



**WESLEI ALAN CARVALHO NASCIMENTO**

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA  
COMPATIBILIDADE ENTRE HERBICIDAS E PRODUTOS  
BIOLÓGICOS**

**LAVRAS - MG**

**2023**

**WESLEI ALAN CARVALHO NASCIMENTO**

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA  
COMPATIBILIDADE ENTRE HERBICIDAS E PRODUTOS  
BIOLÓGICOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dra Fernanda Carvalho Lopes Medeiros

**LAVRAS – MG**

**2023**

**WESLEI ALAN CARVALHO NASCIMENTO**

**COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA  
COMPATIBILIDADE ENTRE HERBICIDAS E PRODUTOS  
BIOLÓGICOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 16 de novembro de 2023.

Dra Fernanda Carvalho Lopes Medeiros	UFLA
Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros	UFLA
Me. Guilherme Foschetti Gontijo	UFLA
Dr. Rafaela Araújo Guimarães	UFLA

**LAVRAS – MG**

**2023**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo. Agradeço a Ti por ter me concedido discernimento nas decisões que tomei, por fornecer as ferramentas necessárias para o meu trabalho e por me abençoar com o conhecimento necessário para alcançar esta etapa. Cada palavra escrita é uma manifestação da Sua orientação e presença em minha jornada acadêmica. Obrigado por ser a minha luz e guia nesta conquista.

Aos meus Pais e irmão, carrego um sentimento mais profundo por me acompanharem e me derem total apoio e base para as minhas decisões, sou grato eternamente por fazer parte da família Nascimento.

Agradeço a minha orientadora Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros pelo suporte e conhecimento repassado durante o presente trabalho.

Ao professor Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros pelo apoio dado e orientação nas metodologias utilizadas.

Ao meu amigo e agrônomo Guilherme Foschetti Gontijo pela colaboração nos momentos do trabalho, se prontificando em me ajudar sempre que precisei.

E a todos que puderam me apoiarem de alguma forma durante a jornada, meu muito obrigado

## RESUMO

A crescente importância dos produtos biológicos como complementos aos defensivos químicos na agricultura tem gerado uma necessidade crucial de avaliar a compatibilidade entre essas duas categorias de produtos. Essa avaliação não apenas expande o espectro de controle, mas também resulta em economia de mão de obra. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo principal avaliar a compatibilidade entre quatro ativos biológicos (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *Beauveria bassiana*) e 12 herbicidas amplamente utilizados na agricultura, assim como a realização de comparação entre os mesmos. O experimento foi conduzido nas instalações do laboratório de fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram empregadas diferentes metodologias, incluindo antibiograma, tempo de exposição e a incorporação do ativo químico nos meios de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). O objetivo era considerar as condições de campo, garantindo uma avaliação completa e abrangente da compatibilidade entre os produtos biológicos e químicos em estudo. A avaliação da compatibilidade para a última metodologia foi conduzida com foco nos índices de crescimento vegetativo das colônias dos fungos, medidas diariamente em meio BDA com a presença dos herbicidas. Os resultados indicaram que os herbicidas à base de Glufosinato de amônio, Oxyfluorfen, Setoxydim, Glifosato, Diquat e Cletodim não demonstraram seletividade para *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* e *Beauveria bassiana* no teste de antibiograma e meio fundido BDA + herbicida. Assim também, *Beauveria bassiana* mostrou-se sensível à maioria dos herbicidas testados. Com destaque, o herbicida Dicamba foi compatível com todos os biológicos. O teste com agitação constante se destacou como o mais preciso e representativo do que ocorre no campo. Este estudo não apenas avaliou a compatibilidade entre os ativos mencionados, mas também estabeleceu comparações entre os diferentes métodos. As informações obtidas são de extrema relevância para embasar decisões cruciais na prática agrícola, visando promover abordagens sustentáveis e eficazes no manejo de pragas e doenças, ao mesmo tempo em que otimiza a eficiência no uso de defensivos agrícolas. Portanto, este trabalho representa um avanço significativo na compreensão das dinâmicas envolvendo a compatibilidade entre produtos biológicos e químicos, contribuindo para a melhoria da produção agrícola e a promoção da agricultura sustentável.

**Palavras-chave:** Compatibilidade, *Trichoderma spp*, *Bacillus spp*, *Bauveria spp*, Herbicidas, controle biológico.

## ABSTRACT

The growing significance of biological products as complements to chemical pesticides in agriculture has underscored the crucial need to assess the compatibility between these two product categories. This evaluation not only expands the spectrum of pest control but also results in labor savings. In this context, the main objective of this study was to evaluate the compatibility between four biological agents (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, and *Beauveria bassiana*) and 12 widely used herbicides in agriculture, as well as to make comparisons among them. The experiment was conducted at the phytopathology laboratory facilities of the Federal University of Lavras (UFLA). Various methodologies, including antibiogram, exposure time, and incorporation of the chemical agents into BDA (Potato Dextrose Agar) culture media, were employed. The aim was to consider field conditions, ensuring a comprehensive assessment of compatibility between biological and chemical products under study. Compatibility assessment for the latter methodology focused on the vegetative growth indices of fungal colonies, measured daily in BDA medium with the presence of herbicides. Results indicated that herbicides based on Ammonium Glufosinate, Oxyfluorfen, Setoxydim, Glyphosate, Diquat, and Clethodim showed no selectivity for *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, and *Beauveria bassiana* in the antibiogram test and molten BDA + herbicide. Additionally, *Beauveria bassiana* demonstrated sensitivity to most tested herbicides. Notably, Dicamba herbicide exhibited compatibility with all biological agents. The continuous agitation test stood out as the most accurate and representative of field conditions. This study not only assessed compatibility between the mentioned agents but also established comparisons among different methods. The information obtained is of utmost relevance for informing crucial decisions in agricultural practice, aiming to promote sustainable and effective approaches in pest and disease management while optimizing the efficiency of agricultural pesticides. Therefore, this work represents a significant advancement in understanding the dynamics involving compatibility between biological and chemical products, contributing to the improvement of agricultural production and the promotion of sustainable agriculture.

**Keywords:** Compatibility, *Trichoderma spp*, *Bacillus spp*, *Beauveria spp*, Herbicides, biological control.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Descrição dos ingredientes ativos (i.a.) dos herbicidas na concentração declarada no rótulo e dose do produto comercial (p.c.) usada por hectare. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	27
<b>Tabela 1</b> - Descrição dos biológicos na concentração declarada no rótulo e dose do produto comercial (p.c.) usada por hectare. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	27
<b>Tabela 2</b> - Determinação da compatibilidade em função do antibiograma pelos testes BDA e AN associado ao <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>Bauveria Bassiana</i> junto a herbicidas sintéticos. UFLA, Lavras/MG, 2023 .....	32
<b>Tabela 3</b> - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC) de <i>Trichoderma harzianum</i> na presença de diferentes herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	36
<b>Tabela 4</b> - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao <i>Trichoderma harzianum</i> com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	39
<b>Tabela 5</b> - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023. ...	39
<b>Tabela 6</b> - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao <i>Bacillus subtilis</i> com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	39

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1** - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Trichoderma Harzianum* na presença de diferentes herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023**Erro! Indicador não definido.**

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> <i>Trichoderma harzianum</i> .....	14
<b>Figura 2-</b> <i>Bacillus spp.</i> .....	19
<b>Figura 3 -</b> <i>Bauveria bassiana</i> .....	21
<b>Figura 4-</b> 1 – Erlenmeyers ; 2 – Incubadora Shaker; 3 – Tubos falcon ; 4 – Centrifugação ; 5 – Pellets; 6 – Vortex ; 7 – Diluição seriada; 8 – Plaqueamento em quadrantes.....	30
<b>Figura 5 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida chlorimuron ethyl e haloxyfope, respectivamente, apresentando compatibilidade no teste de BDA com <i>Trichoderma harzianum</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023. ....	32
<b>Figura 6 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida diquat respectivamente, apresentando incompatibilidade no teste de BDA com com <i>Trichoderma harzianum</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023.....	33
<b>Figura 7 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida dicamba, respectivamente, apresentando compatibilidade no teste de BDA com <i>Beauveria bassiana</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023.....	33
<b>Figura 8 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida chlorimuron ethyl e haloxifope-p-metílico , respectivamente, apresentando incompatibilidade no teste de BDA com <i>Beauveria bassiana</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023. ....	33
<b>Figura 9 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida setoxidim apresentando incompatibilidade, e do herbicida haloxifope-p-metílico apresentando compatibilidade no teste de AN com <i>Bacillus subtilis</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023. ....	34
<b>Figura 10 -</b> Antibiograma da testemunha e do herbicida glifosato apresentando incompatibilidade, e do herbicida saflufenacil apresentando compatibilidade no teste de AN com <i>B. amyloliquefaciens</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023.....	34
<b>Figura 11 -</b> Crescimento micelial de agentes de biocontrole em meio de cultura batata-dextrose-agar com diferentes herbicidas após 6 dias de incubação. UFLA, Lavras/MG, 2023.....	37
<b>Figura 13 -</b> Tempo de exposição do produto fluazifope e cletodim, apresentando compatibilidade no teste de AN com <i>Bacillus subtilis</i> . UFLA, Lavras/MG, 2023. ....	40

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>12</b>
2.1	Controle Biológico.....	12
2.2	<i>Trichoderma</i> spp. ....	13
2.2.1	Parasitismo .....	15
2.2.2	Antibiose.....	15
2.2.3	Indução de resistência .....	16
2.2.4	Promoção de crescimento.....	17
2.2.5	Competição.....	17
2.3	<i>Bacillus</i> spp.....	18
2.4	<i>Bauveria</i> spp.....	20
2.5	Herbicidas.....	21
2.5.1	Inibidores da EPSPs .....	22
2.5.2	Inibidor da Glutamina Sintetase .....	23
2.5.3	Inibidores da síntese de lipídeos .....	23
2.5.4	Inibidores da síntese de aminoácidos aromáticos .....	24
2.5.5	Inibidores da protoporfirina oxidase (Protox).....	24
2.5.6	Reguladores de crescimento.....	24
2.5.7	Inibidores do fotossistema I .....	25
2.6	Incompatibilidade físico química .....	25
<b>3</b>	<b>Materiais e métodos .....</b>	<b>26</b>
3.1	Antibiograma .....	26
3.2	Pour Plate .....	Erro! Indicador não definido.
3.3	Avaliação da exposição do agente de controle biológico a herbicidas com tempo de exposição de duas horas .....	29

<b>4</b>	<b>Análise de dados .....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1</b>	<b>Antibiograma .....</b>	<b>31</b>
<b>5.2</b>	<b>Pour Plate .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>5.3</b>	<b>Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição.....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A incorporação de agentes biológicos como uma extensão dos defensivos químicos tem ganhado uma significativa relevância na agricultura. Nesse contexto, é crucial desenvolver estratégias de manejo que visem à preservação dos microrganismos de controle biológico nas áreas de cultivo. Isso pode ser alcançado por meio da adoção de defensivos químicos seletivos. Portanto, torna-se de suma importância aprofundar o entendimento e a avaliação da seletividade e compatibilidade desses microrganismos com os produtos fitossanitários. (DECARO et al., 2021).

Com o intuito de implementar medidas voltadas para a economia e aprimoramento das operações no campo, a prática de mistura em tanque se revela como uma solução eficaz para atender a esses objetivos. Esta abordagem tem o potencial de reduzir o número de visitas à área, resultando em uma menor demanda por recursos, como água e combustível. Além disso, ela contribui para minimizar o tempo que os trabalhadores ficam expostos aos produtos fitossanitários, proporcionando benefícios adicionais em termos de segurança e saúde ocupacional (DECARO et al., 2021).

