



LINDOMAR CANUTO DA SILVA

**HERBICIDES SELECTIVITY TO *Trichoderma* spp. USED IN
THE CONTROL OF WHITE MOLD IN SOYBEAN CROP**

**LAVRAS - MG
2021**

LINDOMAR CANUTO DA SILVA

**HERBICIDES SELECTIVITY TO *Trichoderma* spp. USED IN THE CONTROL OF
WHITE MOLD IN SOYBEAN CROP**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros
Orientadora

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Coorientador

**LAVRAS - MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Lindomar Canuto da.

Herbicides selectivity to *Trichoderma* ssp. used in the control
of white mold in soybean crop / Lindomar Canuto da Silva. - 2021.
101 p. : il.

Orientador(a): Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros.

Coorientador(a): Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Controle biológico. 2. Controle químico. 3.
Compatibilidade. I. Medeiros, Fernanda Carvalho Lopes de. II.
Medeiros, Flávio Henrique Vasconcelos de. III. Título.

LINDOMAR CANUTO DA SILVA

**HERBICIDES SELECTIVITY TO *Trichoderma* spp. USED IN THE CONTROL OF
WHITE MOLD IN SOYBEAN CROP**

**SELETIVIDADE DE HERBICIDAS A *Trichoderma* spp. UTILIZADOS NO
CONTROLE DE MOFO BRANCO NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em: 27 de abril de 2021.

Dra. Zayame Vegette Pinto BALLAGRO

Dr. Adenilson Henrique Gonçalves UFLA

Profa. Dra. Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros
Orientadora

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Coorientador

**LAVRAS - MG
2021**

Aos meus pais João Canuto e Agna Aparecida (in memoriam) por todo o amor, apoio, e por acreditarem em meus sonhos. À minha namorada Dessyrrê, por compartilhar comigo inúmeros momentos de vitórias e fracassos durante esta jornada. Ao meu irmão Lucas, pelos momentos compartilhados e, ao meu afilhado João Gabriel, por me mostrar o lado criança da vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Deus nunca disse que a jornada seria fácil, mas Ele disse que a chegada valeria a pena. Por isso, agradeço primeiramente a Deus, por tudo aquilo que Ele fez durante estes anos e ainda fará em minha vida.

À minha mãe Agna Aparecida (*in memoriam*), por todo o amor que sempre teve por mim. A senhora não teve a oportunidade de ver esse sonho começar, mas sei que se estivesse aqui, estaria feliz com essa vitória. Ao meu pai João Canuto, por todo o apoio e cuidado comigo. A vocês dois nenhuma sequência de obrigado seria o bastante para descrever minha gratidão.

À minha namorada Dessyrrê, pelo companheirismo, amor, incentivo, e por todas as vezes que estive comigo nos meus piores e melhores momentos.

Ao meu irmão Lucas, pelos momentos compartilhados que nos fizeram pensar em muitas coisas.

Aos meus Mestres pelo conhecimento repassado, em especial à minha orientadora Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros e ao meu Coorientador Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros, pela orientação, amizade, paciência, e por nunca terem medido esforços para me ajudar. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados de forma admirável!

Ao grupo de estudo em Proteção Plantas (G-PRO) e ao grupo de Controle Biológico de Doenças de Plantas (GC-Bio), pela colaboração e apoio nos momentos de trabalho, se prontificando em me ajudar sempre que precisei.

Aos amigos que fiz e com os quais partilhei os mais diversos momentos que a faculdade nos reservou!

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Agricultura (DAG) e ao Departamento de Fitopatologia (DFP), pela oportunidade.

Aos funcionários da UFLA, em especial à Marli, secretária do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela atenção e ajuda sempre.

Ao órgão financiador CAPES, pela ajuda financeira através de bolsa de mestrado.

A todos aqueles que me acolheram como família e compartilharam deste momento, meu imenso obrigado!

A melhor preparação para o amanhã é fazer o seu melhor hoje, então hoje começa uma nova história, cheia de gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Muito obrigado!

