al.* Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. **Revista Colombiana de Biotecnología**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.143-151, dez. 2009. Disponível em: <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/11759>>. Acesso em: 22 maio 2018.

PARISI, J. J. D.; PATRÍCIO, F. R. A.; OLIVEIRA, S. H. F. de. Método do rolo de papel toalha modificado para a detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 3, p.288-290, set. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052006000300015>>. Acesso em: 02 maio 2018.

PAULA JÚNIOR, T. J. *et al.* **Controle Alternativo de Mofo branco no Feijoeiro**. In: VENZON, M.; PAULA JR., T.J.; PALLINI, A. (Org.). Tecnologias alternativas para o controle de pragas e doenças. Viçosa: - MG: EPA MIG-CTZM, 2006. Cap. 1. p. 1-24. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1025071>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

PERES, E.; MELO, I. S. de. Variabilidade entre isolados de *Trichoderma harzianum*: I - Aspectos citológicos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.52, n.1, Abr. 1995.

PHILLIPS, A.J.L. Carpogenic germination of *sclerotia* of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, v.19, p.279-283, 1987.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. **Phytopathology**, Gainesville, v. 69, n. 8, p.875-880, 1979.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; GAVA, F.; MOREIRA, E. N.; SACHS, C. Indução da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes substratos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.10, p.145-150, 2011.

RICARDO, T. R.; WANDER, A. E.; LOBO JUNIOR, M. **Custos associados ao mofo branco (*Sclerotinia esclerotiorum*) em feijoeiro comum de 3ª safra em Goiás**. Embrapa, Campinas, n. 85, p.787-790, 2008.

ROSSI-RODRIGUES, B. C.; BROCHETTO-BRAGA, M. R.; TAUK-TORNISIELO, S. M.; CARMONA, E. C.; ARRUDA, V. M.; NETTO, J. C. Comparative growth of *Trichoderma* strains in different nutritional sources, using bioscreen c automated system. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 404-410, Junho 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822009000200035&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 16 jun. 2019.

SÁ, H. S.; AZEVEDO, D. B. Pirataria de Sementes: Perigo e Risco para o Agronegócio Brasileiro. **Revista ABPI**, n.12, p. 23-37, ago.2012.

SAITO, L. R. *et al.* Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava - PR, v. 2, n. 3, p.203-208, dez. 2009.

(MDA), Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Agricultura familiar produz 70% dos alimentos consumidos por brasileiro**: Pequeno agricultor celebra Dia da Agricultura Familiar e consolida papel na produção para o mercado interno; crédito para Pronaf em 2015 terá investimento recorde de R\$ 28,9 bilhões. 2015. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/07/agricultura-familiar-produz-70-dos-alimentos-consumidos-por-brasileiro>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

SANTA CATARINA. Comissão Técnica Sul-brasileira de Feijão. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Org.). **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. Florianópolis: Gerência de Marketing e Comunicação, 2012. 157 p. (978-85-85014-68-1). Disponível em: <www.epagri.sc.gov.br>. Acesso em: 29 abr. 2018.

SANTIAGO, D. C. ; ARIEIRA, G. O. ; KANEKO, L. Fungos no controle biológico de *Meloidogyne javanica* em soja. In: 34º Congresso Brasileiro de nematologia, 2017, Vitória, ES. **Anais do 34º CBN**, 2017. v. 34. p. 86-86.

SARAN, P. E. **Manual de identificação das doenças da soja**. Projeto gráfico: M51 Criatividade Estratégica. Lançado em 22, de out de 2013.

SARTORATO, A; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília, DF: Embrapa, 1994. 300 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 50). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/199890>>. Acesso em: 23 maio 2018.

SENA. Sociedade Nacional de Agricultura. **Produção e consumo nacional de feijão continuam os mesmos há mais de 10 anos**. 2017. Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/producao-e-consumo-nacional-de-feijao-continuam-os-mesmos-ha-mais-de-10-anos/>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

SHAH, S.; NASREEN, S.; SHEIKH, P.A. Cultural and Morphological Characterization of *Trichoderma* spp. Associated with Green Mold Disease of *Pleurotus* spp. in Kashmir. **Research Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.139-144, 1 fev. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3923/jm.2012.139.144>>. Acesso em: 31 maio 2018.

SIEGA, Thayllane de Campos. **Óleos essenciais no controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) de Bary in vitro**. 2018. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná ' A', Pato Branco, 2018. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/3069>>. Acesso em: 1 jun. 2018.

SILVA, F. P. M. da. **Germinação Carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary sob diferentes extratos e resíduos de vegetais**. 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2007.

TREVIZAN, K.; SMIDERLE JUNIOR, Z. Uso de bioativador influência de forma positiva o aumento de produtividade da soja. **Ramvi**, Getúlio Vargas, v. 03, n. 05, p.01-11, 05 jul. 2016.

VASCONCELOS, A. C. F. de. **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja**. 2006. 111 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-27022007-161744/pt-br.php>>. Acesso em: 20 maio 2018.

VENEGAS, F. **Controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do feijoeiro com o fungicida procimidone aplicado em pulverização e fungigação**. 2006. 54 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Departamento de Engenharia Rural da FCA, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2006. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/103415>>. Acesso em: 25 maio 2018.

WHARTON, P.; KIRK, W. **White Mold**. Michigan: Michigan Potatoes, 2007. 4 p. (Extension Bulletin). Disponível em: <<http://www.potatodiseases.org>>. Acesso em: 30 maio 2018.

WILLETS, H.J.; WONG, J.A.L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, St. Paul, v.46, n. 2, p. 102-165. 1980.