



HÉLIO VILELA NAVES

**SENSIBILIDADE DE *TRICHODERMA HARZIANUM* A
DIFERENTES DOSES DE GLIFOSATO**

LAVRAS – MG

2021

HÉLIO VILELA NAVES

**SENSIBILIDADE DE TRICHODERMA HARZIANUM A
DIFERENTES DOSES DE GLIFOSATO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do curso de Agronomia, para
obtenção do título de bacharel.

Aprovado em 18 de Novembro de 2021.

Prof. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Orientador

Me. Lindomar Canuto da Silva

Coorientador

LAVRAS - MG

2021

DEDICO

Aos meus pais Jackson Freire Naves e Raquel Vilela Figueiredo Naves por todo amor, apoio, confiança e por sempre me darem forças para continuar nessa jornada. Ao meu irmão Ivan Vilela Naves por ser um colega de profissão e que sempre me manteve amparado nesses anos. À toda minha família por sempre estar presente em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por ter me guiado nesse caminho, sempre esteve e estará presente em minha vida.

A minha mãe Raquel Vilela por todo amor e apoio que sempre me deu. Ao meu pai Jackson Freire por todo amor, apoio e por todos os conselhos.

Ao meu irmão Ivan Vilela que me incentivou e me amparou durante essa jornada, foi um exemplo que me levou a escolher a Agronomia.

Ao meu orientador Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros, por sempre buscar o melhor para mim, pelas oportunidades dadas, pela orientação nesse trabalho e por não medir esforços para me ajudar.

A República Arame Farpado por me proporcionar um grande desenvolvimento pessoal, pelas alegrias, pelos momentos difíceis e por todos os ensinamentos passados. Cada pessoa que morou comigo me ajudou a melhorar a cada dia.

Ao grupo de Controle Biológico de Doenças de Plantas (GC-Bio) por todas as experiências vividas e também pela ajuda na realização desse trabalho.

A Universidade Federal de Lavras por poder realizar um curso que é referência.

A todos que de algum modo participaram dessa caminhada.

RESUMO

O crescimento da área produtiva e o aumento da capacidade competitiva da soja brasileira sempre estiveram associados a avanços científicos e a disponibilização de tecnologias ao setor, porém nas últimas safras de soja maiores perdas relacionadas as doenças vem sendo observadas. Dentre estas, o Mofo Branco, causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* está entre as que mais afetam a cultura da soja, podendo trazer grandes perdas de produtividade. Entre as recomendações de manejo desta doença, destaca-se o controle biológico com uma ferramenta complementar dentro do manejo integrado. O posicionamento de aplicação de biológicos para o Mofo Branco, normalmente é feito no estágio fenológico V2, momento que também ocorre as aplicações de herbicida pré-emergente, normalmente a base de N-(fosfonometil)glicina, ou também conhecido como glifosato. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a sensibilidade de *Trichoderma harzianum* a diferentes doses de glifosato e diferentes volumes de calda de aplicação visando obter se as misturas são compatíveis ou incompatíveis para uso em campo. O experimento foi conduzido no Laboratório do Controle Biológico, que está localizado no Departamento de Fitopatologia, na Universidade Federal de Lavras. Este trabalho visou estudar a compatibilidade entre *T. harzianum* (Ecotrich WP) e Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) para o controle de mofo branco, tendo duas variáveis resposta: germinação carpogênica dos escleródios de *S. sclerotiorum* e UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônia) das misturas quando plaqueadas em meio de cultura BDA. Conclui-se que dos parâmetros avaliados a germinação carpogênica a dose de herbicida favoreceu alguns pontos apresentando maior número de escleródios inviáveis, por exemplo. Com relação ao volume de calda e a formação de colônias a dose 3,0 L ha⁻¹ para o volume de calda de 150 e 200 L ha⁻¹ (chegando próximo a 0 UFC mL⁻¹). No volume de calda de 80 L ha⁻¹ essa redução ocorreu apenas na 6 L ha⁻¹. Ponto de atenção para o volume de calda de 150 L ha⁻¹, que apresentou reversão do resultado na 6 L ha⁻¹, ou seja, aumento da formação de colônias, que chegou próximo a 2,0 x 10⁵ UFC mL⁻¹.

Palavras-chave: *Glycine max*, podridão de esclerotinia, manejo integrado, controle biológico, herbicida.

ABSTRACT

The growth of the productive area and the increase in the competitive capacity of Brazilian soybeans have always been associated with scientific advances and the availability of technologies to the sector, although in recent soybean crops, greater losses related to diseases have been observed. Among these, Mofo Branco, caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, is among the ones that most affect the soybean crop, which can cause great losses in productivity. Among the management recommendations for this disease, biological control stands out as a complementary tool within integrated management. The positioning of the application of biologicals for White Mold is normally done at the V2 phenological stage, at which time pre-emergent herbicide applications occur, normally based on N-(phosphonomethyl)glycine, or also known as glyphosate. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the sensitivity of *Trichoderma harzianum* to different doses of glyphosate and different volumes of application solution, in order to determine whether the mixtures are compatible or incompatible for use in the field. The experiment was conducted at the Biological Control Laboratory, which is located in the Department of Phytopathology, at the Federal University of Lavras. This work aimed to study the compatibility between *T. harzianum* (Ecotrich WP) and N-diammonium salt glyphosate (Roundup Original DI) for white mold control, with two response variables: carpogenic germination of *S. sclerotiorum* sclerotia and UFC /mL (Colony Forming Units) of the mixtures when plated on PDA culture medium. It is concluded that from the parameters evaluated for carpogenic germination, the dose of herbicide favored some points with a greater number of non-viable sclerotia, for example. Regarding the spray volume and colony formation, the dose was 3.0 L ha⁻¹ for the spray volume of 150 and 200 L ha⁻¹ (reaching close to 0 CFU mL⁻¹). In the 80 L ha⁻¹ spray volume, this reduction occurred only in the 6 L ha⁻¹. Attention is drawn to the 150 L ha⁻¹ spray volume, which presented a reversal of the result at 6 L ha⁻¹, that is, an increase in colony formation, which came close to 2.0 x 10⁵ CFU mL⁻¹.

Key words: Glycine max, sclerotinic rot, integrated management, biological control, herbicide..

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 REFERENCIAL TEÓRICO	08
2.1 Importância da cultura soja.....	08
2.2 As doenças na cultura da soja.....	09
2.3 Mofo branco.....	09
2.4 Quadro sintomático da doença.....	11
2.5 Epidemiologia.....	12
2.6 Manejo da doença.....	13
2.7 Controle biológico de mofo branco.....	15
2.7.1 <i>Trichoderma harzianum</i>	16
2.8 Compatibilidade a diferentes doses de glicosato.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Análise da germinação carpogênica de escleródios de mofo branco	19
3.2 Avaliação de Unidades Formadoras de Colônia após mistura com Glifosato	21
3.3 Análise estatística.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma importante cultura, com relevância em âmbito mundial, e o Brasil figura como maior produtor do grão, o levantamento prevê um acréscimo de 11,1 milhões de toneladas de soja. Com a colheita já encerrada, a oleaginosa deverá registrar um novo recorde de 135,9 milhões de toneladas colhidas, “mantendo o Brasil como maior produtor da cultura no mundo” na safra 2020/2021 (EMBRAPA SOJA, 2021).

Como em qualquer cultura, alguns fatores interferem nos níveis de produtividade. Problemas relacionados ao desequilíbrio na adubação, estresse hídrico, incidência de fitopatógenos, infestação de plantas daninhas e ataque de pragas. Podendo reduzir até 20% da produtividade e caso não haja uma atenção por parte do sojicultor o prejuízo poderá chegar até a 100% (TROMBINE, 2012).

Existem aproximadamente 40 tipos de doenças que atingem a produção de soja, estando este número em crescimento devido à expansão da soja para novas áreas e como consequência da monocultura, doenças essas causadas por vírus, bactérias e nematoides. Essas doenças são classificadas em sete grupos, as foliares, de haste, de vagem e semente, radiculares, bacterianas, as causadas por vírus, por nematoides, e as que ainda não apresentam definição (EMBRAPA, 2005)

Dentre as doenças citadas uma das doenças de haste ou semente é o mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, sendo está uma das mais antigas doenças da soja. Sua ocorrência se tornou mais frequente bem como os níveis de dano aumentaram significativamente no Brasil, tanto nas áreas mais altas do cerrado, como nas áreas mais tradicionais de cultivo do Sul e do Sudeste, chegando a reduzir a produtividade em até 70%. Estima-se que cerca de 23% da área de produção de soja brasileira esteja infestada pelo patógeno, compondo aproximadamente 6,8 milhões de hectares que necessitam da adoção de medidas integradas de controle da doença (MEYER *et al.*, 2014).

O mofo-branco pode ser manejado pelo sojicultor através de métodos de controle integrado, incluindo o controle biológico. No controle biológico de *S. sclerotiorum*, são realizadas, principalmente, aplicações de produtos à base de *Trichoderma* spp. (BENITEZ *et al.*, 2004; GORGEN *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2015; TANCIC *et al.*, 2013; ZANCAN *et al.*, 2012).