Dentre os diversos benefícios que as combinações de agrotóxicos oferecem, surge uma preocupação relacionada à insegurança na mistura em tanque, que diz respeito às incompatibilidades físicas. No contexto da incompatibilidade física, podem ser identificados vários fatores, tais como a formação de precipitados, floculações, separação de fases, colóides em suspensão e aglomerados. Além disso, a incompatibilidade química pode resultar em prejuízos para o controle do alvo biológico, sendo que esses efeitos podem não se manifestar imediatamente, mas sim surgir alguns dias após a aplicação, levando à ineficácia do controle. (DECARO et al., 2021).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a compatibilidade entre 12 herbicidas amplamente empregados na agricultura e os agentes biológicos contendo *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Beauveria bassiana* e *Trichoderma harzianum*, utilizando diversas abordagens metodológicas.

# 1 REFERENCIAL TEÓRICO

## 1.1 Controle Biológico

Controle biológico de doenças confere a ação isolada ou em conjunto de organismos, agindo na redução de inóculos ou das atividades propícias a formação da doença por um patógeno, podendo ser realizada de forma natural ou por manipulação do ambiente, do hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução massal dos mesmos (Backer e Cook, 1983).

A utilização de microrganismos com ação de biocontrole e/ou promoção de crescimento tem sido apontada como uma alternativa viável para sistemas de produção agrícola que buscam a ecologia e a sustentabilidade econômica (COMPANT et al., 2005; SOUSA; SOARES; GARRIDO, 2009). Além disso, o controle biológico por meio de antagonistas tem se revelado uma solução eficaz para o manejo de diversas doenças que historicamente têm sido desafiadoras de controlar (MOURA; ROMEIRO; NEVES, 1998).

Segundo Grigoletti Junior, Santos e Auer (2000), o controle biológico tem como objetivo principal a manutenção de um equilíbrio no agroecossistema por meio de práticas que minimizem os danos causados pelo patógeno ao hospedeiro. Isso ocorre devido à influência exercida pelos organismos não patogênicos presentes no sistema. Diversos mecanismos são responsáveis por essa ação controladora, incluindo a produção de substâncias como ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, a competição por recursos como espaço e nutrientes, o parasitismo, a indução de resistência e a proteção mútua (Mariano et al., 2004).

De acordo com Bettioli e Ghini (1995), Grigoletti, Santos e Auer (2000), e Agrios (2005), os agentes de biocontrole desempenham suas funções através de uma variedade de mecanismos de ação, fundamentados em relações antagônicas, tais como competição, antibiose, predação, amensalismo, parasitismo e resistência induzida. É importante ressaltar que um antagonista eficaz é aquele que incorpora múltiplos desses mecanismos, uma vez que isso aumenta as chances de sucesso no controle biológico.

Além disso, Spadaro e Gullino (2004) e Medeiros et al. (2012) definem os atributos essenciais para um agente de biocontrole eficaz, destacando a necessidade de eficácia em concentrações reduzidas, uma ampla gama de ação, estabilidade genética, ausência de patogenicidade para a planta hospedeira, capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas, requisitos nutricionais simples e a ausência de produção de metabólitos potencialmente prejudiciais para os seres humanos.

Nesse contexto, os microrganismos possuem a propriedade de conferir proteção às plantas, seja por meio de sua presença natural nas plantas hospedeiras, seja pela aplicação deliberada como agentes de biocontrole, os quais têm o potencial de eliminar pragas agrícolas (SOUZA, 2001).

Apesar do aumento no uso de produtos biológicos na agricultura, ainda é comum a necessidade de empregar insumos sintéticos no controle fitossanitário das lavouras. A combinação desses produtos biológicos com os sintéticos tem suscitado preocupações entre os produtores, principalmente devido à falta de informações técnicas abrangentes sobre essas associações (KAVAMURA, 2013).

## 1.2 *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* pertence à classe Sordariomycetes do filo Ascomycota e, portanto, nas espécies onde a fase sexuada é conhecida, esta é caracterizada pela formação de corpos de frutificação do tipo peritécio, formados em estromas de coloração verde, amarelada, creme ou marrom, produzidos sobre o substrato colonizado. Nos peritécios são formados ascos cilíndricos contendo oito ascósporos bicelulares, que se fragmentam em 16 esporos esverdeados ou hialinos (JAKLITSCH, 2009). Na fase assexuada de desenvolvimento, a partir do micélio vegetativo, são gerados conidióforos que apresentam um eixo central com ramificações laterais. Estas ramificações culminam em espirais de células conidiogênicas do tipo fiálide, que podem ter formatos alongados. Os conídios unicelulares, que geralmente têm uma coloração verde na maioria das espécies, são produzidos na extremidade das fiálide. É comum encontrar os conidióforos agrupados em pústulas ou aglomerados dispersos por toda a colônia (JAKLITSCH, 2009, 2011; JAKLITSCH; VOGLMAY, 2015).



**Figura 1-** *Trichoderma harzianum*

Fonte: Do autor (2023)

Isolados de espécies como *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum* e *T. virens*, que possuem uma ampla distribuição no solo e a capacidade de hiperparasitar fungos fitopatogênicos e/ou estabelecer interações benéficas na rizosfera de plantas cultivadas, têm sido empregados no tratamento de sementes ou aplicados em áreas extensas de cultivo para fins de controle biológico de doenças de plantas e promoção do crescimento vegetal (WOO et al., 2014).

O Brasil se destaca na pesquisa e utilização comercial de *Trichoderma* como uma ferramenta biológica para o manejo de doenças e o aumento da produtividade agrícola (CARVALHO et al., 2014; LOPES et al., 2012; POMELA; RIBEIRO, 2009). No entanto, o sucesso da utilização de *Trichoderma* no controle biológico depende de fatores como a sobrevivência do fungo no ambiente introduzido, o sistema de cultivo adotado, o momento adequado, a dosagem e o número de aplicações, bem como a compatibilidade com outras práticas culturais, a fim de alcançar resultados positivos (Silva et al., 2010). As interações microbianas podem apresentar caráter neutro, benéfico ou detrimental, sendo que essas interações determinam o equilíbrio ecológico entre determinados microrganismos em um habitat (HENIS; CHET, 1975; BETTIOL, 1991).

As interações envolvidas no controle biológico de fitopatógenos são determinadas pelos mecanismos que o agente de controle desenvolve para atuar como antagonista. Os mecanismos

de ação utilizados por *Trichoderma* spp. para o biocontrole de fitopatógenos baseiam-se na competência rizosférica, através da competição por nutrientes e espaço, na antibiose através da produção de antibióticos, no parasitismo ou hiperparasitismo através da produção de enzimas líticas da parede celular e indução de resistência. Além disso, esse agente de biocontrole tem a capacidade de promover o crescimento de plantas através de disponibilização de nutrientes, produção de fatores de crescimento, dentre outros (PAPAVIZAS, 1985; MELO, 1991; HARMAN, 2000; YEDIDIA *et al.*, 2000; HOWELL, 2003; POMELLA; RIBEIRO, 2009).

### 1.2.1 Parasitismo

A capacidade de parasitar fungos é uma das características mais marcantes e relevantes dos fungos do gênero *trichoderma*. Todas as espécies de *trichoderma* se comportam de maneira eficaz, em maior ou menor escala, como parasitas de fitopatógenos e de oomicetos, seguindo uma estratégia de nutrição biotrófica, segundo estudos ecofisiológicos (DRUZHININA *et al.*, 2018). Diante do contexto de alimentação das espécies, o termo micotrofia poderia resultar na melhor denominação para o estilo de vida das espécies de *trichoderma*. Estudos de genômica comparada entre essas espécies, perceberam que há uma predisposição genética voltada para a micotrofia (Kubicek *et al.*, 2011).

O parasitismo resulta na redução dos meios de perpetuação dos patógenos, incidindo sobre as estruturas vegetativas, reprodutivas e de sobrevivências, além de, diminuir as fontes de inculo e progresso da infecção. Dessa maneira, a penetração do micoparásita pode ocorrer de duas formas: pressão mecânica e/ou por produção de enzimas degradadoras da parede celular (ELAD; CHET; HENIS, 1982; SIVAN; CHET, 1982; BETTIOL, 1991; BENÍTEZ *et al.*, 2004). O hiperparasitismo por exemplo, confere uma relação direta, pelo qual o *trichoderma spp.*, por estímulos químicos liberados por estruturas do patógeno, se enrola fortemente por todo corpo do patógeno, penetrando e digerindo seu conteúdo (CONSOLO *et al.* 2012; MACHADO *et al.* 2012), porém, o processo de infecção não se resume primordialmente a penetração, pois apenas o contato entre o agente biológico e o patógeno, permite a sinalização para produção de enzimas, as quais vão causar alteração dos componentes da membrana e morte das células do fungo hospedeiro.

### 1.2.2 Antibiose

Outro mecanismo importante é a antibiose, caracterizada pela produção de compostos microbianos vindos do metabolismo secundário de defesa, exercendo um papel importante como biocontrole direto contra fungos fitopatogênicos. Espécies de trichoderma são ótimas produtoras de metabolitos secundários, incluindo substâncias voláteis e não voláteis. (STADNIK & BETTIOL 2000; MELLO et al. 2020). Tais compostos atuam interrompendo o crescimento ou a germinação (DENNIS; WEBSTER, 1971; BETTIOL, 1991; BENÍTEZ *et al.*, 2004). Destaca-se alguns metabólicos não voláteis produzidos pelo trichoderma: ácido harzianico, alameticinas, tricholinas, peptaibol, 6-pentil-2H-piran-2-ona, massoilactona, viridina, gliovirina, glisopreninas, ácido heptelídico, dentre outros (HARMAN, 2000; BENÍTEZ *et al.*, 2004).

Diante disso, possuem uma grande diversidade de compostos em seu sistema de defesa, conferindo uma das fontes de maior diversidade metabólica do reino fungi, com milhares de compostos alocados em mais de 120 estruturas moleculares, resultando em maior variedade e potencial aplicabilidade (HOWELL, 1998; HERMOSA *et al.*, 2014).

### 1.2.3 Indução de resistência

Quando a planta se encontra na presença do patógeno, ocorre a ativação de seus mecanismos de defesa como resposta, denominado também como indução de resistência. Esse mecanismo de controle biológico indireto pode ocorrer de duas formas: tanto como resistência sistêmica adquirida (RSA) e como resistência sistêmica induzida (RSI). A reação da RSA acontece por um acúmulo de ácido salicílico produzido diante do processo de infecção, o qual leva a expressão de proteínas ligadas a patogênese. Já a segunda ocorre entre planta – microrganismo não patogênicos, mediada pela produção de ácido jasmônico e/ou etileno, normalmente induzida por microrganismos e/ou insetos, no caso de microrganismos, a maioria dos indutores são bactérias e fungos não patogênicos, a exemplo do *Trichoderma* (CHOUDHARY et al. 2007; MELLO et al. 2020).

A ativação dos mecanismos de defesa em plantas é desencadeada pela indução da produção de várias substâncias, incluindo fitoalexinas, lignina, quitinases, glucanases e compostos fenólicos (ROMEIRO, 2007; BARROS et al., 2010; NAWROCKA et al., 2018). Segundo Harman et al. (2004b) e Romeiro (2007), os fungos do gênero *Trichoderma* têm a capacidade de sintetizar eliciadores de resistência, tais como serinoproteinases, xilanases, glucanases, peroxidases e glucanases.