“A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar.” (Eduardo Galeano)

RESUMO

O mofo branco causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary é considerado uma doença de difícil controle devido sua capacidade de produzir alta quantidade de escleródios. Dentre as alternativas para o manejo integrado de *S. sclerotiorum*, o uso de agentes de controle biológico, principalmente antagonistas do gênero *Trichoderma*, é de suma importância para o controle dessa doença. Entretanto, a utilização de defensivos químicos pode agir de forma indesejada no desenvolvimento do antagonista, reduzindo seu potencial de ação ou causando sua inviabilização. Portanto, o objetivo foi analisar a compatibilidade da mistura em tanque entre herbicidas e produtos biológicos comerciais à base do fungo *Trichoderma* spp. registrados para a cultura da soja. Os produtos biológicos comerciais utilizados foram à base de *T. asperellum* e *T. harzianum*, enquanto os herbicidas comerciais utilizados foram constituídos dos princípios ativos Haloxifope-p-metilico, Glifosato sal de di-amônio de N, Fluasifope-p-butílico, Fomesafem, Clorimuron etílico e Imazapique + Imazapir. Para determinação da seletividade dos herbicidas aos agentes de biocontrole foram realizados testes *in vitro* avaliando o índice de velocidade de crescimento micelial, produção de conídios e porcentagem de inibição do crescimento micelial do antagonista na presença dos herbicidas. Na determinação dos parâmetros foi utilizada a metodologia de exposição constante, bem como a metodologia utilizando diferentes tempos de exposição dos produtos biológicos em calda de pulverização com os herbicidas simulando a mistura em tanque que ocorre a nível de produtor. Além disso, foi avaliado o controle do mofo branco no campo, em função dos tratamentos, bem como a produtividade de cada tratamento. Os resultados obtidos com a metodologia de exposição constante dos antagonistas aos herbicidas demonstraram que nenhum herbicida foi compatível com os agentes de controle biológico, reduzindo drasticamente suas funções, em especial a produção de conídios. Em relação a outra metodologia, pode-se observar que os herbicidas foram compatíveis com os fungos até um tempo máximo de 8 horas de exposição, exceto para o herbicida à base de Glifosato sal de di-amônio de N, que demonstrou ter propriedades fungicidas a partir de determinado tempo de exposição. Nos experimentos de campo executados nas safras de 2019/2020 e 2020/2021 observou-se que os melhores tratamentos em relação a incidência foram constituídos pela aplicação dos antagonistas em associação com o herbicida a base de Imazapique + Imazapir, resultando nas maiores reduções da incidência de mofo branco em relação a testemunha. Na safra de 2020/2021, os tratamentos que continham essa mistura também foram os mais produtivos. Portanto, ainda que os mecanismos de inibição de microrganismos pelos herbicidas sejam pouco conhecidos, foi constatado que os herbicidas utilizados possuem compatibilidade com os antagonistas, entretanto, a compatibilidade deve ser analisada com cautela, visto que alguns herbicidas começam a ser incompatíveis à medida que aumenta o tempo de exposição.

Palavras-chave: *S. sclerotiorum*. Controle biológico. Compatibilidade. Defensivos químicos. Antagonistas.