Embora a utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp. possa contribuir com o manejo de mofo branco, a eficiência dessa prática é afetada por diferentes

variáveis em condições de campo. Alguns defensivos químicos utilizados na agricultura, como herbicidas, podem atuar de forma negativa sobre espécies de *Trichoderma*, afetando a sua eficiência de controle (YEDIDIA *et al.*, 2002; BEGOUDE *et al.*, 2007; LUCON, 2009; WAGHUNDE *et al.*, 2016).

O glifosato é o herbicida mais comercializado e utilizado mundialmente, devido aos seus efeitos de amplo espectro, eficácia e baixa toxicidade em mamíferos (TAO *et al.*, 2017). Este herbicida atua na inibição da enzima 5-enolpiruvatochiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), bloqueando assim, a síntese de compostos na via do ácido chiquímico (AMRHEIN *et al.*, 1980).

Nesse cenário, este trabalho teve como objetivo estudar a compatibilidade entre glifosato Sal de Di-amônio de N e *Trichoderma harzianum* colocando-os em solução e aplicando em escleródios de mofo branco (*Sclerotinia Sclerotiorum*), com variação da dose de herbicida e do volume de calda, teve como finalidade avaliar a germinação carpogênica destes escleródios. Em conjunto realizou-se análise em laboratório da sensibilidade de unidades formadoras de colônia (UFC) nas doses e volumes de calda propostos no trabalho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da cultura soja

Tem-se como centro de origem da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], o continente asiático, mais precisamente, a região correspondente à China Antiga. Há referências bibliográficas, segundo as quais, essa leguminosa constituía-se em base alimentar do povo chinês há mais de 5.000 anos (CAMARA, 1998). Na América do Norte, foi citada pela primeira vez nos EUA em 1804 (Pensilvânia), como promissora planta forrageira e produtora de grãos. Após as primeiras experiências efetuadas em diversos estados, seu potencial foi reconhecido e seu cultivo recomendado a partir de 1880. Apenas a partir da década de 1930 ocorreu a grande expansão como cultura produtora de grãos (CAMARA, 2011). A introdução da soja no Brasil ocorreu por volta de 1882, na Bahia, por Gustavo Dutra (BONETTI, 1981).

A leguminosa foi plantada durante muito tempo apenas em caráter experimental, por instituições de pesquisa. Em 1942 datam as primeiras estatísticas da utilização da soja para a produção de grãos, no estado do Rio Grande do Sul, onde produziu 450 toneladas em 640 hectares de área cultivada, com rendimento médio de 700 kg ha⁻¹

(VERNETTI et al., 1983). A partir do ano de 1960 a cultura da soja passou a adquirir importância no país, inicialmente na região Sul, na mesma década o Paraná chegou a produzir 60.000 toneladas do grão. A partir da década de 70, a cultura da soja evoluiu significativamente nos estados produtores, não apenas no Sul (PIOVESAN, 2008).

Nos anos 70 e 80, foi significativo o crescimento da cultura na região do Brasil Central, abrangendo os estados de MS, MT e GO. Diversas culturas foram introduzidas após a abertura de áreas no Cerrado, o que gerou o crescimento em área e em produtividade de diversas culturas, principalmente soja, tomate, banana, cana-de-açúcar e milho. Entretanto, dentre estas, foi à soja a que mais cresceu em área de cultivo (CAMARA, 2011).

Por sua alta plasticidade, a soja é capaz de desenvolver-se nos mais variados climas, sendo cultivada em todo o território nacional desde o extremo Sul do país, no Rio Grande do Sul, até o Maranhão, na região Nordeste, e Norte (partes de Tocantins, Pará, Rondônia e Roraima), apresentando em algumas regiões brasileiras, produtividades médias superiores à média obtida pela soja norte-americana (BUENO *et al.*, 2007).

2.2 As doenças na cultura da soja

As doenças na cultura da soja são responsáveis por grande redução na produtividade, sendo relatadas mais de 40 doenças no Brasil, que podem ser de origem fúngica, virótica, bacteriana ou causadas por nematoides (EMBRAPA, 2005). A importância de cada doença varia com o ano e com a região de cultivo, dependendo das condições ambientais de cada safra. Estima-se perda de 15 a 20% na produtividade, todavia, para algumas doenças, perdas podem chegar a 100% (EMBRAPA, 2013).

Dentre as doenças que afetam a cultura da soja encontra-se o mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Essa doença demonstrou um aumento considerável a partir da safra de 2008, com estimativa de cerca de 23,7% da área de cultivo de soja no Brasil infestada pelo patógeno na safra 2012/2013 (MEYER *et al.*, 2014).

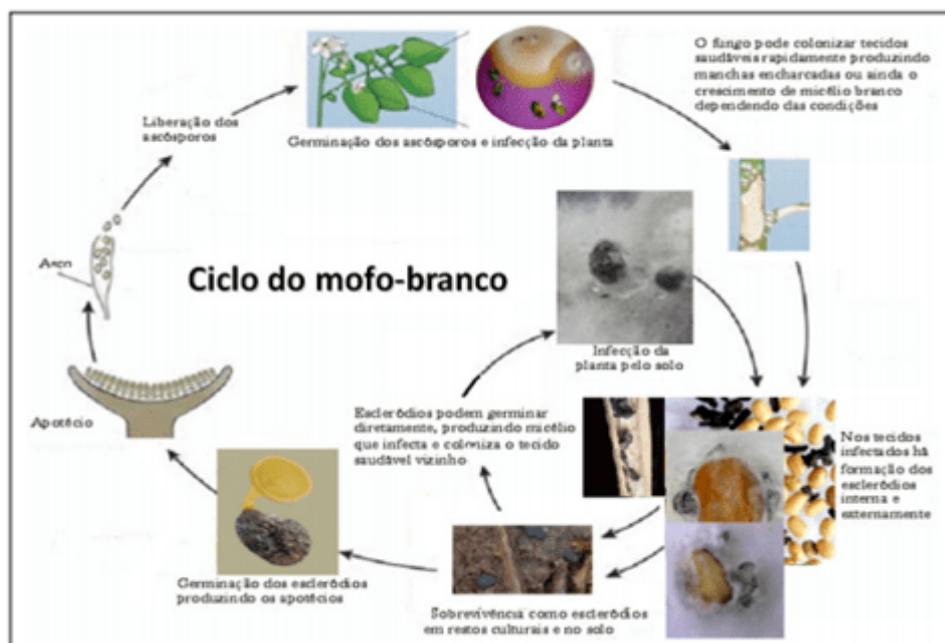
2.3 Mofo branco

O fungo não produz esporos a partir do micélio, mas podem ser produzidos microconídios em hifas ou no himênio do apotécio, sem função conhecida na biologia

do patógeno (KOHN, 1979). Durante sua interação com a planta hospedeira, o *S. sclerotiorum* secreta ácido oxálico e enzimas, que permitem a maceração dos tecidos e, ainda, degradam os componentes da parede celular da planta. Além disso, o ácido oxálico cria um ambiente no qual as enzimas de degradação produzidas pelo fungo são mais eficientes (SOUZA FILHO, 2012).

A pectina é o principal constituinte da parede celular da planta e o fungo produz pectinase que cumpre a função de degradação desse componente. O enfraquecimento da parede celular pela hidrólise da pectina facilita a penetração e a colonização da planta no instante que também providencia ao fungo a fonte de carbono necessária para dar origem ao seu crescimento. O patógeno produz várias formas de enzimas pectinolíticas que são capazes de matar células vegetais, deteriorando os tecidos, indicando assim sua função na patogenicidade (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Figura 1: Ciclo do mofo-branco



Fonte: Oliveira, 2016

Com relação ao ciclo do Mofo Branco, cabe destacar que o fungo sobrevive na maior parte de seu ciclo em forma de estruturas de resistência, denominados escleródios. Também sobrevive no endosperma de sementes de plantas hospedeiras. Dessa forma, as estruturas citadas servem como veículo de disseminação e inóculo primário, desempenhando função primordial no ciclo da doença. Outro ponto

importante é a alta capacidade de reprodução, através da formação de escleródios com capacidade de sobreviver por longo tempo, faz das estruturas de resistência um dos componentes centrais na epidemiologia de *S. sclerotiorum* (BOLTON *et al.*, 2006).

Essa durabilidade ocorre devido a constituição física dura, devido à presença de uma proteção exterior preta formada por pigmentos de melanina, altamente resistentes à degradação microbiana, envolvendo a medula, parte interna formada pelo micélio do fungo. No solo, durante e após exposição a condições climáticas favoráveis, os escleródios germinam dando origem aos apotécios, estruturas em forma de taças, onde são formados os ascósporos, os quais são disseminados pelo vento, podendo infectar novos tecidos, iniciando novo ciclo da doença (BOLTON *et al.*, 2006).