#### 1.2.4 Promoção de crescimento

Além dos aspectos mencionados anteriormente, certas linhagens de trichoderma ao se fixarem na rizosfera podem influenciar estímulos de crescimento das plantas (GONZÁLEZ & FUENTES 2017; JALALI et al. 2017). Esse crescimento vem sendo correlacionado a maior eficiência de uso, e a pronta disponibilidade e absorção de nutrientes (MACHADO et al. 2012; CHEN et al. 2016; ESTRADA- -RIVERA et al. 2019). Em estudos realizados, foi verificado um aumento da promoção de clorofila nas folhas com aplicação de trichoderma harzianum, onde o pigmento se encontra diretamente ligado com a produção de biomassa.

Ozdemir et al. (2016) nos diz que a aplicação *T. harzianum* em plantas de alface promove maior teor de clorofila nas folhas, um importante pigmento fotossintético que está relacionado diretamente com a produção de biomassa. Além disso, o tratamento com *T. harzianum* foi capaz de proporcionar maior tempo de prateleira, durante a comercialização do produto.

Zeng et al. (2012) demonstraram o potencial do uso de *T. harzianum* no controle do mofo-branco (*S. sclerotiorum*) na cultura da soja. De acordo com esses pesquisadores, foi observada uma diminuição significativa na severidade da doença, com uma redução de 43,1%, além de uma redução de 38,5% na produção de escleródios pelo patógeno.

#### 1.2.5 Competição

O mecanismo de competição pode ser compreendido como a interação entre dois ou mais organismos que disputam o mesmo recurso ou requerimento. Nesse contexto, quando um desses organismos utiliza o recurso, a quantidade disponível diminui para os outros. Esses requerimentos ou recursos incluem nutrientes, oxigênio, espaço físico, luz, água e outros elementos essenciais que, no ambiente, podem estar em quantidade limitada em relação à demanda biológica. É importante destacar que a escassez de nutrientes é uma das causas mais frequentes para a mortalidade de microrganismos. Portanto, a competição por nutrientes emerge como uma característica fundamental no contexto do controle biológico de fitopatógenos (CHET; INBAR; HADAR, 1997; BETTIOL; GHINI, 2005; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

A defesa das plantas consiste na construção de um ambiente com condições adversas para o patógeno, tal fato pode ser verificado na produção de espécies reativas de oxigênio

(ROS) que geram um estresse oxidativo, inviabilizando o acesso dos fitopatógenos ao tecido vegetal. Algumas cepas de trichoderma possuem a capacidade de competir nesse meio oxidativo, estando em exposição de ROS que demais fungos não suportariam (MORÁN-DIEZ et al., 2010). A produção de sideróforos também confere uma medida de sobrevivência e, ainda corrobora para sua competição em baixos níveis de ferro (MUKHERJEE et al., 2012). Além disso, através de uma relação simbiótica, o agente de biocontrole implanta mecanismos antioxidantes e dessa forma inicia-se um processo de indução na raiz e na parte aérea da planta, permitindo uma diminuição das espécies reativas de oxigênio prejudiciais as plantas (MASTOURI et al., 2012).

Dessa forma, espera-se que o agente de biocontrole se desenvolva mais que o patógeno presente no local de infecção, se sobressaindo na competição. Portanto, um antagonista capaz de produzir metabolitos da rota de defesa possui vantagens no processo de competição. (BETTIOL; GHINI, 2005).

### 1.3 *Bacillus* spp.

A primeira bactéria a ser documentada na literatura foi identificada como a espécie *Vibrio subtilis* por Ehrenberg em 1835. Posteriormente, em 1872, Corn renomeou essa mesma espécie, atribuindo-lhe o nome *Bacillus subtilis* (GORDON, 1981). A partir desse momento, *Bacillus subtilis* passou a ser reconhecido como a espécie-tipo de um gênero amplo e extremamente diversificado, pertencente à família Bacillaceae (SLEPECKY & HEMPHILL, 2006).

Uma característica distintiva da família Bacillaceae é a capacidade de produzir endósporos, que podem assumir formas circulares, ovaladas (elipsoides) ou cilíndricas. Esses endósporos exibem um alto índice de refração quando expostos à luz e são formados internamente nas células bacterianas. A descrição inicial dos endósporos foi realizada por Cohn na espécie *B. subtilis*. Posteriormente, Koch descreveu essas estruturas novamente, desta vez na espécie *B. anthracis*, que é a única espécie no gênero com relevância para vertebrados. Cohn demonstrou a notável resistência dos endósporos ao calor, enquanto Koch foi pioneiro na descrição do ciclo de formação dos endósporos dentro de uma célula bacteriana e no subsequente desenvolvimento de uma nova célula a partir do endósporo formado (KEYNAN & SANDLER, 1983).



**Figura 2-** *Bacillus spp.*

Fonte: Do autor (2023)

Algumas características foram de suma importância para diferenciação do gênero, sendo como ponto inicial a produção de endósporo. Assim também, a natureza aeróbica estrita ou facultativa, o formato baciliforme e a produção de catalase, também constituem uma característica essencial para a denominação do gênero. Atualmente, o mesmo é constituído por 145 espécies (GORDON, 1981).

Possuem uma característica de serem endofíticas, onde segundo kado (1992), são aquelas que vivem na planta sem prejudicar a mesma. Tem-se muitos microrganismos em associação endolítica com plantas, porém, as bactérias são os casos mais frequentes. (ROMEIRO, 2007).

Assim como o agente fúngico de biocontrole descrito anteriormente, as bactérias do gênero bacillus também possuem mecanismos de ação na atuação contra fitopatógenos ou em uma relação de indução de resistência. A partir da utilização de cepas de *bacillus subtilis* por exemplo, é possível verificar a promoção de crescimento e controle biológico (HAMMAMI et al., 2009). A ação da bactéria pode se dar tanto direta como indiretamente em relação ao seu antagonismo (RYU et al., 2004; ONGENA et al., 2007; LEELASUPHAKUL, 2008). Quando existe um efeito direto sobre os fitopatógenos, há a presença em conjunto ou isoladamente da antibiose, competição por espaço e nutrientes, como também pela produção de compostos nocivos ao alvo a ser controlado (LANNA FILHO et al., 2010).

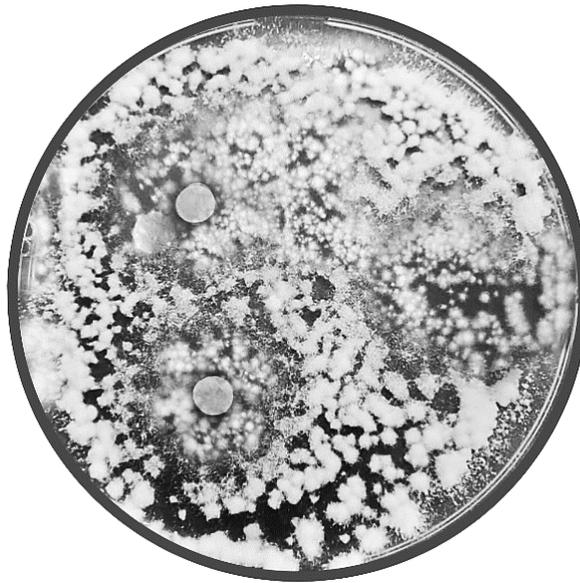
Dessa maneira, o uso de produtos à base de *Bacillus*, se torna uma grande ferramenta para o manejo de doenças, devido as múltiplas maneiras que espécies desse gênero tem de interagir e interferir o organismo alvo.

#### 1.4 *Bauveria spp.*

O gênero *Beauveria*, estabelecido por Vuillemin em 1912, recebeu seu nome em homenagem a Beauverie, um proeminente entomologista francês da época. Esse fungo foi originalmente identificado como o agente causador da doença muscardine branca em *Bombyx mori*, o bicho-da-seda. A descoberta de que essa doença era atribuída a um fungo foi inicialmente feita por Agostinho Bassi. Embora Bassi não fosse um especialista em micologia, ele enviou a cultura do fungo para Balsamo, na Itália, que o classificou no gênero *Botrytis*, nomeando-o como *Botrytis bassiana*. No entanto, ao longo do tempo, estudos subsequentes revelaram que as características desse fungo não se enquadravam no gênero *Botrytis*.

Assim, em 1912, Vuillemin reexaminou o fungo e o renomeou como *Beauveria bassiana*, nome que permanece em uso até os dias atuais. Além de *B. bassiana*, outras três espécies foram consideradas para o gênero: *B. effusa* (anteriormente *Beauverie*), *B. densa* (anteriormente Link) e *B. globulifera* (anteriormente Spegazzini) (BENHAM & MIRANDA, 1953).

*B. bassiana* é caracterizado por apresentar um filamento micelial de cor branca, com formato cilíndrico de 3,5 µm de diâmetro, hialino e septado. Seus conidióforos podem ser simples ou ramificados, produzindo conídios ovóides. A célula conidiogênica possui uma forma de garrafa com uma terminação em zigue-zague, variando de 1,5 a 5 µm de tamanho, e os conídios são globosos, com diâmetro de 0,5 a 1 µm (MACLEOD, 1954).



**Figura 3** - *Beauveria bassiana*

Fonte: Do autor (2023)

O ciclo biológico de *B. bassiana* pode ser dividido em duas fases distintas: a fase sapróbia e a fase parasitária. Na fase sapróbia, os conídios germinam, formando tubos germinativos e, subsequentemente, micélio com hifas hialinas e septadas. Os conidióforos, simples ou ramificados, produzem os conídios, e o ciclo se repete (ALVES, 1998).

A fase parasitária inicia com a penetração na cutícula do inseto, ocorrendo aproximadamente 12 horas após o contato. Diferentes estudos relatam a penetração do fungo através do sistema alimentar ou respiratório do hospedeiro. Durante a infecção, em alguns casos, foram observadas estruturas semelhantes aos apressórios. Após a penetração, o micélio atinge a hemolinfa do inseto, onde se formam estruturas leveduriformes. O micélio, gradualmente, invade os tecidos do hospedeiro. Após a colonização, hifas emergem para produzir conidióforos e conídios, que são liberados no ambiente. A morte do inseto marca o fim da fase parasitária do fungo (FERRON, 1978).

## 1.5 Herbicidas

Uma das mais importantes tecnologias ligadas ao aumento de produtividade nas mais diversas culturas é o uso de herbicidas, o qual, cada vez mais vem sendo consolidada a sua utilização no sistema de produção (FERREIRA; VEGRO, 2006).

A utilização de herbicidas pode prevenir a interferência das plantas daninhas principalmente no início do ciclo, período durante o qual normalmente são causadas as maiores perdas nas culturas. O uso dos herbicidas proporciona um controle efetivo nas linhas de plantio, onde muitas vezes outros métodos de controle não têm a mesma eficiência. Apresentando grande rendimento operacional, o controle químico de plantas daninhas demanda pequena quantidade de mão de obra quando comparado a outros métodos de controle (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Portanto, o uso deste defensivo químico tem se mostrado um aliado importante na prevenção da interferência de plantas daninhas ao longo de todo o ciclo da cultura. Especialmente no início desse ciclo, quando as perdas podem ser mais significativas, sua utilização se torna crucial. Além disso, o herbicida demonstra uma efetividade de controle superior em comparação a outros métodos, atendendo de maneira mais eficaz a essa necessidade (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Para que de fato um herbicida seja efetivo, o mesmo precisa conter características tal como uma atividade biológica forte perante a planta a ser controlada. Porém, tem-se certas consequências atreladas a seu uso, gerando um efeito antagônico, como por exemplo, em fungos micorrizicos (EL-SHANSHOURY et al., 1995). Portanto, além do reflexo positivo em plantas daninhas, o reflexo em fungos e bactérias antagonistas também é presente no sistema de produção, uma vez que pode possibilitar maior desenvolvimento de outros diversos fitopatógenos (ROSA et al., 2010; PEIXOTO et al., 2010).