ABSTRACT

The white mold caused by the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary is considered a disease that is difficult to control due to the ability to produce a high amount of sclerotia. Among the alternatives for the integrated management of *S. sclerotiorum*, the use of biological control agents, mainly antagonists of the genus *Trichoderma*, is extremely important for the control of this disease. However, the use of chemical pesticides can act in an undesirable way in the development of the antagonist, reducing its action potential or causing its impracticability. Therefore, the object was to analyze the compatibility of the tank mixture between herbicides and commercial biological products based on the fungus *Trichoderma* spp. registered for the soybean crop. The commercial biological products used were based on *T. asperellum* and *T. harzianum*, while the commercial herbicides used were constituted by the active ingredients Haloxifope-p-methyl, Glyphosate N-ammonium salt, Fluasifope-p-butyl, Fomesafen, Chlorimuron ethyl and Imazapyc + Imazapyr. In order to determine the selectivity of herbicides to biocontrol agents, *in vitro* tests were carried out evaluating the rate of mycelial growth rate, production of conidia and the percentage of inhibition of mycelial growth of the antagonist in the presence of the herbicides. In determining the parameters, the constant exposure methodology and the methodology using different exposure times of the biological products in spray syrup with the herbicides were used, simulating the mixture in the tank that occurs at the producer level. In addition, the control of white mold in the field was evaluated according to the treatments, as well as the productivity of each treatment. The results obtained with the methodology of constant exposure of antagonists to herbicides showed that no herbicide was compatible with biological control agents, drastically reducing their functions, especially the production of conidia. In relation to another methodology, it can be observed that the herbicides were compatible with the fungi up to a maximum time of 8 hours of exposure, except for the Glyphosate-based herbicide of N-ammonium salt, which has shown to have fungicidal properties at after a certain exposure time. In the field experiments carried out in the 2019/2020 and 2020/2021 seasons, we can observe that the best treatments in relation to incidence were constituted by the application of antagonists in association with the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr, resulting in the greatest reductions in the incidence of white mold in relation to the witness. In the 2020/2021 season, the treatments that contained this mixture were also the most productive. Therefore, although the mechanisms of inhibition of microorganisms by herbicides are little known, it was found that the herbicides used are compatible with antagonists, however compatibility must be analyzed with caution, since some herbicides begin to be incompatible as the exposure time.

Keywords: *S. sclerotiorum*. Biological control. Compatibility. Chemical pesticides. Antagonists.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	11
1	INTRODUÇÃO	11
1.1	OBJETIVOS	12
1.1.1	Objetivo geral	12
1.1.2	Objetivos específicos	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Cultura da soja	14
2.2	Mofo branco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary)	15
2.3	Controle biológico	20
2.4	<i>Trichoderma</i> spp.	22
2.4.1	Parasitismo	24
2.4.2	Antibiose	25
2.4.3	Competição	26
2.4.4	Indução de resistência	28
2.5	Compatibilidade de <i>Trichoderma</i> spp. com defensivos químicos	28
2.5.1	Herbicidas	29
2.5.1.1	Inibidores da EPSPs	30
2.5.1.2	Inibidores da PROTOX	31
2.5.1.3	Inibidores da ALS	32
2.5.1.4	Inibidores da ACCase	32
	REFERÊNCIAS	34
	CHAPTER 2 HERBICIDES SELECTIVITY TO <i>Trichoderma</i> spp. USED IN THE CONTROL OF WHITE MOLD IN SOYBEAN CROP	49
1	INTRODUCTION	51
2	MATERIALS AND METHODS	52
2.1	<i>In vitro</i> tests	53
2.1.1	Obtaining and multiplying the inoculum	53
2.1.2	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sensitivity to herbicides	53
2.1.3	Sensitivity of <i>Trichoderma</i> spp. to herbicides	54
2.1.3.1	Biological control agent's constant exposure to herbicides assessment	55

2.1.3.2	Evaluation of biological control agent's exposure to herbicides at different incubation times.....	56
2.1.3.3	Mycelial growth and sporulation	57
2.1.4	Data analysis	58
2.2	<i>In-plant</i> tests.....	58
2.2.1	Evaluation of the efficiency of biological products in the control of <i>S. sclerotiorum</i> in mixture with herbicides, <i>in vivo</i>	58
2.2.2	Experimental Design and Treatments.....	60
2.2.3	Reviews	60
2.2.4	Data analysis	60
3	RESULTS AND DISCUSSION.....	61
3.1	<i>In vitro</i> tests	61
3.1.1	Sensitivity of <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> to the herbicides used	61
3.1.2	<i>In vitro</i> compatibility test between herbicides and biological products: constant exposure of biological control agents to herbicides.....	65
3.1.3	<i>In vitro</i> compatibility test between herbicides and biological products: exposure of biological control agents to herbicides at different exposure times.....	72
3.2	<i>In-plant</i> test: Evaluation of the efficiency of biological products in the control of <i>S. sclerotiorum</i> mixed with herbicides, <i>in vivo</i>	79
4	CONCLUSIONS.....	91
	REFERENCES	92
	ANNEX I	99
	ANNEX II.....	100