2.4 Quadro sintomático da doença

O mofo branco geralmente tem início em locais de alta densidade de plantas e em semeaduras de cultivares de hábito de crescimento indeterminado (prostrados). O sintoma inicial é geralmente a murcha da planta, resultado do apodrecimento do caule causado pelo fungo. Depois os sintomas, que podem ocorrer nas folhas, hastes e vagens, se dão através da formação de manchas encharcadas, seguidas por crescimento de micélio branco e cotonoso, o que dá origem ao nome “mofo branco” (PRIA; SILVA, 2010).

Com o progresso da doença, formam-se escleródios do fungo, facilmente visíveis a olho nu, dentro do tecido infectado e sobre ele. Os tecidos doentes tornam-se secos, leves e quebradiços. Sementes infectadas são pequenas, sem brilho, descoloridas, enrugadas e mais leves ou não apresentam qualquer sintoma externo. O fungo pode ser isolado de menos de 0,5% de sementes aparentemente normais e de cerca de 12% de sementes com algum sintoma da doença. Os prejuízos diretos são decorrentes da menor produtividade das plantas. Entre as perdas indiretas, estão a condenação de áreas para a produção de sementes, o aumento do custo de produção e os custos ambientais decorrentes do controle químico (PRIA; SILVA, 2010).

Como *S. sclerotiorum* possui vasta gama de hospedeiros, não há um sintoma específico resultante em 100% dos casos. Por outro lado, a formação de micélio cotonoso, de coloração branca, com a presença de escleródios pretos, de tamanho e forma irregulares são sinais típicos do patógeno (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

O fungo é capaz de infectar qualquer parte da planta de soja, porém, as infecções iniciam-se com mais frequência a partir das inflorescências, das axilas dos pecíolos e dos ramos laterais. O patógeno pode atacar toda a parte aérea da planta, afetando folhas, hastes e vagens (ALMEIDA *et al.*, 1997; GRAU; HARTMAN, 1999).

A planta de soja infectada apresenta, inicialmente, lesões aquosas, de onde crescem as hifas, formando abundante micélio. Os tecidos atacados apodrecem em consequência da ação das diversas toxinas produzidas por *S. sclerotiorum*. Nessa fase, podem ser observados o apodrecimento de hastes laterais, vagens e folhas, ou mesmo a haste principal com morte de toda a planta (GRAU; RADKE, 1984).

Com o avanço da colonização do tecido vegetal pelo fungo, as lesões inicialmente encharcadas tornam-se secas, de aspecto descolorido e normalmente esbranquiçado e não apresentam mais sinais externos. No desaparecimento dos sinais externos, escleródios são formados tanto na superfície como no interior da haste e das vagens infectadas. Posteriormente, nos tecidos já secos, são produzidos os escleródios que podem se soltar sozinhos das plantas, ou serem lançados ao solo pela colhedora. Quando o colo da planta é atacado, toda a planta pode murchar e morrer (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Geralmente, os sintomas se concentram no terço inferior das plantas, o que é considerado como um indicativo de origem interna (de dentro da lavoura) do inóculo (BOLAND; HALL, 1988).

Em alguns casos, ocorrem infecções no terço superior das plantas, quando se considera que os ascósporos podem ser liberados no campo tardiamente, ou vindo de áreas vizinhas à lavoura (ABAWI; GROGAN, 1975).

Em áreas pouco infestadas por *S. sclerotiorum* são observadas reboleiras de planta amareladas e murchas, que tendem a aumentar de tamanho até tomar toda a área de cultivo, na ausência de medidas de controle. A desfolha mais intensa se dá principalmente no terço inferior das plantas, o que só é observado quando se realiza o monitoramento adequado da lavoura. Ao se observar as plantas somente de cima, sem abrir o seu dossel, pode-se subestimar a ocorrência da doença, e também as perdas na produção causadas pelo mofo branco (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

2.5 Epidemiologia

Para a germinação carpogênica (produção de apotécios) ocorrer, os escleródios devem receber luz suficiente e temperatura entre 10°C a 20°C; caso contrário, não havendo a presença de luz e temperatura entre 10°C a 20°C só ocorre a germinação micelogênica (produzindo micélio), de potencial epidêmico muito mais reduzido (PHILLIPS,1987).

Geraldine *et al.* (2010) observaram uma estreita relação entre a umidade do solo e a temperatura na germinação de escleródios de *S. sclerotiorum*, sendo que nas temperaturas de 13°C a 20°C e com umidade do solo a 75% da capacidade de campo, houve maior e mais rápida germinação carpogênica. Silva e Morandi (2012) relataram que a temperatura ótima para germinação carpogênica do fungo situa-se entre 18°C e 20°C. Sun e Yang (2000) determinam que temperatura média do ar de 20°C e solo com bom suprimento de água são condições consideradas ótimas para o desenvolvimento do apotécio, que ocorre em um período de aproximadamente 10 dias. Já Clarkson *et al.* (2004) relatam que a temperatura ótima para germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* está situada entre 15 °C a 20°C.

2.6 Manejo da doença

Os melhores métodos de controle são os que associam várias tecnologias, tais como: a rotação de cultura, a adição de produtos biológicos nas culturas exploradas, a aplicação de fungicidas específicos para o seu controle, entre outros (SOUZA FILHO, 2012).

No entanto, o que se tem verificado na prática é bastante diferente. Medidas básicas para controle de doenças, como a rotação de culturas, não são adotadas pelos agricultores. Provavelmente, a inexistência de uma política de preços agrícolas ou subsídios dificulte a adoção dessa prática pelos produtores rurais ao longo do tempo (SOUZA FILHO, 2012).

Existem duas formas de controle do mofo-branco com microrganismos. A primeira é consequência do manejo de palhada no sistema plantio direto que permite o aporte de matéria orgânica no solo, viabilizando o aumento da atividade de antagonistas (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Outra forma de controle biológico é a aplicação de antagonistas que são selecionados, e essa aplicação deve ser feita antes da germinação dos escleródios

quando se encontra em repouso na superfície do solo, por estar mais vulnerável ao ataque. No caso do *Trichoderma*, este é um dos potenciais agentes de biocontrole, por diversas características, dentre as quais pode-se citar o rápido crescimento micelial, a alta produção de conídios, a síntese de substâncias antimicrobianas e a capacidade de sobreviver como saprófita, simbiote ou como microparasita (ALVARENGA *et al.*, 2007).

A solarização do solo é uma técnica promissora de desinfestação do solo contaminado. A cobertura do solo com resíduos de culturas e plástico, podendo ser útil em pequenas áreas de cultivo intensivo, e o seu uso pode destruir os escleródios em até 60 dias (FERRAZ *et al.*, 2003).

Esta prática é muito importante, pois dispensa a utilização do brometo de metila, fumigante que está proibido o uso no Brasil desde 2010 (SOUZA FILHO, 2012). Com o avanço do sistema de produção orgânica de plantas, há interesse na busca de novas práticas agrícolas que substituam os métodos convencionais de controle de doenças.

Um deles que pode ser adotado é através do uso de extratos de plantas medicinais que poderão ter compostos secundários presentes nestas plantas advindos do fitoquímicos com potencial de desempenhar funções importantes em interações planta-patôgeno, através da ação antimicrobiana direta, ou ativando mecanismos de defesa das plantas que venham a ser tratadas com estes compostos. Alguns trabalhos têm demonstrado isto, como, por exemplo, o potencial do gengibre (*Zingiber officinalis*) para o controle de *S. sclerotiorum* em alface, o qual pode ocorrer tanto por atividade antimicrobiana direta quanto pela ativação de mecanismos de defesa (RODRIGUES *et al.*, 2007).

Entretanto estudos similares são ainda em número reduzido, e deverão ser conduzidos, visando possibilitar a recomendação desta prática de forma obter-se um manejo em maior segurança, tais como dosagem e época de aplicação em diversas culturas (SOUZA FILHO, 2012).

As principais dificuldades encontradas no manejo do mofo branco na soja, por exemplo, estão nos plantios realizados na primeira época, onde a incidência e severidade tem sido maiores, na dificuldade de se prever a ocorrência, no alto custo dos produtos registrados para o controle da doença e no fato da doença ocorrer em momento de chuvas continuadas, o que limita as entradas para a realização de pulverização, na redução da utilização de rotação de culturas, na contratação de máquinas para a colheita,

sem necessariamente de terem sido limpas, e na crescente utilização de cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado (SOUZA FILHO, 2012).

Diversas práticas culturais estão disponíveis para a condução do manejo integrado do mofo branco, e permitem a recuperação da produtividade das culturas em áreas com alta infestação do patógeno, reduzindo sua importância. São tecnologias relativamente simples e acessíveis a grande número de agricultores e, em sua maioria, preventivas. Considera-se como praticamente impossível erradicar *S. sclerotiorum* das áreas infestadas, mas, mesmo assim, há diversas medidas que permitem o convívio com a doença e a redução de perdas no seu rendimento (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

2.7 Controle biológico de mofo branco

Fungos do gênero *Trichoderma spp.*, pertencentes ao Filo Ascomycota, são a forma anamórfica do gênero *Hypocrea*. Assim, os fungos filamentosos do gênero *Trichoderma spp.* reproduzem-se assexuadamente pela produção de conídios (SAMUELS, 2006). Este gênero compreende fungos de vida livre, facilmente encontrados em solos de regiões de clima temperado e tropical (RIBEIRO, 2009; MACHADO *et al.* 2012). Pertencente à microbiota do solo, apresenta importante função ecológica, pois participa da decomposição e mineralização dos resíduos vegetais e outros materiais orgânicos, contribuindo com a disponibilização de nutrientes para as plantas (SAITO *et al.*, 2009).