Estudos demonstram que os herbicidas também tem a capacidade de comprometer a viabilidade de outros organismos não alvo, com o aumento ou não da severidade de doenças, pois no metabolismo vegetal ocorre alterações fisiológicas e metabólicas devido a presença das moléculas dos ativos químicos. Essa relação, pode ativar as rotas de defesa das plantas, induzindo uma maior ou menor produção de compostos secundários, como por exemplo, as fitoalexinas, associada diretamente com a prevenção do processo de infecção causado por diversos patógenos (DUKE; CERDEIRA; MATALLO, 2006).

### **1.5.1 Inibidores da EPSPs**

O representante desse grupo é o glifosato, sendo um herbicida não seletivo de pós emergência. A enzima enolpiruvil-shikimato-fosfato (EPSP) sintetase atua como precursor na síntese de aminoácidos aromáticos, tais como tirosina, triptofano e fenilalanina, onde os mesmos possuem funções essenciais nas plantas (STEPHENSON et al.; 2006). Dessa forma, quando há

o bloqueio dessa enzima, um acúmulo de shikimato é formado, resultando na não produção de proteínas necessários ao metabolismo da planta. Tais proteínas são responsáveis também pela formação de compostos secundários essenciais, como hormônios e flavonoides (ROSS; CHILDS, 1996).

Os sintomas se desenvolvem vagarosamente, onde pode ser visualizada os sintomas de injúria e nanismo, amarelecimento da folhagem a partir do terceiro ao quinto dia (VIDAL, 1997).

### **1.5.2 Inibidor da Glutamina Sintetase**

O glufosinato é o único herbicida que inibe a enzima glutamina sintetase, o mesmo vem de uma versão sintética de fosfonotricina, produto da degradação produzido pela *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygroscopicus* (HESS, 2000). Essa enzima é responsável por desempenhar funções muito importantes dentro do metabolismo vegetal, proporcionando a assimilação de amônio (CARNEIRO et al.; 2006), a síntese de aminoácidos, fotorrespiração bem como a manutenção da atividade da ribulose -1, 5-bifosfato carboxilase (Rubisco), enzima que atua diretamente na fixação de carbono (DUKE; CERDEIRA; MATALLO, 2006). Dessa forma, com a inibição da enzima glutamina sintetase, ocorre um acúmulo de amônio no interior das células, e, isso reflete na morte da planta (CARNEIRO et al.; 2006).

### **1.5.3 Inibidores da síntese de lipídeos**

Os lipídeos constituem um importante componente da membrana celular, como a produção de ceras (ZIMDAHL, 1999). A biossíntese de lipídeos ocorre, majoritariamente, nos meristemas das raízes e meristema apical, onde a todo momento novas células estão sendo formadas. A enzima Acetil-CoA carboxilase (ACCase) é responsável pela produção de Malonil CoA e acetil CoA, sendo componentes importantes de fosfolipídeos e triacilglicerídeos formadores de dupla camada lipídica, atuando assim, como membrana celular. Dessa forma, com a paralisação da produção da enzima, não há mais a formação de novas membranas celulares, e conseqüentemente, nova formação celular (ROSS; CHILDS, 1996).

Os herbicidas desse grupo, são pós emergentes, e controlam gramíneas em culturas de folhas largas, possuindo assim, seletividade para folhas largas (PETERSON et al.; 2001). Alguns desses herbicidas são: Fluazifope, Quizalofop, Cletodim.

#### **1.5.4 Inibidores da síntese de aminoácidos aromáticos**

A enzima acetolactato sintase (ALS) participa da formação de três aminoácidos, sendo eles, leucina, valina e isoleucina. Os herbicidas desse mecanismo de ação, atuam inibindo a ação dessa enzima, e assim, não há a síntese dos aminoácidos mencionados (VIDAL, 1997; ZHOU et al., 2007). São pós emergentes e podem atuar no solo em baixas taxas (VIDAL, 1997). Os sintomas resultam em nanismo, amarelecimento das pontas, assim também como pigmentos em folhas largas, como bandas cloróticas em gramíneas, além de nervuras vermelhas e clorose internerval (ROSS; CHILDS, 1996). ). Alguns desses herbicidas são: Metsulfuron, Imazaquin, Cloransulam.

#### **1.5.5 Inibidores da protoporfirina oxidase (Protox)**

A protox é uma enzima muito importante presente nos cloroplastos das plantas, atua na formação do protoporfirogeio para produzir a protoporfirina IX, o qual é precursor da clorofila. Quando se tem a inibição dessa enzima, ocorre o bloqueio da produção de clorofila e heme (MARKWELL et al., 2006). Dessa forma, há um aumento de protoporfirinogenio no cloroplasto, sendo assim, o mesmo se difunde para o citoplasma, ocorrendo uma oxidação não enzimática para formação de protoporfirina IX, havendo a produção de espécies reativas de oxigênio. Esse processo resulta na peroxidação de lipídeos nas membranas celulares, e assim, ocorre o rompimento das membranas (VIDAL, 1997; HESS, 2000; OLIVEIRA JUNIOR; COSTANTIN, 2001).

Controlam folhas largas, e os sintomas são demonstrados a partir do branqueamento e clorose, murchamento e necrose em até dois dias após a aplicação (VIDAL, 1997). Alguns desses herbicidas são: Lactofen, fomesafem, Sulfentrazone, Flumiclorac.

#### **1.5.6 Reguladores de crescimento**

Os herbicidas do grupo fenóxi, ácido benzóico e carboxílico, atuam como reguladores de crescimento. Em baixas taxas atuam com propriedades hormonais similares a auxínia natural, porém, em taxas maiores, causam anormalidades em folhas largas sensíveis (KELLEY; RIECHERS, 2007). Os herbicidas reguladores de crescimento possuem múltiplos sítios de ação,

e, assim, causam uma grande variedade de sintomas de injúrias. Alguns desses herbicidas são: 2,4-D, Dicamba, Picloram, Triclopyr.

### **1.5.7 Inibidores do fotossistema I**

Os herbicidas pertencentes aos inibidores do fotossistema I, são relativamente não seletivos, usados como dessecantes aplicados em pré colheita. Atuam como aceptores de eletros no fotossistema I, interrompendo o curso normal da reação fotoquímica, assim, quando os ativos químicos dos herbicidas se apoderam desses elétrons e se reduzem, possibilitam a formação do oxigênio molecular, formando o anion superóxido, que é altamente reativo. (MARKWELL et al., 2006). Os sintomas são vistos em poucas horas, resultado da degradação das membranas, onde as áreas afetadas se tornam necróticas pela dessecação dos tecidos (HESS, 2000). Os herbicidas representantes são: Paraquat e Diquat.

## **1.6 Compatibilidade entre ativos biológicos e defensivos químicos**

A utilização de biológicos como complemento aos defensivos químicos vem ganhando um espaço grandioso na agricultura. Tendo em vista tal fato, torna-se necessário estabelecer estratégias no manejo para a conservação dos microrganismos de controle biológicos na área de cultivo, onde a mesma pode ser feita através da utilização de defensivos químicos seletivos. Dessa forma, é de suma importância conhecer e determinar a seletividade e compatibilidade sobre os microrganismos em relação aos produtos fitossanitários (DECARO et al., 2021).

Visando adotar estratégias que visem a economia e otimização das operações realizadas no campo, a mistura em taque permite ser uma solução viável para tais propósitos, reduzindo por exemplo, o número de entradas na área, e conseqüentemente, refletindo em menor consumo de recursos como água, combustível bem como no tempo de exposição do trabalhador aos produtos fitossanitários. (DECARO et al., 2021).

Contudo, a incompatibilidade química entre os produtos presentes na mistura pode acarretar uma série de complicações durante a aplicação, resultando na redução da qualidade da pulverização. Isso, por sua vez, pode levar a uma diminuição na quantidade de produto que é efetivamente absorvido ou aderido às superfícies das folhas e órgãos da planta. É relevante salientar que, em muitos casos, é difícil identificar a incompatibilidade química da mistura no

momento da preparação no tanque, uma vez que certos efeitos adversos só se tornam evidentes na própria planta .(WHITFORD et al. 2018).

Assim, é fundamental realizar estudos que abordem tanto os parâmetros fisiológicos quanto os ambientais, a fim de determinar as condições ideais para promover o crescimento eficaz dos agentes de biocontrole. Isso, por sua vez, desempenha um papel significativo na melhoria da capacidade desses agentes em combater efetivamente os fitopatógenos em ambientes de campo (HAJIEGHRARI et al. 2008).

Segundo Moino Júnior e Alves (1998), a pesquisa *in vitro* apresenta a vantagem de proporcionar uma exposição mais intensa do microrganismo aos efeitos do produto químico, um cenário que não é facilmente reproduzido nas condições de campo. Isso ocorre devido à presença de diversos fatores em campo que atuam como barreiras à exposição, fornecendo proteção ao agente biológico. Portanto, ao verificar a inocuidade de um agrotóxico em ambiente de laboratório, pode-se ter um alto grau de confiança quanto à sua seletividade em situações de campo. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo principal avaliar a compatibilidade entre quatro ativos biológicos (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *Beauveria bassiana*) e 12 herbicidas amplamente utilizados na agricultura.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em duas instalações da Universidade Federal de Lavras: o LABPPD (Laboratório de Biotecnologia, Proteção de Plantas e Daninhas), no Departamento de Agricultura, e o Laboratório de Fitopatologia, no Departamento de Fitopatologia. Para avaliar a sensibilidade dos produtos biológicos aos herbicidas, foram empregadas as seguintes metodologias:

### **2.1 Antibiograma**

Os tratamentos foram dispostos por 12 herbicidas, associados com biofungicidas a base de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *Beauveria bassiana* com 4 repetições por tratamento. Para todas as metodologias foram utilizadas as doses descritas na Tabela 1. Para as metodologias envolvendo crescimento de colônia, foi usado somente *Trichoderma harzianum*.

O presente experimento como os demais posteriores, seguiram um delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições por tratamento.

**Tabela 1** - Descrição dos ingredientes ativos (i.a.) dos herbicidas na concentração declarada no rótulo e dose do produto comercial (p.c.) usada por hectare. UFLA, Lavras/MG, 2023.

Produto comercial	Herbicidas	Concentração do i.a	Dose
Finale	Glufosinato de amonio	200 g/L	2,5 L/ha
Glifosato Nortox WG	Glifosato Sal de Amônia	480 g/L	0,2 L/ha
Heat	Saflufenacil	700 g/kg	250 L/ha
Atectra	Dicamba	480 g/L	1,5 L/ha
Bleran	Diquat	200 g/L	1,5 L/ha
Pacto	Cloransulam - metílico	840 g/kg	250 L/ha
Classic	Clorimuron etílico	250 g/kg	70 L/ha
Verdict	Haloxifope-R- metílico	120 g/L	0,5 L/ha
Select	Cletodim	240 g/L	0,4 L/ha
Goal	Oxifluorfem	240 g/L	2,5 L/ha
Poast	Setoxidim	184 g/L	1,25 L/ha
Fusilade	Fluasifope - p -Butílico	250 g/L	0,75 L/ha

Fonte: Rótulo do produto (2023).

**Tabela 2** - Descrição dos biológicos na concentração declarada no rótulo e dose do produto comercial (p.c.) usada por hectare. UFLA, Lavras/MG, 2023.

Produto comercial	Biológicos	Concentração Declarada	Dose p.c
Ecotrich WP	<i>T. harzianum</i> (IBLF 006)	1 x 10 <sup>10</sup> UFC/g	200 g ha
Quartzo	<i>B. Subtilis</i> (FMCH002(DSM32155))	1,0 x 10 <sup>11</sup> UFC/g	200 g ha
Twixx	<i>B. amyloliquefaciens</i> SIMBI BS 10 (CCT 7600)	5 x 10 <sup>9</sup> UFC/mL	1 L/ha
Auin	<i>B. bassiana</i> (CBMAI 1306)	1,5 x 10 <sup>9</sup> UFC/mL	0,65 L/ha

Fonte: Rótulo do produto (2023).