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

A soja é a principal cultura do agronegócio brasileiro, apresentando grande importância econômica para o país. A produção brasileira de soja na safra 2020/2021 foi estimada em um recorde de 133,7 milhões de toneladas, com aumento em área de 3,4% em relação à safra anterior, totalizando 38,2 milhões de hectares plantados. Já a exportação de soja foi estimada em 85,7 milhões de toneladas na safra 2020/2021. O Brasil é o maior exportador global de soja e se consolidou na safra 2019/2020 como maior produtor mundial do grão, seguido pelos EUA, e também o país que possui o maior potencial de expansão em área cultivada (CONAB, 2021).

Com o aumento do potencial produtivo da cultura da soja e seu cultivo em diversos ambientes, as doenças assumiram grande importância dentre os fatores restritivos de produção dessa oleaginosa. Entre as diversas doenças que ocorrem na cultura da soja, o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary) é uma das que apresentam alto potencial para causar prejuízo não só à soja, mas a várias outras culturas que compõem o sistema de produção (HENNING, 2009; MEYER; CAMPOS, 2009).

A aplicação de fungicidas foliares é uma das ações centrais do manejo da doença, devendo ser praticado com intuito de proteger as plantas da contaminação do patógeno, no período em que a cultura se encontra mais vulnerável, período esse, que vai desde o início da floração ou fechamento das entrelinhas até o início de formação de vagens (ALMEIDA *et al.*, 1997; MEYER *et al.*, 2018). Entretanto, apenas o manejo químico não está sendo suficientemente eficaz para o controle do mofo branco. Deste modo, o controle biológico de *S. sclerotiorum* surge como alternativa viável frente as dificuldades dos métodos tradicionais de controle da doença, já que este patógeno sobrevive no solo por um longo período de tempo sem plantas hospedeiras, através dos escleródios produzidos (FERNANDO *et al.*, 2007; POMELLA; RIBEIRO, 2009; SAHARAN; MEHTA, 2008).

No controle biológico de *S. sclerotiorum*, são realizadas, principalmente, aplicações de produtos à base de *Trichoderma* spp. Os fungos do gênero *Trichoderma* são agentes de controle biológico que exercem antagonismo a diversos fungos, por meio de competição, parasitismo e/ou antibiose, além de contribuírem para o crescimento das plantas e indução de resistência (BENITEZ *et al.*, 2004; GORGEN *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2015; TANCIC *et al.*, 2013; ZANCAN *et al.*, 2012).

Embora a utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp. possa contribuir com o manejo de mofo branco, a eficiência dessa prática é afetada por diferentes variáveis em condições de campo. Alguns defensivos químicos utilizados na agricultura, como fungicidas, inseticidas, herbicidas e algumas fontes de nutrientes, podem atuar de forma negativa sobre espécies de *Trichoderma*, afetando o crescimento micelial, os mecanismos de ação ou degradando metabólitos secundários (YEDIDIA *et al.*, 2002; BEGOUDE *et al.*, 2007; LUCON, 2009; WAGHUNDE *et al.*, 2016).

O tempo ideal para aplicar o controle biológico se dá no estágio de sobrevivência do patógeno, podendo ser simultâneo com a aplicação dos herbicidas, sendo este detalhe preponderante para a utilização do controle biológico por parte dos produtores, especialmente pela falta de informações suficientes para recomendações adequadas de mistura de tanque entre herbicidas e produtos biológicos à base de fungos que viabilizem a sobrevivência e ação do agente de controle biológico.

Com a finalidade de obter informações suficientes para recomendações adequadas de mistura em tanque entre herbicidas e *Trichoderma* spp., o objetivo foi avaliar a seletividade dos herbicidas utilizados na cultura da soja aos agentes de biocontrole *T. harzianum* e *T. asperellum* no controle do mofo branco.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Analisar a compatibilidade entre os principais herbicidas e produtos biológicos comerciais à base do fungo *Trichoderma* spp. registrados para a cultura da soja na mistura em tanque.