A eficiência de *Trichoderma spp.* vem sendo demonstrada em estudos de laboratório, casa de vegetação e campo, mostrando-se como competentes agentes de biocontrole de patógenos em diferentes culturas de interesse agrícola (MACHADO *et al.*, 2012). Lohmann *et al.* (2007) observaram que a inoculação de três linhagens de *Trichoderma spp.* em bandejas, contendo sementes de soja em solo infestado com *Sclerotium rolfsii*, reduziram a incidência de damping-off provocado pelo fitopatógeno.

Segundo Gava e Menezes (2012). Os isolados *T. koningii* LCB49 e *T. polysporum* LCB50 apresentaram potencial para aplicação como biocontroladores de patógenos de solo em meloeiro, resultando em maior número de plantas no estande e em incremento na produtividade de frutos. No entanto, a utilização de fungicidas químicos para o tratamento de sementes de soja resultou em estande adequado de plantas, enquanto o tratamento com *Trichoderma spp.* não ofereceu proteção às sementes no solo, provocando redução drástica na germinação e emergência de plantas. Este dado

remete ao fato de que este gênero também apresenta características decompositoras, e sementes não sadias são alvos fáceis de deterioração pelos fungos.

Assim, cada espécie de *Trichoderma spp.* apresenta características únicas, e estas que definem qual a potencialidade do gênero quanto à sua atuação como biocontroladores. Harman (2000) cita que o mecanismo de ação dos organismos é importante no entendimento do fenômeno do biocontrole. *Trichoderma spp.* pode atuar por antibiose, devido a produção de algumas substâncias, como a trichodermina e a dermadina (MACHADO *et al.*, 2012).

Segundo Machado *et al.*, (2012 a atividade antagonista de *Trichoderma spp.* também está relacionada à produção de enzimas hidrolíticas extracelulares. O biocontrolador pode degradar enzimas sintetizadas pelo fitopatógeno, devido à sua capacidade de sintetizar proteases. Além disso, podem competir com outros microrganismos por exsudatos, nutrientes e por espaço.

Representantes do gênero *Trichoderma spp.* podem ser dominantes na rizosfera, devido às suas elevadas taxas de crescimento e à capacidade de se adaptar a qualquer substrato presente no solo. Essa capacidade de colonização de raízes, reduzindo a concentração de outros microrganismos, associado à elevada taxa de decomposição de resíduos orgânicos, eleva o *Trichoderma spp.* à classe de promotores de crescimento (MACHADO *et al.*, 2012). No entanto, as relações que ocorrem entre planta e fungo são complexas, e necessitam análises mais aprofundadas no que se refere à ação de *Trichoderma spp.* como promotor de crescimento vegetal. Alguns estudos indicam a capacidade de *Trichoderma spp.* em disponibilizar nutrientes na forma solúvel para a planta, processo que pode participar na promoção de crescimento (SAITO *et al.*, 2009).

Mesmo com os diversos estudos referentes ao efeito biocontrolador e promotor de crescimento de *Trichoderma spp.*, ainda há escassa utilização do biocontrole na agricultura comercial. Este fato se deve, em parte, à restrita gama de produtos licenciados pelo Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento (MAPA) (MACHADO *et al.*, 2012). Bettioli *et al.* (2012) listaram 55 produtos comerciais à base de *Trichoderma spp.* disponíveis a nível mundial, sendo todos eles considerados como produtos de biocontrole de patógenos.

2.7.1 *Trichoderma harzianum*

No gênero *Trichoderma spp.*, a espécie *T. harzianum* é a mais investigada. A listagem realizada por Bettiol *et al.* (2012) revelou que dos 55 produtos pra bioncontrole à base de *Trichoderma spp.*, 30 deles apresentavam a espécie *T. harzianum* como princípio ativo básico, ou associado a outras espécies de *Trichoderma spp.* Uma das linhagens comercializadas, denominada T-22, apresenta potente atividade biocontroladora e de estimulação de crescimento vegetal (HARMAN, 2000).

Não apenas a linhagem T-22 de *T. harzianum* tem apresentado bons resultados dentre os biocontroladores. Em estudo de tratamento de sementes de feijoeiro comum ‘Jalo Precoce’, os isolados de *T. harzianum* CEN287 e CEN289 demonstraram-se efetivos para o controle de *Aspergillus*, os isolados CEN287 e CEN316 demonstraram-se promissores para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, e *T. harzianum* isolado de produto comercial foi eficaz no controle de *Cladosporium*. Ainda, *T. harzianum* CEN289 e CEN290 resultaram em maior crescimento do feijoeiro em casa de vegetação e em campo. Portanto, o tratamento de sementes com *T. harzianum* promoveu o biocontrole de patógenos veiculados por sementes (CARVALHO *et al.*, 2011).

O patógeno *Sclerotinia rolfii*, que causa podridão em alho, foi controlado de forma eficiente com isolados específicos de *T. harzianum* (DE SOUSA e BLUM, 2013). Ainda, *T. harzianum* 2B2 e 2B22 apresentaram potencialidade na promoção de crescimento de mudas de cambará (MACHADO *et al.*, 2015). Em campo, o biocontrole com *T. harzianum* 1306 e palhada de braquiária demonstrou ser viável e eficiente para o controle do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) da soja em áreas de Cerrado (GÖRGEN *et al.*, 2009)

2.8 Compatibilidade a diferentes doses de glifosato.

O uso de herbicidas em níveis sub-tóxicos pode aumentar ou diminuir indiretamente a resistência das plantas às doenças. O uso de lactofen em soja induz a síntese e acúmulo de uma fitoalexina chamada gliceolina protegendo a cultura contra a doença, muito embora as reduções de produtividade de grãos devido às injúrias foliares causadas pela aplicação apresentam valores percentuais de 2,5 a 9,8%. O próprio rótulo do herbicida, nos Estados Unidos da América, indica que o mesmo pode ser usado no controle de Mofo Branco. O glifosato por sua vez, quando aplicado em sub-doses, aumenta a severidade da doença devido à inibição da rota de síntese de fitoalexinas. Nos

Estados Unidos, após a introdução de plantas transgênicas resistentes a glifosato, foi relatada maior ocorrência de *S. sclerotiorum* (LEE *et al.*, 2000).

A resistência das plantas daninhas a diferentes mecanismos de ação eleva os custos de produção nas lavouras de grãos, segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, somente no Rio Grande do Sul, biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) e de buva (*Conyza bonariensis*) resistentes ao glifosato estavam presentes em mais de 85% das lavouras de soja na safra de 2015, ocasionando custos adicionais e perdas no rendimento de grãos que está entre 155 e 610 milhões de reais por ano. Assim sendo, o controle de plantas daninhas é considerado uma prática essencial no desempenho das culturas agrícolas, e em virtude do aumento da agricultura orgânica, e a pressão ambiental, tem-se a necessidade de desenvolvimento de novos produtos, que sejam mais “amigáveis” ao ambiente, que não causem danos à saúde humana e auxiliem no controle de plantas daninhas resistentes a herbicidas sintéticos (PANNACCI *et al.*, 2014).

As diferentes linhas de pesquisa no controle de fitopatógenos, tanto na área de agrotóxicos quanto de biocontroladores, ainda apresentam algumas lacunas dentro da comunidade científica ressaltam que substituir a origem dos insumos, ou seja, passar de agrotóxicos para biológicos, consiste em um método de avançar na forma que se produz, alcançando maior sustentabilidade no processo produtivo. Porém, os produtores ainda trazem consigo uma herança cultural, em que a mudança na forma de produção representa uma barreira, e até um retrocesso nas técnicas produtivas (DIAS NETO, 2014).

Uma possível alternativa a este impasse resume-se à capacidade de aliar as duas linhas de pensamento: agrotóxicos e biocontroladores. O produto antagonista, biocontrolador, deve ter alguma compatibilidade com os outros produtos que são inseridos no agroecossistema. Algumas vezes, a utilização de produtos fitossanitários pode agir de forma indesejada no crescimento fúngico de controladores biológicos, podendo resultar em inviabilização dos mesmos (DIAS NETO, 2014).

Neste sentido, vale ressaltar que os estudos devem focar especificamente na área da compatibilidade do gênero *Trichoderma spp.* com produtos químicos, para que o mesmo obtenha sucesso na sua aplicação. Isto também implica em estudos de cada caso em específico, em que sejam delimitados intervalos de concentração e tolerância de cada produto. Lucon (2008) reforça esta ideia, quando sugere que isolados de

Trichoderma spp. possam ser aplicados separadamente, ou concomitantemente, com produtos fungicidas comumente utilizados no controle de fitopatógenos.