Os produtos químicos listados na Tabela 1, de acordo com a metodologia do antibiograma, foram colocados em tubos Falcon em uma câmara de fluxo laminar. Neles, foram imersos cerca de 3 discos de papel filtro de 5 mm. Simultaneamente, uma solução estoque de 100 ml contendo apenas o produto biológico foi preparada em um Erlenmeyer para posterior disposição nas placas de AN e nas placas de BDA. Foi feito a aplicação com pipeta de 100 µl

e posterior espalhamento com a alça de Drigalski. Assim, as placas foram deixadas secar por aproximadamente 5 minutos.

Em seguida, com o auxílio de uma pinça autoclavada e previamente aquecida, os discos de papel foram removidos da solução dos produtos químicos dentro do tubo Falcon. Estes discos foram então dispostos nas placas, com três discos equidistantes um do outro. Para o grupo de controle, os meios de cultura com os produtos biológicos foram utilizados juntamente com discos de papel que foram mergulhados apenas em água. Após a conclusão deste processo, todas as placas foram lacradas com plástico filme e transferidas para a câmara de crescimento (BOD).

A avaliação foi conduzida em dois momentos distintos: após 48 horas para os produtos à base de bactérias e aproximadamente entre cinco e seis dias após a incubação para os produtos à base de fungos. A análise dos resultados concentrou-se na presença ou ausência de halos ao redor dos discos, os quais indicam a inibição do crescimento vegetativo do biológico na placa.

Quando halos foram formados, os produtos foram considerados incompatíveis com o biológico. Por outro lado, a ausência de halos ou a presença de halos com tamanhos inferiores levaram à classificação das placas como compatíveis ou moderadamente compatíveis com os biológicos.

## **2.2 Exposição constante em meio BDA junto a herbicidas**

Nesta metodologia, procedeu-se da seguinte maneira: o volume de pulverização recomendado para a dose de herbicidas por hectare foi adicionado a 70 mL de meio de cultura BDA. Em seguida, 15 mL dessa mistura, que consiste no meio de cultura com o herbicida, foi alocada em placas de Petri. Após a solidificação do meio de cultura, 20 µL da solução fúngica contendo *Trichoderma spp.* foi cuidadosamente depositado no centro de cada placa, utilizando uma pipeta automática. As placas foram devidamente vedadas com filme plástico e armazenadas em B.O.D. com condições controladas. Vale ressaltar que o tratamento de controle consistiu apenas no meio de cultura BDA, sem a inclusão do herbicida, enquanto o inoculante biológico também foi introduzido conforme mencionado anteriormente. A dose de herbicida aplicada seguiu as especificações contidas na Tabela 1.

O produto biológico à base de *T. harzianum* foi submetido a uma avaliação que considerou o crescimento micelial e a inibição desse crescimento quando comparado com o tratamento de controle. A mensuração do crescimento micelial envolveu a medição dos diâmetros horizontal e vertical. Essas medidas foram registradas a cada 24 horas, continuando

até que o tratamento de controle tivesse se espalhado completamente pela superfície da placa de Petri. Esses dados forneceram a base para o cálculo do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), conforme a fórmula estabelecida por Oliveira (1991) (Equação 1). Com base nos resultados obtidos a partir do crescimento micelial, também foi possível calcular a Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM) em comparação com o tratamento de controle, seguindo a metodologia proposta por Bastos (1997) (Equação 2).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições por tratamento.

$$IVCM = \frac{\sum(D - D_a)}{N} \quad (1)$$

Sendo:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial

D = diâmetro médio atual da colônia

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior

N = número de dias após a inoculação

$$PICM = \left( \frac{\varnothing \text{ da testemunha} - \varnothing \text{ do tratamento}}{\varnothing \text{ da testemunha}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Sendo:

PICM = Porcentagem de inibição do crescimento micelial

$\varnothing$  = diâmetro médio da colônia

### **2.3 Avaliação da exposição do agente de controle biológico a herbicidas com tempo de exposição de duas horas**

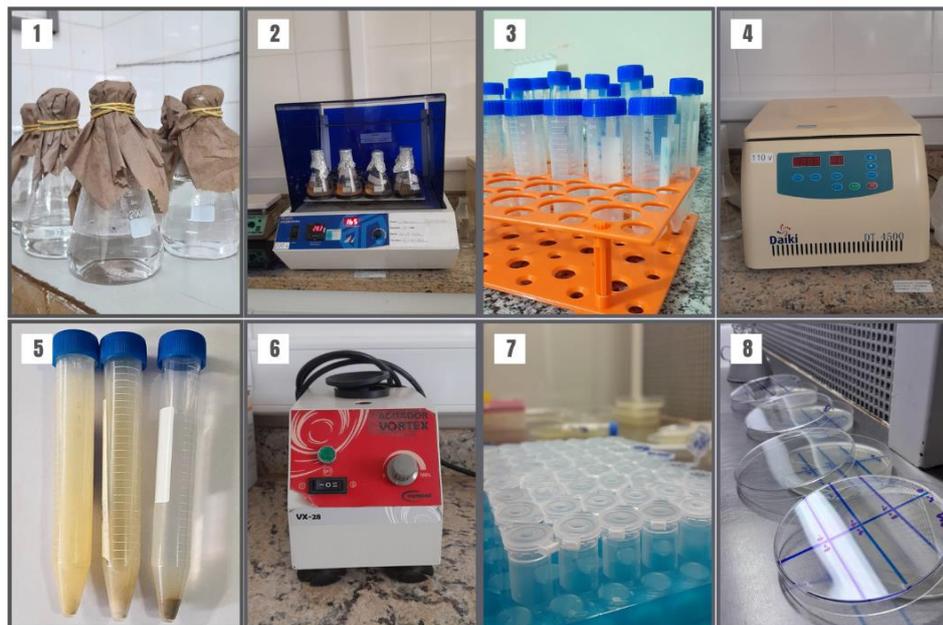
O procedimento experimental envolveu a utilização dos biológicos *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e *B. amyloliquefaciens*, os quais foram manipulados em uma câmara de fluxo laminar. Para realizar o experimento, os biofungicidas foram alocados em erlenmeyers, conforme ilustrado na Figura 1-1. A ordem de colocação seguiu a sequência de primeiro os produtos químicos e, em seguida, o biofungicida. Posteriormente, os erlenmeyers

foram transferidos para uma incubadora Shaker, conforme representado na Figura 1-2, e mantidos em agitação a 150 RPM por um período de 2 horas.

Após a etapa de incubação, as amostras foram centrifugadas e o pellet resultante foi lavado, conforme exemplificado na Figura 1-5. Esse procedimento de centrifugação e lavagem foi repetido duas vezes com o intuito de remover qualquer resíduo dos produtos químicos ou biofungicidas. Em seguida, o pellet foi ressuspensionado em água autoclavada utilizando um agitador tipo Vortex, conforme ilustrado na Figura 1-6. A suspensão foi então diluída em série até atingir a concentração desejada de  $10^{-7}$  e, posteriormente, foi plaqueada em meio BDA.

Para as formulações à base de bactérias, o mesmo protocolo metodológico foi seguido. Além disso, como parte do controle experimental, uma testemunha foi preparada em ambos os meios, consistindo apenas na diluição em série do produto biológico para fins de comparação.

Após a preparação das placas, estas foram devidamente embaladas em plástico filme e acondicionadas em uma BOD para a realização das análises subsequentes.



**Figura 4-** 1 – Erlenmeyers ; 2 – Incubadora Shaker; 3 – Tubos falcon ; 4 – Centrifugação ; 5 – Pellets; 6 – Vortex ; 7 – Diluição seriada; 8 – Plaqueamento em quadrantes.

Os resultados obtidos foram expressos em relação à amostra testemunha. Para a classificação das placas, adotou-se um critério com base na comparação das diluições realizadas em relação à diluição da testemunha.

As placas foram consideradas "compatíveis" quando a diluição da amostra foi igual ou maior do que a diluição da testemunha. Por outro lado, aquelas placas em que a diluição da amostra estava menor em relação à da testemunha foram classificadas como "pouco compatíveis". Por fim, quando não houve crescimento algum, as placas foram classificadas como "incompatíveis".

Esse método de classificação baseado nas diluições em relação à testemunha permitiu uma avaliação adequada da resposta dos microrganismos aos diferentes produtos testados, de acordo com as diretrizes estabelecidas no estudo. Por fim, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 repetições por tratamento.

### **3 ANÁLISE DE DADOS**

Os resultados das variáveis foram submetidos a uma análise de variância com nível de significância de 5% usando o teste Scottknott no software estatístico R.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Antibiograma**

As análises de compatibilidade realizadas com base nos resultados do antibiograma, conforme apresentados na Tabela 2, revelaram que a maioria dos ativos biológicos demonstraram incompatibilidade com os herbicidas testados. Os produtos contendo *Trichoderma harzianum* e *Bacillus amyloliquefaciens* exibiram um comportamento semelhante perante os herbicidas químicos em questão (Figura 5). A incompatibilidade foi observada nos herbicidas glufosinato de amônio, glifosato sal de amônio, Diquat, Cletodim, Oxifluorfen, Setoxidim e Flusifope-p-butílico. Os resultados obtidos sugerem a potencial ocorrência de danos, uma vez que são derivados de estudos in vitro que envolvem a exposição máxima dos fungos aos herbicidas. Esse tipo de abordagem pode mascarar as interações reais que ocorrem com os fungos entomopatogênicos no solo (ALVES et al., 1998). A biodisponibilidade dos herbicidas no ambiente edáfico é regulada por processos de transformação e degradação, que podem torná-los mais ou menos propensos a interagir com os fungos (MATALLO, 1999).

Em relação ao *Bacillus subtilis*, constatou-se que este ativo biológico revelou compatibilidade com a maioria dos produtos testados de acordo com o teste AN, apresentando incompatibilidade apenas com o Glifosato, Diquat e Oxifluorfen (Figura 9). Em contrapartida,

o fungo *B. Bassiana* demonstrou incompatibilidade com a maioria dos produtos avaliados em meio BDA, embora tenha demonstrado compatibilidade com Saflufenacil, Dicamba e Cloransulam-metílico (Figura 7).

Assim também, os tratamentos T1, T2, T5, T9 e T10 exibiram incompatibilidade com todos os ativos biológicos testados, tanto no teste AN quanto no meio BDA.

**Tabela 3** - Determinação da compatibilidade em função do antibiograma pelos testes BDA e AN associado ao *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* e *Bauveria Bassiana* junto a herbicidas sintéticos. UFLA, Lavras/MG, 2023

Tratamentos	Herbicidas	<i>T. harzianum</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. bassiana</i>
1	Glufosinato de amonio	Incompatível	Médio compatível	Incompatível	Incompatível
2	Glifosato	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
3	Saflufenacil	Compatível	Médio compatível	Compatível	Compatível
4	Dicamba	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
5	Diquat	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
6	Cloransulam - metílico	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
7	Clorimuron etílico	Compatível	Compatível	Compatível	Incompatível
8	Haloxifope-R- metílico	Médio compatível	Compatível	Incompatível	Incompatível
9	Cletodim	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
10	Oxifluorfem	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
11	Setoxidim	Incompatível	Compatível	Incompatível	Incompatível
12	Fluasifope - p -Butílico	Incompatível	Compatível	Incompatível	Incompatível

	Compatível
	Médio compatível
	Incompatível



**Figura 5** - Antibiograma da testemunha e do herbicida chlorimuron ethyl e haloxyfope, respectivamente, apresentando compatibilidade no teste de BDA com *Trichoderma harzianum*. UFLA, Lavras/MG, 2023.