1.1.2 Objetivos específicos

- i. Identificar *in vitro* se ocorre incompatibilidade biológica na mistura entre os principais herbicidas registrados para a cultura da soja e os produtos biológicos à base de *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma harzianum*;
- ii. Verificar *in vitro* se há diferença de seletividade dos herbicidas aos antagonistas em relação as metodologias de exposição utilizadas;

- iii. Avaliar *in vitro* se os herbicidas comerciais utilizados têm efeito deletério sobre o crescimento micelial e produção de escleródios do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.
- iv. Avaliar a eficiência dos fungos *Trichoderma asperellum* e *Trichoderma harzianum* no controle do mofo branco nas condições do campo, aplicados juntamente com herbicidas na mistura em tanque.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura da soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill), é uma planta anual de porte herbáceo, autógama com cleistogamia, apresentando mecanismo de fixação de carbono do tipo C3, pertencente à família das Fabaceae e originária do leste da Ásia, mais precisamente no nordeste da China. Apontada como uma das culturas mais antigas e cultivada em diversas regiões do mundo, a soja é considerada uma das principais *commodities* agrícolas do Brasil, além da mais importante cultura oleaginosa, possuindo componentes alimentícios e outras propriedades valiosas para a dieta humana (ZHANG *et al.*, 2015; SEDIYAMA *et al.*, 2015).

Devido sua participação expressiva no contexto socioeconômico do país, a cultura da soja ocupa posição de destaque no cenário mundial. De acordo com a Conab (2018), a produção mundial está concentrada em apenas três países: EUA, Brasil e Argentina, que, juntos, respondem por aproximadamente 81% da produção e 90% da comercialização mundial.

A cultura da soja desenvolveu-se muito bem no Brasil, a partir de 1970, no Sul do país e, a partir dos anos 1990, no Centro-Oeste. Vários fatores viabilizaram esse avanço da soja no Brasil ao longo dos anos. Dentre os fatores destacam-se: a criação de variedades mais produtivas, estáveis e mais adaptadas às condições brasileiras; modernização da agricultura a partir de 1964, com a utilização de equipamentos que otimizaram o sistema de produção; alta expressiva da cotação da soja no mercado internacional, a partir de meados dos anos 70, tornando o produto competitivo no mercado internacional (exportação); práticas agrícolas que facilitam a produção, com destaque para a calagem e correção da fertilidade dos solos; aumento dos preços das *commodities*; estabelecimento de uma rede de pesquisa de soja articulada, inclusive no Centro-Oeste; substituição das gorduras animais, por óleos vegetais e; políticas públicas, como o crédito rural, que incentivaram sua produção (CAMPOS, 2010; GAZZONI; DALL'AGNOL, 2018).

Segundo projeções de Gasques, Souza e Bastos (2018) a área de soja deve aumentar 12,2 milhões de hectares, atingindo 46 Milhões de hectares em 2029/30, tornando-se a lavoura com maior expansão de área na próxima década. A produção de soja do Brasil deve atingir 158 milhões de toneladas em 2029/30. A demanda mundial de soja deve ultrapassar 700 milhões de toneladas em 2050, um crescimento superior a 100% em relação a produção atual (GAZZONI; DALL'AGNOL, 2018).

Entretanto, como em qualquer outra cultura, existem fatores que interferem nos níveis de produtividade da soja e na competitividade do produto brasileiro no mercado internacional. Podem ser citados os problemas impostos pela deficiência e/ou desequilíbrio na adubação, estresse hídrico, ataque de insetos-praga, infestação de plantas daninhas e, principalmente, os danos ocasionados pelas doenças (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004; TROMBINI, 2012).

A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições climáticas de cada safra. As perdas anuais de produção devido a incidência de fitopatógenos são estimadas em 15 a 20%, no entanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de até 100% (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005; HENNING *et al.*, 2009; TROMBINI, 2012).

2.2 Mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)

As doenças estão entre os principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos na cultura da soja, sendo que aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil. No entanto, esse número continua aumentando com a expansão da soja para novas áreas e como consequência da monocultura. A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições climáticas de cada safra (HENNING, 2009; VIDIC *et al.*, 2013).