Inserindo-se nos estudos de compatibilidade, uma das vantagens que foi relatada por Luz (2003) refere-se à capacidade de o produto químico ser capaz de controlar o desenvolvimento inicial de patógenos, porém não interferindo no crescimento de microrganismos biocontroladores, o que contribui para a redução da incidência de patógenos no restante do ciclo da planta, após o término do efeito residual.

O estudo realizado por Lobo Júnior, Geraldine e Carvalho (2009) comprova este ponto, onde isolado de *T. harzianum* foi capaz de se desenvolver após o efeito residual do tratamento de sementes. Um dos problemas na avaliação de compatibilidade vem sendo a metodologia a ser utilizada para padronizar os resultados. Silva *et al.* (2005) indicam, por exemplo, que para fungos entomopatogênicos, testes iniciais devem envolver, pelo menos, o crescimento vegetativo e a produção de esporos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório do Controle Biológico, que está localizado no Departamento de Fitopatologia, na Universidade Federal de Lavras. Este trabalho visou estudar a compatibilidade entre *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) e Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) para o controle de mofo branco, tendo duas variáveis resposta: Germinação Carpogênica e UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônia).

3.1 Análise da germinação carpogênica de escleródios de mofo branco

O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado nos experimentos foi proveniente da região de Ingaí, localizada no sul de Minas Gerais. Os escleródios obtidos foram submetidos a desinfestação superficial por imersão em álcool 70% por 30 segundos, em seguida, os escleródios foram transferidos a uma solução de hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos e, finalmente, lavada com água destilada três vezes (DELGADO *et al.*, 2007).

Para a germinação carpogênica foram preparadas gerbox contendo 200 g de areia autoclavada a cada 24 horas por 3 dias, com umidade na capacidade de campo, após isso foram colocados 20 escleródios em cada gerbox. Essa variável foi conduzida no delineamento de blocos casualizados (DBC) com 20 tratamentos e 4 repetições

(Tabela 1). Foi aplicada a dose da solução entre glifosato e *Trichoderma* de acordo com o volume de calda de cada tratamento e a área da gerbox nos escleródios e depois essas gerbox foram levadas para B.O.D.'s e mantidas por aproximadamente 40 dias em temperatura constante de 17°C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período foram realizadas 3 avaliações e utilizando apenas a última avaliação para fazer a análise estatística.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos da variável resposta: Germinação Carpogênica.

	Tratamento	Dose de herb. (L ha⁻¹)	Dose de bio. (kg ha⁻¹)	Volume de calda (L ha⁻¹)
T1	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	80
T2	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	150
T3	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	200
T4	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	80
T5	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	150
T6	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	200
T7	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	80
T8	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	150
T9	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	200
T10	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	2,0	-	80

T11	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	2,0	-	150
T12	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	2,0	-	200
T13	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	3,0	-	80
T14	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	3,0	-	150
T15	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	3,0	-	200
T16	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	6,0	-	80
T17	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	6,0	-	150
T18	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI)	6,0	-	200
T19	<i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP) (TP)	150,0	0,15	200
T20	Água (TN)	-		200

Fonte: Próprio autor.

3.2 Avaliação de Unidades Formadoras de Colônia após mistura com Glifosato

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso (DBC) com 12 tratamentos com 4 repetições cada. Os controles foram constituídos por produtos biológicos, sem adição de herbicida. Neste teste, foi utilizada uma metodologia diferente da descrita acima. Herbicidas e produtos biológicos foram adicionados em 200 mL de água destilada autoclavada em béquer de acordo com os tratamentos, respeitando os volumes de calda de 200 L ha⁻¹, 150 L ha⁻¹, 80 L ha⁻¹ e as doses de 2 L ha⁻¹, 3 L ha⁻¹ e 6 L ha⁻¹ do herbicida (Tabela 2).

Tabela 2 – Descrição dos tratamentos da variável resposta: Unidades Formadoras de Colônias (UFC mL⁻¹).

	Tratamento	Dose de herb. (L ha⁻¹)	Dose de bio. (kg ha⁻¹)	Volume de calda (L ha⁻¹)
T1	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	80
T2	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	150
T3	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	2,0	0,15	200
T4	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	80

T5	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	150
T6	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	3,0	0,15	200
T7	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	80
T8	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	150
T9	Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) + <i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP)	6,0	0,15	200
T10	<i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP) (TP)	-	0,15	80
T11	<i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP) (TP)	-	0,15	150
T12	<i>Trichoderma harzianum</i> (Ecotrich WP) (TP)	-	0,15	200

Após misturar e homogeneizar os produtos, retirou-se uma alíquota de 40 mL de cada béquer e depositada em um tubo falcon. As soluções de herbicida (Roundup Original DI) com produto biológico (Ecotrich WP) foram feitas e mantidas no shaker durante 3 horas, após esse período extraiu-se uma alíquota de 1 mL de cada um dos tratamentos e colocados em eppendorfs, que foram levados para centrifugação durante 10 minutos a 10.000 rpm, repetindo esse processo por mais uma vez visando retirar o herbicida da solução. Após a formação do pellet foi retirado o líquido presente no microtubo e ressuspenso com 1 mL de solução salina (0,9%) e plaqueado.

Realizou-se o plaqueamento em placas de petri contento meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) solidificado, sendo pipetados 100 µL da solução do pellet e espalhada com o auxílio da alça de Drigalski, após isso as placas foram vedadas e mantidas no escuro em temperatura ambiente. A contagem de UFC começou a ser feita após 48 horas, sendo realizadas mais duas contagens com 72 horas e 96 horas.

Este é um método quantitativo, onde o resultado é expresso em unidades formadoras de colônia (UFC/mL). Tem como base a homogeneização do produto biológico com o diluente esterilizado (solução salina com adição de Tween 80). A partir dela é realizado diluições decimais, as quais são distribuídas em placas sobre meio BDA e mantidas em temperatura ambiente no escuro para posterior contagem do número de colônias formadas pelo *Trichoderma harzianum*.

3.3 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram avaliados pelos testes de normalidade e teste de homogeneidade e posteriormente submetidos à análise de variância baseada no delineamento adotado para p menor ou igual a 5% de probabilidade, pelo teste F, utilizando o programa estatístico R (R CORE EQUIPE, 2021). Quando diferenças significativas foram detectadas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

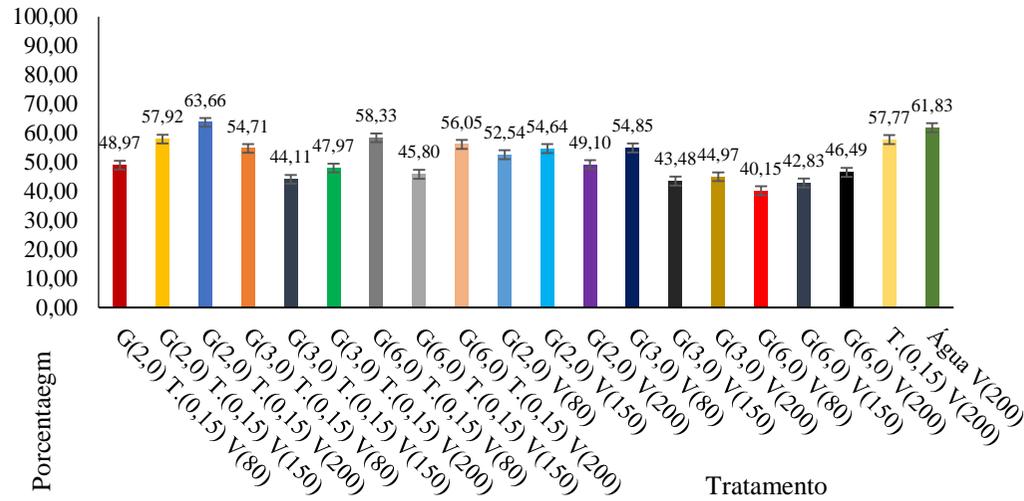
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra a germinação carpogênica, realizada com 20 escleródios em cada gerbox. Onde foi aplicada a mistura de herbicida e produto biológico, Glifosato sal de di-amônio de N (Roundup Original DI) e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP).

O Ecotrich é um fungicida microbiológico à base de *Trichoderma harzianum* em formulação WP. Concentração: 1×10^{10} UFC/g.