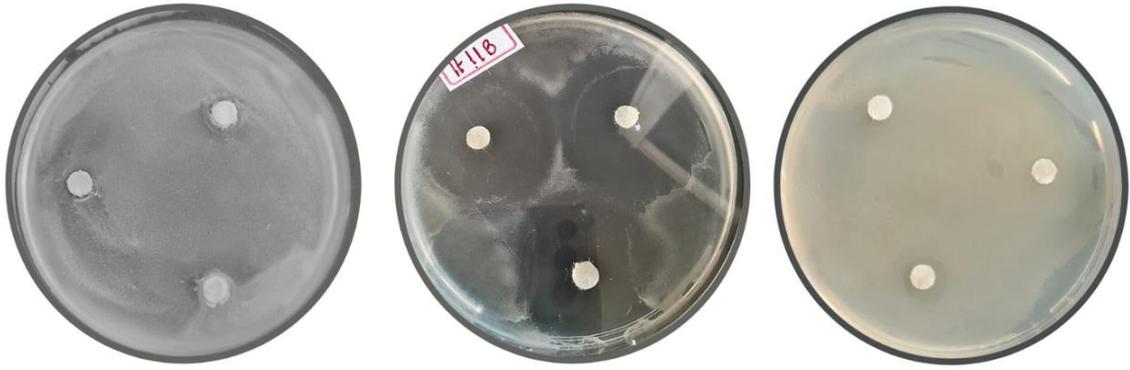
**Figura 6** - Antibiograma da testemunha e do herbicida diquat respectivamente, apresentando incompatibilidade no teste de BDA com *Trichoderma harzianum*. UFLA, Lavras/MG, 2023.



**Figura 7** - Antibiograma da testemunha e do herbicida dicamba, respectivamente, apresentando compatibilidade no teste de BDA com *Beauveria bassiana*. UFLA, Lavras/MG, 2023.



**Figura 8** - Antibiograma da testemunha e do herbicida chlorimuron ethyl e haloxifopropil, respectivamente, apresentando incompatibilidade no teste de BDA com *Beauveria bassiana*. UFLA, Lavras/MG, 2023.



**Figura 9** - Antibiograma da testemunha e do herbicida setoxidim apresentando incompatibilidade, e do herbicida haloxifope-p-metílico apresentando compatibilidade no teste de AN com *Bacillus subtilis*. UFLA, Lavras/MG, 2023.



**Figura 10** - Antibiograma da testemunha e do herbicida glifosato apresentando incompatibilidade, e do herbicida saflufenacil apresentando compatibilidade no teste de AN com *B. amyloliquefaciens*. UFLA, Lavras/MG, 2023.

No estudo conduzido por Botelho em 2022, identificaram-se como fatores de influência significativa na germinação de conídios de *Trichoderma* o tempo de exposição e a dosagem dos herbicidas Roundup Original e Zapp QI. Esses produtos exerceram um impacto notável no processo de germinação desses conídios.

No contexto da degradação de herbicidas, é relevante mencionar o papel fundamental desempenhado por bactérias e fungos presentes no solo na degradação microbiana dessas substâncias. Esse processo pode influenciar as interações entre os produtos químicos e biológicos testados. Tais microorganismos possuem a capacidade de transformar os herbicidas em produtos finais, resultando em dióxido de carbono, água e sais minerais, ou em produtos

intermediários, que podem ser mais ou menos tóxicos em relação à molécula original, (MONQUERO E SILVA; 2021).

Outro fator relevante que pode afetar a compatibilidade entre os produtos, é a formulação como uma suspensão concentrada, o que pode dificultar a formação de grânulos. É importante ressaltar que o *Bacillus amyloliquefaciens* é produtor de biossurfactantes que incluem lipopeptídeos, desempenhando um papel crucial na inibição de fungos. Dentre esses lipopeptídeos, destacam-se a iturina, a surfactina e a fengicina, que atuam de forma direta e indireta, envolvendo a produção de fitormônios, síntese de enzimas e compostos antifúngicos, além de facilitar a captação de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, contribuindo para o crescimento de plantas (ABREU et al.,2022).

#### **4.2 Metodologia de placas de Petri contendo meio de cultura BDA com herbicidas**

Na metodologia empregada, o biológico estudado foi o *Trichoderma harzianum*. Através dos dados coletados, foi possível calcular o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e a Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PICM) das colônias de *T. harzianum* em meio BDA, na presença dos diversos herbicidas listados na Tabela 1.

No que se refere ao PICM, observou-se uma interação estatisticamente significativa entre os fatores herbicidas e o antagonista, conforme avaliado pelo teste com um nível de significância de 5%. O coeficiente de variação foi de 1,88% (Tabela 3). No gráfico 1, os valores de IVCM e PICM se encontram inversamente proporcionais, pois à medida que o IVCM aumentou, a porcentagem de inibição diminuiu.

**Tabela 4** - Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC) de *Trichoderma harzianum* na presença de diferentes herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.

Ativo químico	Ativo biológico	
Herbicidas	IVCM ( <i>Trichoderma Harzianum</i> )	PICM ( <i>Trichoderma Harzianum</i> )
Testemunha	12.37 a	—
Dicamba	11.96 b	4.81 e
Clorimuron etílico	10.23 c	18.56 d
Cloransulam - metílico	10.14 c	19.31 d
Saflufenacil	9.97 c	20.64 d
Haloxifope-R- metílico	6.59 d	47.53 c
Fluasifope - p -Butílico	3.40 e	72.92 b
Glufosinato de amonio	0.00 f	100 a
Oxifluorfen	0.00 f	100 a
Setoxidim	0.00 f	100 a
Glifosato Sal de amônio	0.00 f	100 a
Diquat	0.00 f	100 a
Cletodim	0.00 f	100 a
<b>CV(%)</b>	<b>2.88</b>	<b>1.88</b>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scottknott, a 5%.

O herbicida Dicamba não afetou o crescimento micelial do antagonista, apresentando resultados estatisticamente equivalentes à testemunha, que não continha herbicida (Figura 11). Essa uniformidade no comportamento dos antagonistas em relação ao herbicida Dicamba também é observada nos resultados do antibiograma. Entretanto, foi constatada uma considerável interferência de alguns herbicidas no microrganismo testado. Estatisticamente, pode-se observar que os herbicidas glifosato, setoxidim, cletodim, oxyfluorfen e diquat inibiram completamente o crescimento micelial do antagonista em estudo.

Além disso, os herbicidas fluazifope-p-butílico e Haloxyfope-R-metílico também causaram uma redução significativa no crescimento micelial, com inibições de 72%, 92% e

47,53%, respectivamente. A acetil coenzima A carboxilase é uma enzima presente em bactérias, fungos e diversos seres vivos, desempenhando um papel essencial na etapa inicial e irreversível da síntese de ácidos graxos, que é uma das vias metabólicas fundamentais na biologia. Essa enzima converte acetil coenzima A em malonil coenzima A (CRONAN JUNIOR; WALDROP, 2002). Portanto, é plausível que os herbicidas Fluazifope-p-butílico e Haloxyfope-R-metílico possam afetar diretamente microrganismos por meio desse mecanismo de ação.

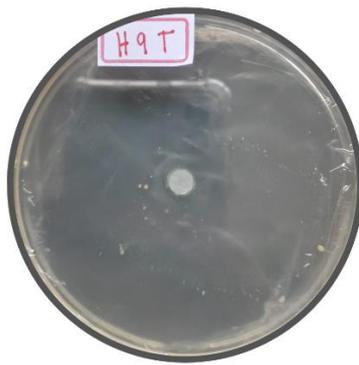
De acordo com Malkones (2000), é importante observar que os aditivos presentes nas formulações de pesticidas têm o potencial de afetar microrganismos e, em certas situações, podem até mesmo alterar o efeito do pesticida em questão. No caso específico da inibição do crescimento micelial causada pelo herbicida glifosato, essa influência está possivelmente relacionada à interferência do herbicida na enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), que desempenha um papel fundamental na síntese de aminoácidos aromáticos. Esses aminoácidos são essenciais para o crescimento micelial, tornando o glifosato uma molécula fungistática, inibidora do crescimento micelial, ou, em alguns casos, fungicida. Essas considerações ressaltam a importância de compreender os efeitos dos aditivos nos pesticidas sobre microrganismos, particularmente em relação à produção de aminoácidos e crescimento micelial (DICK; QUINN, 1995).

Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Botelho e Monteiro (2011), que mostraram que o herbicida Glifosato causa redução no crescimento micelial e na produção de conídios de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, assim como Andaló et al. (2004) já haviam verificado o mesmo para *B. bassiana*. Em geral, os mesmos autores classificaram o Glifosato como moderadamente tóxico na dose recomendada em pós-emergência.

Em contrapartida, os herbicidas Clorimuron etílico, cloransulam metílico e saflufenacil, também refletiram em uma PICM menor que 21%, permitindo ainda um crescimento positivo do *T. harzianum*.

Os herbicidas possuem uma ampla variedade de mecanismos de ação, atuando em diversos sítios específicos na fisiologia das plantas. No entanto, esses mecanismos de ação não necessariamente conferem seletividade em relação aos fungos entomopatogênicos (BOTELHO; MONTEIRO, 2011). Esses produtos químicos têm a capacidade de interferir na síntese de aminoácidos e inibir processos metabólicos (MACEDO et al., 1996).

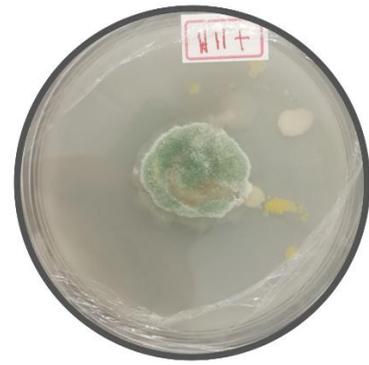
**Figura 11** - Crescimento micelial de agentes de biocontrole em meio de cultura batata-dextrose-agar com diferentes herbicidas após 6 dias de incubação. UFLA, Lavras/MG, 2023.



*Cletodim x T. harzianum*



*Diquat x T. harzianum*



*Setoxidim x T. harzianum*



*Dicamba x T. harzianum*



*Cloransulam x T. harzianum*



*Haloxyfope x T. harzianum*



*Testemunha - T. harzianum*

#### 4.3 Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição de Duas horas

Considerando a peculiaridade do ambiente agrícola, onde a exposição dos agentes biológicos aos herbicidas durante o processo de pulverização raramente excede duas horas na maioria dos casos, a metodologia tradicional de exposição prolongada no antibiograma e no meio BDA fundido com herbicida demonstra limitações ao não representar fielmente as condições reais de campo. Para melhor aproximar os resultados às circunstâncias enfrentadas

pelos produtores, foi adotada uma exposição de duas horas aos herbicidas, a fim de avaliar potenciais alterações no comportamento dos agentes biológicos diante dos herbicidas testados.

Assim, dentro dessa abordagem metodológica, foi notável que o herbicida glifosato manteve um alto grau de incompatibilidade, sendo incompatível com o *Trichoderma harzianum*, e exibindo compatibilidade variando de pouco a média com o *Bacillus subtilis* e *B. amyloliquefaciens*, respectivamente.

Em contrapartida, verificou-se compatibilidade, em sua maioria, até a diluição de 1:1000, com os herbicidas glufosinato de amônio, Cletodim, Oxyfluorfen, Setoxydim, Fluazifope e Diquat, que apresentaram resultados semelhantes à testemunha (Tabela 4).

**Tabela 5** - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao *Trichoderma harzianum* com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.