Dentre todas as doenças, a podridão branca da haste, ou mofo-branco, inserida no grupo das doenças da haste, vagem e semente, vem ganhando importância no cenário de produção da soja. Em consequência dos prejuízos causados, é considerada a segunda doença mais importante na cultura (JULIATTI; JULIATTI, 2010). Estima-se que por volta de 27% da área destinada a produção de soja no país esteja infestada pelo fitopatógeno, resultando num total de mais de 10 milhões de hectares (CONAB, 2020; EMBRAPA, 2019), sendo que as perdas causadas na produtividade de grãos de soja podem chegar a 70% quando não controlada (HOMECHIN, 1982; MEYER *et al.*, 2013).

O mofo-branco é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, pertencente ao Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, Ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae (MASSOLA JÚNIOR; KRUGNER, 2011). A subdivisão Ascomycotina representa os fungos ascomicetos e se constitui no grupo mais numeroso de fungos. Sua característica básica é a formação de esporos sexuais, denominados de ascósporos dentro de uma estrutura em forma de saco, o asco, após o processo de meiose (KRUGNER; BACCHI,

1995). O micélio desse grupo de fungos é constituído por hifas hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas. A formação de escleródios é a característica mais marcante da ordem Helotiales, sendo que a família Sclerotiniaceae caracteriza-se pela produção de apotécios com estipe, a partir da germinação dos escleródios no ciclo sexual (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

O fungo *S. sclerotiorum* é um fitopatógeno de difícil controle devido suas características de reprodução e, principalmente, pela capacidade de sobrevivência através de estruturas especializadas, além de ser muito agressivo, cosmopolita, inespecífico e com grande número de hospedeiros (BOLAND; HALL, 1994). Estes fatos demonstram a grande versatilidade ecológica deste fungo e sua vasta adaptação a diferentes ambientes (PELTIER *et al.*, 2012).

Trata-se de um patógeno que vem apresentando ampla ocorrência em todo o mundo, podendo infectar mais de 600 espécies de plantas, dentre elas, monocotiledôneas e dicotiledôneas (PURDY, 1979; BOLAND; HALL, 1994; FARR; ROSSMAN, 2021). Infecta espécies economicamente importantes, como soja, feijão, algodão, canola, crotalária, girassol, batata, tomate, ervilha, alface, chicória, repolho, couve-flor, cenoura, dentre outras (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). Algumas plantas daninhas, como amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.), caruru (*Amaranthus deflexus* L.), corda de viola (*Ipomoea nil* (L.) Roth), erva-quente (*Borreria alata* Aubl.), fazendeiro (*Galinsoga parviflora* Cav.), guanxuma (*Sida rhombifolia* L.), picão preto (*Bidens pilosa* L.) e maria-mole (*Senecio brasiliensis* Less.), também foram relatadas como hospedeiras do patógeno (HOMECHIN, 1982; JULIATTI; JULIATTI, 2010).

O patógeno pode se propagar em uma área infectada, ou infectar novas áreas, devido a presença de solo e/ou material vegetal contaminado com escleródios aderidos em equipamentos agrícolas, animais e pessoas, além de ser propagado pelo vento, através dos ascósporos liberados pela formação do apotécio (ABAWI; GROGAN, 1979). Entretanto, o maior potencial de disseminação a longas distâncias ocorre através da contaminação das sementes com micélio dormente ou mesmo com a presença de escleródios (ADAMS; AYERS, 1979).

O fungo *S. sclerotiorum* produz estruturas de resistência denominados escleródios, que é uma estrutura composta por uma massa de hifas de consistência firme, e comumente arredondada, que desempenha papel importante na sobrevivência do patógeno pelo solo, durante a entressafra. O escleródio é constituído por uma parede grossa rica em melanina, responsável pela coloração negra dos escleródios, uma parede fina (córtex) e a medula branca, que é uma matriz fibrosa composta por carboidratos, células β -glucanos e proteínas, onde se encontra o micélio dormente do fungo. A melanina presente confere grande resistência as

intempéries meteorológicas e proteção contra agentes microbianos presentes no solo, protegendo o micélio dormente no seu interior, fazendo com que esses permaneçam viáveis no solo por períodos de 5 a 10 anos, mesmo na ausência de plantas hospedeiras (TOWNSEND; WILLETTS, 1954; COLEY-SMITH; COOKE, 1971; LE TOURNEAU, 1979; ADAMS; AYERS, 1979; NELSON, 1998).