Figura 1: Gráficos dos parâmetros analisados na variável

Gráfico A – Número de escleródios germinados

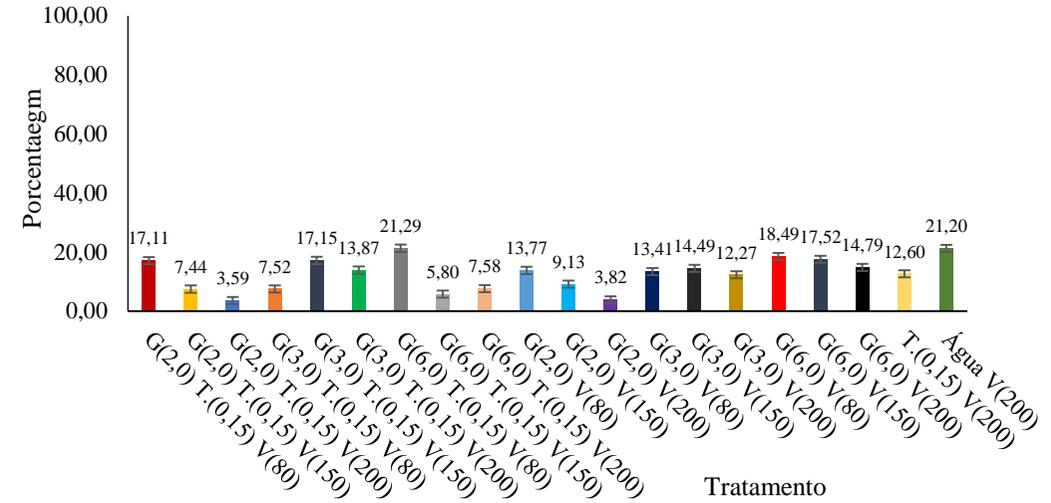


i - G – Glifosato (L ha⁻¹) / ii - T. – *Trichoderma harzianum* (kg ha⁻¹) / iii - V – volume de calda (L ha⁻¹)

*Não foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

Gráfico B- Número de escleródios colonizados por *Trichoderma harzianum*

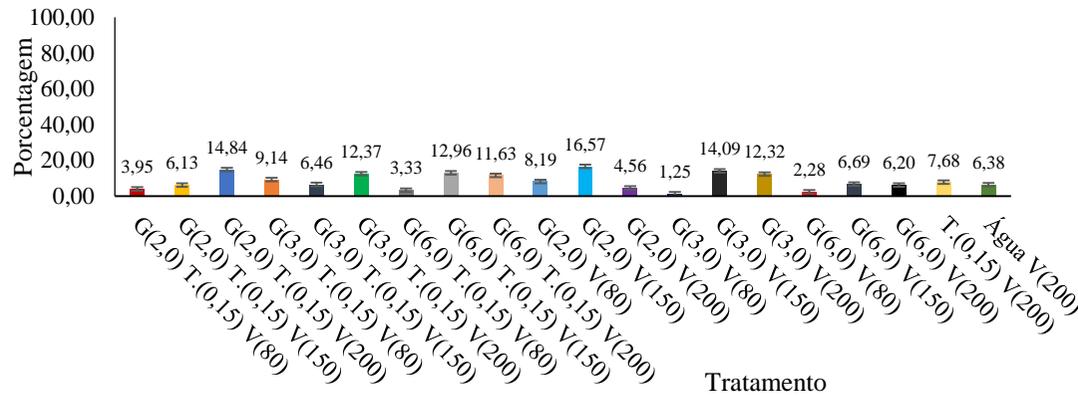


i - G – Glifosato (L ha⁻¹) / ii - T. – *Trichoderma harzianum* (kg ha⁻¹) / iii - V – volume de calda (L ha⁻¹)

*Não foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

Gráfico C - Número de escleródios inviáveis (podres)

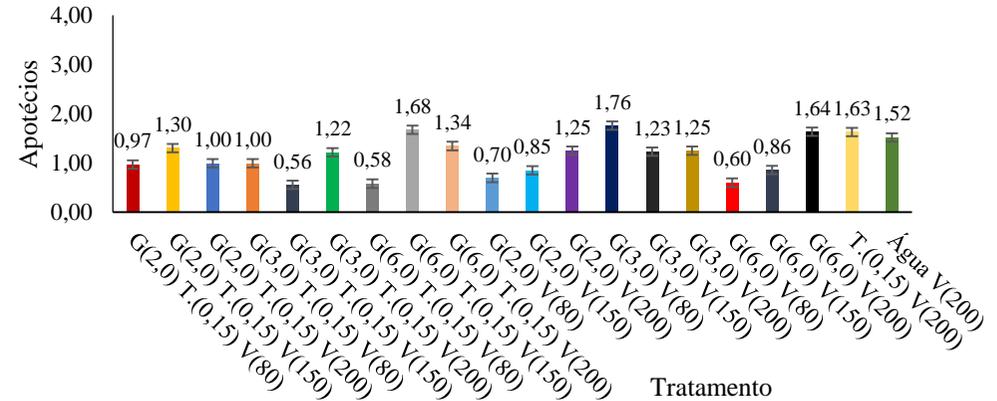


i - G – Glifosato (L ha⁻¹) / ii - T. – *Trichoderma harzianum* (kg ha⁻¹) / iii - V – volume de calda (L ha⁻¹)

*Não foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

Gráfico D- Número de apotecios formados para cada escleródio germinado



i-G– Glifosato (L ha⁻¹) / ii-T. – *Trichoderma harzianum* (kg ha⁻¹) / iii-V– volume de calda (L ha⁻¹)

*Não foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

O gráfico 1A que analisou o processo de germinação carpogênica, ao comparar o efeito dos herbicidas na formação carpogênica dos escleródios na areia a menor média entre esses foi de 40,15% (Tratamento 16), onde foi utilizado apenas o herbicida na dose de 6,0 L ha⁻¹ e com volume de calda de 80 L ha⁻¹.

Com relação a análise de mais dois tratamentos que obtiveram uma porcentagem menor de germinação, ou seja, 42,83% (Tratamento 17) tendo apenas o herbicida com dose de 6,0 L ha⁻¹ com volume de calda de 150 L ha⁻¹ e o valor 43,48% (Tratamento 14) que também teve apenas o herbicida, mas na dose 3,0 L ha⁻¹ em um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

Já a maior média apresentada de germinação carpogênica de escleródios foi de 63,66% (Tratamento 3), tendo como dose de herbicida (glifosato) 2,0 L ha⁻¹ e uma dose de 150 g ha⁻¹ de *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) em um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

Analisando os dois tratamentos que obtiveram uma porcentagem maior de germinação, ou seja, 61,83% (Tratamento 20) sendo este a testemunha negativa utilizando apenas água com volume de calda de 200 L ha⁻¹, e o valor 58,33% (Tratamento 7) que envolveu a mistura entre herbicida (glifosato) na dose de 6,0 L ha⁻¹ com o *T. harzianum* (Ecotrich WP) em uma dose de 150 g ha⁻¹ com o volume de calda igual a 80 L ha⁻¹.

Em estudos realizados por Meyer *et al.* (2017), nas análises de germinação carpogênica, com exceção do tratamento T4 (*Trichoderma asperellum*), todos os demais superaram a testemunha na redução da produção de apotécios, com uma aplicação dos agentes de biocontrole, apresentando controle de 11% a 17%. Com duas aplicações, somente os tratamentos com *T. harzianum* (T2), *T. asperellum* (T4), *B. pumilus* (T7) e lignosulfonato (T5) apresentaram maiores reduções na germinação carpogênica que a testemunha (T1), com índices de controle variando de 19% a 24% (EMBRAPA).

No gráfico 1B estão apresentados os resultados da colonização realizada com 20 escleródios, analisando se a utilização de glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) separadamente ou concomitantemente.

No gráfico citado observamos que o processo de colonização ocorreu em sua máxima eficiência no tratamento 7, com 21,29%, que representa pela tabela 1 o tratamento realizado com glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) concomitantemente.

Analisando os três tratamentos que obtiveram uma porcentagem maior de colonização tivemos os tratamentos 7, 20 e 16, apresentando respectivamente os valores 21,29%, 21,20% e 8,49%,

Já as que obtiveram uma porcentagem menor de colonizados temos 3,59%, tratamento 3, utilizando de glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) concomitantemente, o valor 3,82%, tratamento 12, utilizando apenas glifosato e o valor 5,80%, tratamento 8, utilizando glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP).

Corroborando com esses resultados Barbieri *et al.* (2013), mostraram que o produto químico isolado ou associado com biológico foram mais eficientes no controle dos fungos presentes, destacando que dos gêneros encontrados, a utilização de produto químico não inibiu a colonização com o *Trichoderma*, demonstrando a capacidade deste bioprotetor colonizar mesmo na presença de fungicida. Desta forma, de maneira conclusiva os autores demonstram que os tratamentos mais eficientes para o controle dos fungos presentes consistiram do uso isolado do fungicida (flutriafol) e de seu uso associado ao produto biológico (flutriafol + *Trichoderma* spp.).

Em estudos realizados por Meyer *et al.* (2017), em relação à colonização de escleródios por *Trichoderma* spp., não houve incremento com uma aplicação de biofungicida mas, com duas aplicações, todos os tratamentos apresentaram maiores percentuais de escleródios colonizados, superando a testemunha (T1) na ordem de 13% a 26% (MEYER *et al.*, 2017).

No gráfico 1C temos a viabilidade ou não dos escleródios que foi efetuada observando se o escleródio estava em decomposição ou não (mole/podre), A avaliação de viabilidade se deu visualmente e apenas escleródios podres ou colonizados por outros fungos que foram contabilizados, onde tivemos o maior índice de inviabilidade 16,57%, no tratamento 11 de acordo com a tabela 1, em que foi utilizado apenas glifosato.