<i>Trichoderma harzianum</i> - BDA							
HERBICIDA	Glifosato	G. de amônio	Cletodim	Oxyfluorfen	Setoxidim	Fluazifope	Diquat
DILUIÇÃO	-	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup>
TESTEMUNHA	10 <sup>-3</sup>						
TESTE	Inc.	Com.	Com.	Com.	Com.	Com.	Pouc.

Com Compatível    Pou. Pouco compatível    Inc. Incompatível

**Tabela 6** - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao *Bacillus amyloliquefaciens* com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.

<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> - AN							
HERBICIDA	Glifosato	G. de amonio	Cletodim	Oxyfluorfen	Setoxidim	Fluazifope	Diquat
DILUIÇÃO	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup>				
TESTEMUNHA	10 <sup>-3</sup>						
TESTE	Pouc.	Com.	Com.	Com.	Com.	Com.	Pouc.

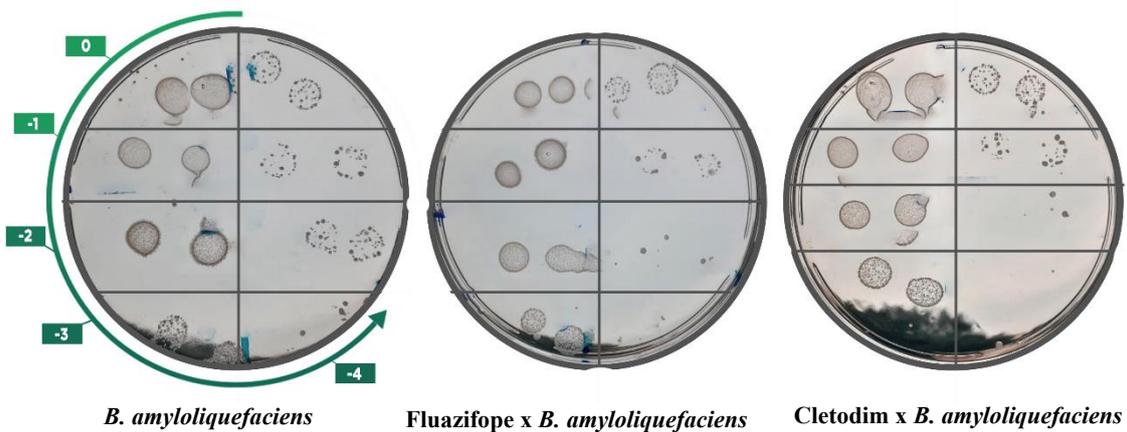
Com Compatível    Pou. Pouco compatível    Inc. Incompatível

**Tabela 7** - Determinação da compatibilidade em função do tempo de exposição pelos testes BDA associado ao *Bacillus subtilis* com herbicidas. UFLA, Lavras/MG, 2023.

<i>Bacillus subtilis</i> - AN			
HERBICIDA	Glifosato	Diquat	Oxifluorfen
DILUIÇÃO	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-2</sup>
TESTEMUNHA	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
TESTE	Pouc.	Com.	Pouc.

Com Compatível    Pou. Pouco compatível    Inc. Incompatível

Vale destacar que o herbicida Diquat demonstrou cerca de 50% de inibição do crescimento em comparação com a testemunha no teste AN com *B. amyloliquefaciens* e no meio BDA com *Trichoderma harzianum*, indicando um grau limitado de compatibilidade. Da mesma forma, o herbicida Oxyfluorfen resultou em aproximadamente 40% de inibição no teste AN com *B. subtilis* (Tabela 6).



**Figura 12** - Tempo de exposição do produto fluazifope e cletodim, apresentando compatibilidade no teste de AN com *Bacillus subtilis*. UFLA, Lavras/MG, 2023.

As vantagens associadas à utilização de produtos compatíveis em misturas estão predominantemente relacionadas à economia de custos, uma vez que reduzem o número de aplicações na área. Isso resulta em economia de combustível, água e tempo, além de minimizar a exposição do operador a defensivos agrícolas. Além disso, essa prática ajuda a reduzir o impacto da compactação do solo e otimiza o processo agrícola (GAZZIERO, 2015).

Em possíveis ensaios a campo com o herbicida glifosato, os resultados podem variar devido às suas propriedades físico-químicas, por ser um herbicida sistêmico e pós-emergente. Após a aplicação, a absorção pela planta ocorre, estabelecendo um contato não constante com produtos biológicos a partir desse momento. Notavelmente, a maioria dos herbicidas pós-emergentes quando em contato com o solo, não manifesta atividade herbicida, possibilitando, em experimentos *in vivo*, a existência de compatibilidade entre os produtos.

A variação na persistência do glifosato no solo é um fator crucial. Ao atingir o solo, a molécula pode passar por processos de degradação e/ou adsorção. Locke et al. (2009) destacam que a fotodegradação e degradação química não desempenham papel significativo na dissipação

do glifosato em solos. A alta capacidade de adsorção do glifosato no solo é tema de estudos que buscam compreender os mecanismos de ligação entre o herbicida e o solo (TONI et al., 2006).

A rápida adsorção do glifosato pela maioria dos solos, especialmente nas primeiras quatro horas após a aplicação (FRANZ et al., 1997), reduz a concentração do herbicida na fração solubilizada do solo, impactando sua ação potencial. Esse efeito é observado na diminuição da disponibilidade biológica, aceleração da degradação química e no retardamento do movimento de lixiviação (TONI et al., 2006).

A atividade microbiana é outro fator determinante para a presença do glifosato no solo. As taxas de metabolismo do herbicida variam entre diferentes solos, correlacionando-se com o nível de atividade microbiológica (FRANZ et al., 1997).

Em suma, a avaliação da compatibilidade entre produtos biológicos e os herbicidas testados fundamentou-se nas metodologias descritas. Esta análise considerou não apenas o princípio ativo, mas também a composição completa, tanto dos produtos biológicos quanto dos defensivos químicos. É importante ressaltar que os resultados podem variar entre formulações distintas, devido às complexidades inerentes não apenas ao princípio ativo, mas à totalidade da formulação.

Dessa forma, a necessidade de estudos adicionais se faz evidente. Esses estudos devem abordar a viabilidade dos metabólitos produzidos pelos produtos biológicos e sua influência em diferentes formulações. Além disso, é imperativo investigar o comportamento desses produtos em ensaios a campo, considerando variáveis ambientais como clima, solo e planta. Essa abordagem abrangente visa aferir a compatibilidade entre produtos químicos e biológicos em condições práticas de cultivo.

Assim, diante da complexidade do tema, a continuidade das pesquisas é essencial para aprimorar a compreensão dessas interações. Essa abordagem mais aprofundada contribuirá significativamente para o desenvolvimento de diretrizes mais precisas e eficazes no uso conjunto de produtos biológicos e herbicidas, promovendo práticas agrícolas sustentáveis e eficientes.

## 5 CONCLUSÃO

1. Os herbicidas à base de Glufosinato de amônio, Oxyfluorfen, Setoxydim, Glifosato, Diquat e Cletodim não demonstraram seletividade para *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* e *Beauveria bassiana*, resultando na inibição significativa do crescimento, tanto nos testes de antibiograma quanto nos meios de cultura BDA com herbicidas.
2. *Beauveria bassiana* revelou-se o agente biológico mais sensível à presença da maioria dos herbicidas testados no teste BDA, com antibiograma.
3. A metodologia com exposição delimitada em duas horas, permitiu quantificar a seletividade dos herbicidas Glufosinato de amônio, Oxyfluorfen, Setoxydim, Glifosato, Diquat e Cletodim aos biológicos estudados, o que não foi possível adotando o teste de exposição constante.
4. O ativo biológico *Trichoderma harzianum*, manteve um comportamento semelhante tanto no antibiograma como em meio de cultura com herbicidas, sendo compatível e incompatível com os mesmos herbicidas em ambas metodologias.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. P. S.; MARTINAZZO, A. P.; TEODORO, C. E. S., BERBET, P. A. Alternativa sustentável de uso de *Bacillus amyloliquefaciens* no biocontrole de fungos fitopatogênicos: uma revisão. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 16, n. 1, p. 1 – 15, 2022.
- AKLITSCH, W. M. **European species of Hypocrea Part I. The green-spored species. Studies in Mycology**, v. 63, p. 1-91, 2009.
- ALVES, R.T.; BATEMAN, R.P.; PRIOR, C.; LEATHER, S.R. **Effects of simulated solar radiation on conidial germination.**
- BARROS FC, SAGATA E, FERREIRA LCC, JULIATTI FC (2010). **Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos.** Bioscience Journal 26: 231-239
- BENHAM, R.W.; MIRANDA, J.L. **The genus Beauveria, Morphological and taxonomical studies of several species and of two strains isolated form wharf-piling borers.** Mycologia, v.45, p.727-746, 1953.
- BENÍTEZ T, RINCÓN AM, LIMÓN MC, CONDÓN AC (2004). **Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International Microbiology 7:** 249-260.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. *In*: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas.** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p. 33-52.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. *In*: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos.** 3 ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 717-728.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Solos supressivos. *In*: MICHEREFF, S. J., ANDRADE, D.E.G.T.; Menezes, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Recife: UFRPE, 2005. p. 125-152.
- BOTELHO, A. S. **Compatibilidade de *Trichoderma* spp. com agrotóxicos e inibição de patógenos do solo por cepas comerciais e não comerciais.** 2022. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. **Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo de cana-de-açúcar.** *Bragantia*, v.70, n.2, p.361-369, 2011.
- CARNEIRO, C. E. A.; MOLINARI, H. B. C.; ANDRADE, G. A.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. **Produção de prolina e suscetibilidade ao glufosinato de amônio em plantas transgênicas de citrumelo Swingle.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, n. 5, p. 747-753, 2006.
- CARVALHO, A. C. P. P.; ARAÚJO, J. D. M.; BERTINI, C. H. C. M.; BEZERRA, A. M. E.; PESSOA, P. F. A. P. **Redução de Custos na Produção de Mudanças Micropropagadas de Bananeira cv. Williams.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2014. 7 p. (Circular Técnica, 45).
- CHEN JL, SUN SZ, MIAO CP, WU K, CHEN YW, XU LH, GUAN HL, ZHAO LX (2016). **Endophytic Trichoderma gamsii YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of Panax notoginseng.** *Journal of Ginseng Research* 40: 315-324. (<https://doi.org/10.1016/j.jgr.2015.09.006>).

- CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. In: WICKLOW, D.T.; SÖDERSTRÖM, B. (Eds). **The Mycota IV: Environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. 184 p.
- CHOUDHARY, D. K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297, 2007.
- SOUT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLEMENT, C.; BARKA, E. A. **Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future Prospects**. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 71, n. 9, p. 4951-4959, 2005.
- CONSOLO VF, MONACO CI, CORDO CA, SALERNO GL (2012). Characterization of novel *Trichoderma* spp. isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28:1389-1398. (<https://doi.org/10.1007/s11274-011-0938-5>)
- CRONAN JUNIOR. E. J.; WALDROP, G. L. **Multi-Subunit Acetyl-CoA Carboxylases. Progress in Lipid Research**, [S.l.], n. 41, v. 5, p. 407-435, 2002.
- DECARO JUNIOR, S. T. Dinâmica da calda fitossanitária no reservatório do pulverizador. In: COSTA, L. L.; POLANCZYK, R. A. **Tecnologia de aplicação de caldas fitossanitárias**. 1 ed. Jaboticabal: FUNEP, cap. 3, p. 38-56, 2019.
- DENNIS C, WEBSTER J (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, II. Production of volatile antibiotic. *Transactions British Mycological Society* 57: 41-48. ([https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80078-5](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80078-5)).
- DICK, R. E.; QUINN, J. P. Glyphosate-degrading isolates
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; ROMAGNI, J. G.; RIMANDO, A. M. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research*, v. 40, p. 99-111, 2000.
- ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.l.], n. 28, p. 719-725, 1982.
- EL-SHANSHOURY, A.; EL-RAHEEM, R.; ABU ELSOUOUD, S. M.; AWADALLA, O. A.; EL-BANDY, N. B. Formation of tomatine in tomato plants infected with *Streptomyces* species and treated with herbicides, correlated with reduction of *Pseudomonas solanacearum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Acta Microbiologica Polonica*, v. 44, n. 1, p. 255-266, 1995.
- ESTRADA-RIVERA M, REBOLLEDO-PRUDENCIO OG, PÉREZ-ROBLES DA, ROCHA-MEDINA MADC, GONZÁLEZ-LÓPEZ MDC, CASAS-FLORESA S (2019). *Trichoderma* Histone Deacetylase HDA-2 modulates multiple responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 179: 1343-1361. (<https://doi.org/10.1104/pp.18.01092>).
- FERREIRA, C. R. R. P. T.; VEGRO, C. L. R. **Análises e indicadores do agronegócio**, v. 1, n. 7, p. 07-13, 2006.
- FERRON, P. **Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annuals Review of Entomology**, v.23, p.409-442,1978 from environmental samples: occurrence and pathways of
- GAZZIERO, D. L. P. **Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015

GONZÁLEZ FH, FUENTES MN (2017). **Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal.** Revista de Ciências Agrícolas 34: 17-31. (<https://doi.org/10.22267/rcia.173401.61>).