O desenvolvimento do escleródio é dividido em 3 estágios: (i) iniciação (agregação de hifas para formar uma massa branca chamada de escleródio inicial); (ii) desenvolvimento (crescimento da hifa e aumento do tamanho do agregado) e; (iii) maturação (delimitação da superfície, deposição de células periféricas ricas em melanina e consolidação da medula interna). Diversos fatores nutricionais e ambientais influenciam o desenvolvimento completo dos escleródios. Em geral, escleródios são produzidos quando o crescimento micelial encontra um ambiente com restrição nutricional (TOWNSEND; WILLETTS, 1954; CHRISTIAS; LOCKWOOD, 1973; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Inúmeros escleródios podem se formar tanto no interior das plantas, aderidos nos vasos condutores do xilema, quanto externamente, fixados no caule e ramos, com tamanhos que podem chegar a alguns centímetros. As formas e dimensões dos escleródios variam em função do hospedeiro onde são produzidos (ADAMS; AYERS, 1979; PURDY, 1979; WILLETTS; WONG, 1980; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Logo após um período de maturação, com exposição à alta umidade no solo, luz suficiente e temperaturas amenas entre 10 a 25 °C, os escleródios podem germinar de forma miceliogênica ou carpogênica (ABAWI; GROGAN, 1979; SUN; YANG, 2000). A germinação miceliogênica ocorre sobre a superfície do solo, a partir do crescimento de hifas oriundas do escleródio, que atacam diretamente o tecido do hospedeiro, causando podridões no caule de plantas adultas (BARDIN; HUANG, 2001). O fungo não produz esporos a partir do micélio, mas são produzidos microconídios em hifas ou no himênio do apotécio, entretanto, estes microconídios não germinam, e sua função na biologia do fungo até agora é desconhecida (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

A distância entre os escleródios e a planta hospedeira para que ocorra a infecção é de no máximo 20 mm, sendo que a colonização da matéria orgânica como fonte de energia, para a formação do micélio e posterior infecção, é considerada o gatilho da germinação miceliogênica (ABAWI; GROGAN, 1979; FERREIRA; BOLEY, 1992; STEYN, 2015). Normalmente, alta umidade no solo e temperaturas moderadas entre 18 °C e 25 °C são adequadas para o desenvolvimento do micélio (COLEY-SMITH; COOKE, 1971; MORRAL, 1977; DOW; PORTER; POWELL, 1988; AGRIOS, 2005; SAHARAN; MEHTA, 2008).

Condições de umidade relativa do ar acima de 80% e temperaturas amenas entre 8 a 18 °C podem induzir a germinação carpogênica dos escleródios (ABAWI; GROGAN, 1975; MORRAL, 1977; PHILLIPS, 1986; HUANG; KOZUB, 1993). A germinação carpogênica começa com o desenvolvimento do micélio dormente na região do córtex esclerodial ou da medula. As células fúngicas crescem formando primórdios que rompem a camada externa do escleródio, e continuam crescendo formando os estipes, que se diferenciam em estruturas denominadas de apotécios, quando expostos à luz, especialmente luz ultravioleta (< 390 nm). Na formação de um apotécio, a ponta do estipe expande para formar uma superfície superior (himênio), dando origem ao aparecimento do apotécio, uma estrutura em forma de taça. No himênio se desenvolvem as ascas, nas quais ocorre recombinação sexual, produzindo ascósporos perfeitamente alinhados dentro e perto da ponta de cada asca. Nas ascas são produzidos oito ascósporos hialinos, elipsóides e binucleados (STEADMAN, 1983; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