Analisando a viabilidade tivemos como os três menores resultados, os tratamentos 13, 16 e 7, com as porcentagens respectivamente 1,25%, 2,28% e 3,33%, bem como utilização de glifosato, glifosato e por fim glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP).

Já os maiores índices de inviabilidade foram apresentados nos tratamentos 11, 3 e 14, com porcentagens de 16,57%, 14,84% e 14,9%, utilizando de glifosato, glifosato com *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) e o último glifosato.

O parasitismo por *Trichoderma* foi determinado pela colonização de escleródios germinados ou não é identificação de acordo com características morfológicas. Foram considerados como escleródios inviabilizados aqueles que não apresentaram germinação miceliogênica (CARDOSEO, 2015).

No gráfico 1D temos uma comparação entre dois itens avaliados os apotécios que diz respeito a quantidade de apotécios formados para cada tratamento com 20 escleródios, apresentando a menores porcentagens de escleródio germinado, tendo como os três menores índices apresentados os valores 0,56%, 0,58% e 0,60%. Valores esses encontrados nos tratamentos 5, 7 e 16, utilizando respectivamente glifosato, glifosato e por fim glifosato com *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP).

Já na análise dos apotécios / escleródio germinado, os que apresentaram maiores porcentagens temos 1,76%, 1,68%, e 1,64%, sendo os tratamentos 13, 8 e 18, utilizando respectivamente glifosato, glifosato com *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) e por fim glifosato.

As análises que evidenciaram significância dos gráficos 1A, 1B, 1C e 1D seguiram tendências semelhantes para porcentagem de escleródio germinado e número de estirpe por escleródio, onde a testemunha foi responsável pelas maiores médias, indicando a eficiências dos tratamentos com glifosato e *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP) no controle biológico em soja. Para o número de apotécio por escleródio também houve diferenças significativas entre os tratamentos.

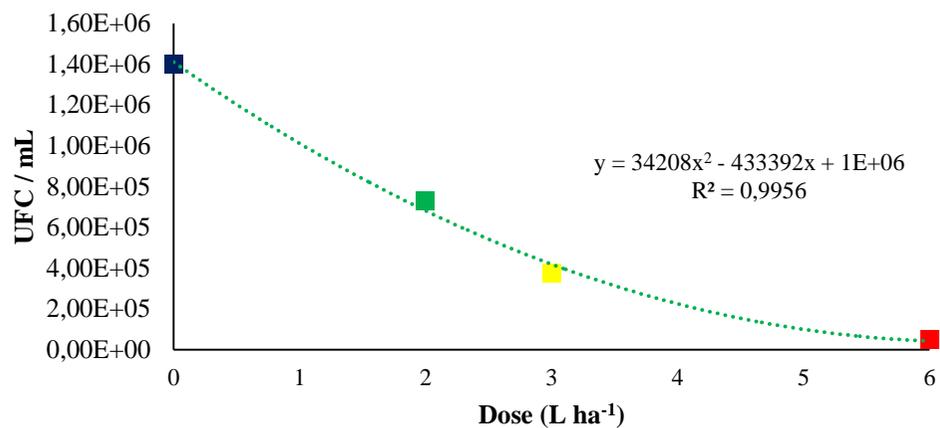
O que demonstrou eficiência da associação dos produtos como colocado por Machado *et al.* (2012) que em seu trabalho colocou que para a utilização adequada de *Trichoderma* com produtos químicos é preciso que as muitas variáveis envolvidas sejam consideradas, como a diversidade de ingredientes ativos, as concentrações, a associação de produtos, os diferentes cultivos e a forma de aplicação dos produtos.

Neste sentido como já foi colocado utilização de produtos à base de *Trichoderma* representam relevante alternativa para compor o manejo integrado de doenças, mas se faz necessário a utilização de dosagem correta, bem como formas de aplicação, condições ambientais no momento da aplicação, condição de cobertura de solo, compatibilidade de aplicação com outros produtos (ALMEIDA, *et al.*, 2010)

Para Samuels e Hebbar (2015), isolados de *T. harzianum*, sozinhos ou em combinação com outras espécies de *Trichoderma* ou adjuvantes químicos, tem sido utilizados no controle de doenças de forma eficiente principalmente no caso do mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*.

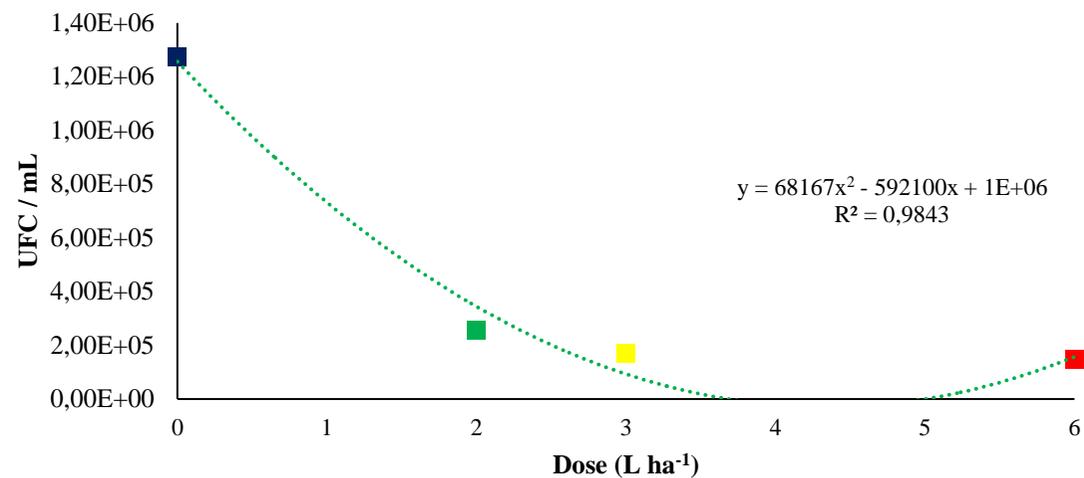
Figura 2: Gráficos utilizados para análise da variável UFC mL⁻¹ em diferentes volumes de calda

Gráfico D- Unidade formadora de colônia (UFC mL⁻¹) no volume de calda de 80 L ha⁻¹



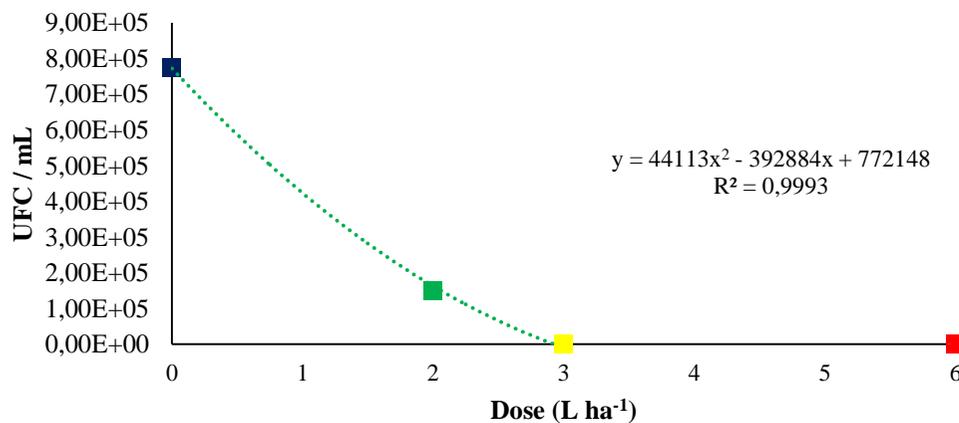
Fonte: Próprio autor.

Gráfico E- Unidade formadora de colônia (UFC mL⁻¹) no volume de calda de 200 L ha⁻¹



Fonte: Próprio autor.

Gráfico F- Unidade formadora de colônia (UFC mL⁻¹) no volume de calda de 150 L ha⁻¹



Fonte: Próprio autor.

Como é possível observar no gráfico 2D onde é utilizado um volume de calda de 80 L ha⁻¹ a formação de colônias do fungo *Trichoderma harzianum* diminui conforme a dose de herbicida (Roundup Original DI) aumenta, ou seja, quanto maior a dose de glifosato mais concentrada a solução fica e assim há um aumento no efeito deletério ao *T. harzianum*. Já na menor dose de glifosato que seria 2,0 L ha⁻¹ houve diminuição nas UFC's próximo de 43%, em relação à testemunha no mesmo volume de calda. Em seguida, na dosagem de 3,0 L ha⁻¹, houve também redução de aproximadamente 50% na formação de colônias, quando comparada à dose anterior. E na dose de 6,0 L ha⁻¹ há uma inibição quase completa das unidades formadoras de colônias.

No gráfico 2E podemos observar que ao contrário do gráfico anterior, que teve uma queda no número de colônias formadas de maneira constante, temos nas doses 2,0, 3,0 e 6,0 L ha⁻¹ valores muito próximos, apenas diferenciando da testemunha que apresentou um alto número de colônias formadas. Ou seja, nesse volume de calda as diferentes doses de herbicida afetaram de forma homogênea a formação de colônias do fungo *Trichoderma harzianum*. A formação de colônias se aproximou de zero nas doses 4,0 e 5,0 L ha⁻¹.