Gordon, R. E. (1981). **One hundred and seven years of the genus Bacillus.** The Aerobic Endospore Forming Bacteria, 9-45

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. **Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais.** Floresta, v. 30, n. 0, p. 155-165, 2000.

HAJIEGHRARI, B.; TORABI-GIGLOU, M.; MOHAMMADI, M. R.; DAVARI, M. Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates in the control of soil borne plant pathogenic fungi. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], n. 8, p. 7, 2008.

Hammami, I., Rhouma, A., Jaouadi, B., Rebai, A., & Nesme, X. (2009). Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. *Letters in applied microbiology*, 48(2), 253-260.

HARMAN GE, HOWELL CR, VITERBO A, CHET I, LORITO M (2004a). **Trichoderma species – opportunistic, avirulent plant symbionts.** *Nature Reviews Microbiology* 2: 43-56. (<https://doi.org/10.1038/nrmicro797>).

HARMAN GE, PETZOLDT R, COMIS A, CHEN J (2004b). Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Plant Physiology* 94: 146-153. (<https://doi.org/10.1094/phyto.2004.94.2.147>).

HARMAN, G. E. **Myths and dogmas of biocontrol** – Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, [S.l.], v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HENIS, Y.; CHET, I. Microbiological Control of plant pathogens. **Advances in Applied Microbiology**, Madison, v. 19, p. 85-111, 1975.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. **Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of Trichoderma.** In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of Trichoderma.** Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science*, v. 48, p. 160-170, 2000.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the Biological Control of Plant Diseases: **The history and evolution of current concepts.** *Plant Disease*, [S.l.], v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

FRANZ, J. E.; MAO, M. K.; SIKORSKI, J. A. Glyphosate: A Unique Global Herbicide. American Chemical Society, Washington DC, 1997, p.653

JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, [S.l.], v. 63, p. 1-91, 2009.

JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* part II: species with hyaline ascospores. **Fungal Diversity**, v. 48, n. 1, p. 1-250, 2011.

JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in Mycology**, v. 80, p. 1-87, 2015.

JALALI F, ZAFARI D, SALARI H (2017). Volatile organic compounds of some *Trichoderma* spp. increase growth and induce salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Fungal Ecology* 29: 67-75. (<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.06.007>)

Kado, C.I. (1992). Plant pathogenic bacteria. In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (Ed.). *The prokaryotes*. Springer-Verlag, 660-662.

- KAVAMURA, V. N., SANTOS, S. N., SILVA, J. L., PARMA, M. M., AVILA, L. A., VISCONTI, A., ZUCCHI, T. D., TAKETANI, R. G., ANDREOTE, F. D., MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, p.183-191, 2013.
- KELLEY, K. B.; RIECHERS, D. E. Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 89, p. 1-11, 2007.
- Keynan, A., & Sandler, N. (1983). Spore research in historical perspective.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.
- LA ASSOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 15., 1999, Cartagena de Indias, Colombia.
- LOCKE, M. A.; ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Integrating soil conservation practices and glyphosate-resistant crops: impacts on soil. *Pest Management Science*, New York, v.64, n. 4, p.457–469, 2008.
- Lanna Filho, R., Ferro, H. M., & de Pinho, R. S. C. (2010). Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, 4(2).
- Leelasuphakul, W., Hemmanee, P., & Chuenchitt, S. (2008). Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 113-121.
- LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; GERALDINE, A. M.; BRANDÃO, R. S.; MONTEIRO, V. N.; JÚNIOR, M. L.; SILVA, R. N. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, v. 116, n. 7, p. 815-824, 2012.
- MONQUERO, P. A.; SILVA, P. V. **Comportamento de herbicidas no ambiente**. In: BARROSO, A. A. M.; MURATA, A. T. *Matologia*. SBCPD: Jaboticabal-SP, 2021. 547 p.
- MACHADO DFM, PARZIANELLO FR, DA SILVA ACF, ANTONIOLLI ZI (2012). *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias* 35: 274-288 (<https://doi.org/10.19084/rca.16182>).
- MAcLEOD, D.M. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. And *Tritirachium* Limber. *Canadian Journal of Botany*, v.32, p.818-893, 1954.
- MALKONES, H. P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities – a review. *J. Plant Dis. Protec.*, [S.l.], v. 8, n. 5, p. 781-789, 2000.
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004
- MARKWELL, J.; NAMUTH, D.; HERNANDEZ-RIOS, I. Introducción a los herbicidas que actúan a través de la fotosíntesis. 2006. Disponível em: <[http://plantandsoil.unl.edu/croptechology2005/weed\\_science/](http://plantandsoil.unl.edu/croptechology2005/weed_science/)>. Acesso em: 21 jan. 2008.
- Marrone, PG O mercado e o potencial dos biopesticidas. Em *Biopesticidas: Estado da Arte e Oportunidades Futuras* ; Gross, AD, Coats, JR, Duke, SO, Seiber, JN, Eds.; Sociedade Química Americana: Washington, DC, EUA, 2014; pp. 245–258.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- botello, M. B. La relación suelo - herbicida: descoposición, residuos, contaminación y manejo. In: CONGRESO DE

- MELLO SCM, ECKSTEIN B, MARQUES E, CARVALHO DDC (2020). Controle de Doenças de Plantas. In: Fontes, EMG, Valadares-Ingliš MC (Org.). Controle Biológico de Pragas da Agricultura. 1ed. Brasília: Embrapa, p.291-325.
- MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* sp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p. 7-23.
- Metarhizium anisopliae in different formulations. **Crop Protection**, v. 17, n. 8, p. 675-679, 1998.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 538 p.
- MORÁN-DIEZ, E.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. TvDim1 of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. **Current Genetics**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 63-73, 2010.
- MOURA, A. B.; ROMEIRO, R. S.; NEVES, M. C. P. Bioensaio para avaliação massal de actinomicetos antagonistas a *Ralstonia solanacearum*, em tomateiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 33, n. 12, p. 2065-2072, 1998
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. **Microbiology**, [S.l.], v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- NAWROCKA J, SZCZECH M, MAŁOLEPSZA U (2018). *Trichoderma atroviride* enhances phenolic synthesis and cucumber protection against *Rhizoctonia solani*. Plant Protection Science 54: 17-23. (<https://doi.org/10.17221/126/2016-PPS>).
- OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. de. Mecanismos de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. de; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e Manejo de Plantas de Daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011, 348 p.
- OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: Agropecuária, 2001. 362 p.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.mat
- Olson, S. Uma análise do mercado de biopesticidas agora e para onde está indo. *Gerenciamento de pragas do Outlook*. 2015 , 26 , 203–206
- Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., & Thonart, P. (2007). Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental microbiology*, 9(4), 1084-1090.
- OZDEMIR Y, POLAT Z, OZKAN M, KOSTI RI (2016). Effects of selected bio-fungicide and fungicide treatments on shelf life and quality characteristics of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Quality* 39: 25-53. (<https://doi.org/10.1111/jfq.12174>).
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review Phytopathology**, [S.l.], v. 53, p. 23-54, 1985.
- PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v. 29, p. 62-77, 2002.
- PEIXOTO, M. F. S. P.; BORGES, V. P.; BORGES, V. P.; PEIXOTO, C. P. Ação do trifluralin na micorrização e crescimento de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*). **Planta Daninha**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 609-614, 2010.
- PETERSON, D. E.; THOMPSON, C. R.; REGEHR, D. L.; AL-KHATIB, K. Herbicide mode of action. Topeka: Kansas State University, 2001. 24 p.]

- PLESSIS, I. L.; DRUZHININA, I. S.; ATANASOVA, L.; YARDEN, O.; JACOBS, K. The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. **Mycologia**, v. 110, n. 3, p. 559-583, 2018.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, v. 239, 2009.
- ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas**: procedimentos. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 172 p.
- ROSA, D. D.; BASSETO, M. A.; CAVARIANI, C.; FURTADO, E. L. Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. **Acta Scientiarum Agronomy**, [S.l.], v. 32, n. 3, p. 379-383, 2010.
- ROSS, M. A.; CHILDS, D. J. Herbicide mode-of-action summary. Cooperative Extension Service Publication WS-23, Purdue University, West Lafayette, IN. 1996. Disponível em: <<http://www.btny.purdue.edu/weedscience/moa/index.html>>. Acesso em: 10 out. 2023.
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., & Paré, P. W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 134(3), 1017-1026.
- Slepecky, R. A., & Hemphill, H. E. (2006). The genus *Bacillus* – nonmedical. In: Dworkin, M., Falkov, S., Rosenberg, E., Schileifer, K-H., Stackebrandt, E. (Ed.). *The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria. Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. 3rd. Ed. v.4. Minneapolis: Springer.
- SOUZA, M. L. Utilização de microrganismos na agricultura. *Biotecnologia*, Piracicaba, n. 21, p. 28-31, 2001.
- STADNIK MJ, BETTIOL W (2000). Controle biológico de oídeos. In: Melo IS, Azevedo JL (Eds.) *Controle biológico*. v. 3. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 95-112.
- STEPHENSON, G. R.; FERRIS, I. G.; HOLLAND, P. T.; NORDBERG, M. Glossary of terms relating to pesticides (IUPAC Recommendations 2006). *Pure and Applied Chemistry*, v. 78, n. 11, p. 2075-2154, 2006. v. 43, n. 3, p. 545-50, 1995.
- VIDAL, R. A. *Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas*. Porto Alegre, 1997. 165 p.
- TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais. *Química Nova*, São Paulo, v.29, n.4, p.829-833, 2006
- WHITFORD, F.; OLDS, M.; CLOYD, R.; YOUNG, B.; LINSKOTT, D.; DEVEAU, J.; REISS, J.; PATTON, A.; JOHNSON, B.; OVERLEY, T.; SMITH, K. L. Avoid tank mixing errors. A guide to applying the principles of compatibility and mixing sequence. Purdue University, p. 44, 2018.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.
- YEDIDIA, I. BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology Biochemistry**, [S.l.], v. 38, p. 863-873, 2000.
- ZENG W, KIRK W, HAO J (2012). Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agents. *Biological Control* 60: 141-147. (<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.09.012>).
- ZHOU, Q.; LIU, W.; ZHANG, Y.; LIU, K. K. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 89, p. 89-96, 2007.
- ZIMDAHL, R. C. *Fundamentals of weed science*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1999. 469 p.