Neste gráfico 2F podemos observar as doses do herbicida e da formação de colônias no volume de calda de 200 L ha⁻¹, onde a testemunha apresentou um grande número de unidades formadoras de colônias. Já na dose de herbicida de 2,0 L ha⁻¹ uma redução de 75% na formação de colônias, mostrando que mesmo diluindo muito a mistura entre herbicida e produto biológico ainda houve um efeito deletério do glifosato sobre o *T. harzianum*. Nas seguintes doses o número de unidades formadoras de colônias foi praticamente zero, evidenciando ainda mais o que foi descrito acima.

Os resultados deste estudo indicaram nos gráficos 2D, 2E e 2F, uma redução significativa da formação de colônias após a dose 3,0 L ha⁻¹ para o volume de calda de 150 e 200 L ha⁻¹ (chegando próximo a 0 UFC/ml). No volume de calda de 80 L ha⁻¹ essa redução ocorreu apenas na 6 L ha⁻¹. Ponto de atenção para o volume de calda de 150 L ha⁻¹, que apresentou reversão do resultado na 6 L ha⁻¹, ou seja, aumento da formação de colônias, que chegou próximo a 2,0 x 10⁵ UFC mL⁻¹.

Resultados satisfatórios semelhantes foram encontrados por Costa et al., (2004) apontaram que o glifosato na dose de 0,5 L ha⁻¹ reduziu significativamente a esporulação de *M. anisopliae*, porém, ao contrário desse experimento, não afetou o crescimento vegetativo. Outros trabalhos também apontam que o herbicida a base de glifosato inibiu a formação de colônias, não sendo possível quantificar o crescimento.

Corroborando com esses resultados os trabalhos realizados por Agostini *et al.* (2013) e Silva *et al.* (2008) onde o herbicida foi classificado como incompatível com o entomopatógeno por não possibilitar a formação de unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹).

5 CONCLUSÃO

Em relação à germinação de escleródios podemos concluir que o tratamento 3 teve a maior porcentagem, mostrando que a dose de glifosato $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ em associação com o *T. harzianum* não afetou esse procedimento. No parâmetro referente a escleródios colonizados temos um tratamento (T7) com a porcentagem muito próxima, mostrando que mesmo na maior dose ($6,0 \text{ L ha}^{-1}$) de herbicida utilizada em conjunto com o agente de biocontrole tendo também o menor volume de calda (80 L ha^{-1}), não afetou a colonização dos escleródios. Na questão de inviabilidade dos escleródios, é possível observar que no tratamento 11, onde temos apenas o glifosato na dose de $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ com um volume de calda de 150 L ha^{-1} , obteve a maior porcentagem de escleródios inviáveis. Falando na relação de apotécios para cada escleródio germinado, notamos que no tratamento 13 tivemos a maior relação, mostrando que a dose de $3,0 \text{ L ha}^{-1}$ em um volume de calda de 80 L ha^{-1} não afetou a formação dessas estruturas de disseminação de ascósporos.

Com relação ao volume de calda e a formação de colônias a dose $3,0 \text{ L ha}^{-1}$ para o volume de calda de 150 e 200 L ha^{-1} (chegando próximo a 0 UFC/ml), mostraram não serem compatíveis. No volume de calda de 80 L ha^{-1} essa redução no crescimento de colônias de *T. harzianum* ocorreu apenas na dose 6 L ha^{-1} de glifosato. Ponto de atenção para o volume de calda de 150 L ha^{-1} , que apresentou reversão do resultado na dose de 6 L ha^{-1} de glifosato, ou seja, aumento da formação de colônias, que chegou próximo a $2,0 \times 10^5 \text{ UFC mL}^{-1}$, após ter sido praticamente zerada.

REFERÊNCIAS

- ACCINELLI, C.; MENCARELLI, M.; BALOGH, A.; ULMER, J.B.; SCREPANTI, C. Evaluation of field application of ungerminated biopesticide granules for reducing herbicide carry over risk. *Crop Protection*. v.67, p.243-250, 2014.
- ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. *Ecology of Sclerotinia species*. Phytopathology, v.69, p.896-899, 1979.
- ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C.D.S.S. (Ed.). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 399p.
- 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: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 24p.
- AMRHEIN, N.; DEUS, B.; GEHRKE, P.; STEINRUCKEN, H.C. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate II. Interference of glyphosate with chorismate formation in vivo and in vitro. *Plant Physiology*, v.66, p.830-834, 1980.
- BARBIERI, M.; ÁVILA, V. S.; MACIEL, C. G.; NOAL, G.; MUNIZ, M. F. B.; DÖRR, A. C. **Qualidade sanitária de sementes de aveia preta cv. BRS 139 (Avena strigosa SCHREB)** submetidas ao envelhecimento acelerado. REMOA, v. 13, n. 13, p. 2828-2836, 2013.
- CARDOSO, S. S. et al. **Eficiência de fungicidas no controle do mofo branco na cultura da soja**. Scientia Agraria Paranaensis, Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 1, p. 49-52, 2015.
- CORDEIRO, F.C.; DIAS, F.de.C.; MERLIM, A.de.O.; CORREIA, M. E. F.; AQUINO, A.M.de.; BROWN, G. Diversidade da macrofauna invertebrada do solo como indicadora da qualidade do solo em manejo orgânico de produção. **Revista Universidade Rural: Série Ciência da Vida**. v.24, p.29-34, 2014.
- EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: . Acesso dia 15 de jan. 2018.
- HAMMOND, C.N.; CUMMINGS, T.F.; JOHNSON, D.A. Deposition of ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum* in and near potato fields and the potential to impact efficacy of a biocontrol agent in the Columbia Basin. **American Journal of Potato Research**, v.85, p.353-360, 2008.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. **Coinoculação de soja e feijão com rizóbio e azospirilla: estratégias para melhorar a sustentabilidade**. Revista Biologia e Fertilidade do Solo, v. 49, p. 791-801, 2013.
- JULIO, V. A. **Manejo de mofo branco na cultura da soja**. 2016. Disponível em: . Acesso em: 21 out. 2016.

JÚNIOR, Murillo L.; GERALDINE, Alerson M.; CARVALHO, Daniel D. C. Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum. Circular Técnica 85. EMBRAPA, 2009, Santo Antônio de GoiásGO.

LEE, C.D.; PENNER, D.; HAMMERSCHMIDT, R. *Influence of formulated glyphosate and activator adjuvants on Sclerotinia sclerotiorum in glyphosate-resistant and susceptible Glycine max.* Weed Science, Lawrence, .Vol. 48, n.6, p.710-715, 2000.

MAZZUCHELLI, E. H. L.; MAZZUCHELLI, R. C. L.; ROMERO, E. F.; ROMERO, R. F.; ARAUJO, F. F. **Nodulação da soja em função da coinoculação de Bradyrhizobium spp. e Bacillus subtilis.** Resumo do trabalho de conclusão do curso de Agronomia da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, 2014.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja:** safras 2009 a 2012. Londrina: Embrapa soja, 2014. 100 p. (Documentos/ Embrapa soja, n. 345).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEIL, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (Sclerotinia sclerotiorum) em soja, na safra 2017/18:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 140).

OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo do mofo branco.** Revista DBO Agrotecnologia, v.2, n.4, p.6-7, 2005.

PANNACCI, E.; TEI, F. Effects of mechanical and chemical methods on weed control, weed rain and crop yield in maize, sunflower and soybean. *Crop Protection*, v.64, p.51-59, 2014.

PAULA JÚNIOR, T.J. de; VIEIRA, R.F.; ROCHA, P.R.R.; BERNARDES, A.; COSTA, E.L.; CARNEIRO, J.E.S.; VALE, F.X.R. do; ZAMBOLIM, L. **White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching,** *Trichoderma* spp., and fungicide. Summa Phytopathologica, v.35, p.44-48, 2009.

PERES, E.; DE MELO, I. S. **Variabilidade entre isolados de Trichoderma harzianum.** – I Aspectos citológicos. Scientia Agrícola, v. 52, n. 1, p. 56-59, 1995.

PHILIPS, A.J.L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. *Phytophylactica*, Pretoria, v.19, n.2 , p.279-283, 1987.

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

SANTIN, Rita C. M. **Potencial do Uso dos Fungos Trichoderma spp. e Paecilomyces lilacinus no Biocontrole de Meloidogyne incognita em Phaseolus vulgaris.** 2008. 91f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, L.R.; SANTOS, J.B. **Tópicos de manejo de plantas daninhas**. Viçosa/MG: UFV, 2007, cap.2, p.63-81.

TAO, B.; SHAO, B.H.; QIAO, Y.X.; WANG, X.Q.; CHANG, S.J.; QIU, L.Q. Identification and functional analysis of a new glyphosate resistance gene from a fungus cDNA library. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.140, p.65-68, 2017.