A condição ideal no solo para a formação de apotécios ocorre quando a temperatura estiver entre 15,0 °C e 17,8 °C e a umidade for menor que 50% da capacidade de campo, por um período de 10 a 14 dias (CLARKSON *et al.*, 2003). Em condições favoráveis, cada apotécio pode produzir de 2 até 30 milhões de ascósporos. Esses ascósporos são liberados dos ascos de forma contínua, durante um período de até 10 dias com taxa de 1.600 esporos h⁻¹, sendo que a liberação dos mesmos ocorre durante o dia e a noite, havendo declínio quando a umidade relativa do ar atinge valores entre 65 e 75% (STEADMAN, 1983; VENETTE, 1998; CLARKSON *et al.*, 2003; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

A grande maioria dos ascósporos são depositados na área onde foram produzidos, no entanto, alguns podem ser dispersos por muitos quilômetros por meio de correntes de ar (WEGULO *et al.*, 2000). Os ascósporos ejetados podem infectar ramos, hastes, flores e vagens em plantas distantes em até 50 metros do apotécio, mostrando assim, o alto poder destrutivo da doença (STEADMAN, 1983). Apenas os escleródios presentes até 2 a 3 cm de profundidade no solo, são viáveis para a produção de apotécios (ABAWI; GROGAN, 1979).

Dependendo das condições ambientais, os ascósporos podem sobreviver no tecido da planta por até duas semanas. Tecidos senescentes ou necróticos servem como fonte de nutriente para iniciar a germinação do ascósporo dando origem à infecção micelial do hospedeiro (LUMSDEN, 1979; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006), entretanto, o ascósporo pode germinar na superfície de tecidos saudáveis, mas não pode infectar a planta sem uma fonte de nutriente exógeno e um filme de água. A fonte primária de nutrientes são as flores senescentes,

sendo a umidade, importante para colonização da flor e infecção do tecido sadio (INGLIS; BOLAND, 1990; TURKINGTON; MORRAL, 1993).

Embora os ascósporos sejam a principal causa de infecção, é comum a ocorrência de germinação de hifas a partir dos microporos do escleródio, desencadeando um novo ciclo da doença. A penetração do micélio na cutícula da planta hospedeira pode ser através da força mecânica via apressório, através da produção de enzimas ou pelo estômato. Durante a infecção, a produção de ácido oxálico pelo patógeno altera o funcionamento da célula guarda, causando abertura do estômato e avanço da invasão pela hifa. Posteriormente à formação de micélio no tecido, podem ocorrer infecções secundárias, atingindo outras plantas hospedeiras, bem como a formação de novos escleródios na superfície da planta (LUMSDEN; DOW, 1973; LUMSDEN, 1979; GUIMARÃES; STOTZ, 2004).

Durante a interação com a planta hospedeira, o patógeno *S. sclerotiorum* secreta diversas enzimas que permitem a maceração dos tecidos e degradação dos componentes da parede celular da planta. Além de alterar o funcionamento da célula guarda, o ácido oxálico altera o pH do meio, criando um ambiente no qual as enzimas de degradação produzidas pelo fungo são mais eficientes. A penetração e colonização do patógeno na planta hospedeira é facilitada pelo enfraquecimento da parede celular ocasionada pela hidrólise da pectina, além disso, essa hidrólise fornece ao fungo a fonte de carbono para dar origem ao crescimento. A *S. sclerotiorum* produz várias formas de enzimas pectinolíticas capazes de matar células vegetais, deteriorando os tecidos, indicando assim, uma função na patogênese (ABAWI; POLACH; MOLIN, 1975; ALGHISI; FAVARON, 1995).

A fase mais vulnerável da cultura da soja vai do início do florescimento (R2) ao início da formação de vagens e enchimento dos grãos (R3/R4). O patógeno é capaz de infectar qualquer parte da planta, porém, as infecções iniciam-se com mais frequência a partir das inflorescências, das axilas das folhas e dos ramos laterais. O fungo desenvolve no interior da haste, causando abortamento de vagens e sementes (GRAU; RADKE, 1984; BOLAND; HALL, 1987; NELSON; HELMS; OLSON, 1991; ALMEIDA *et al.*, 1997).

O patógeno pode colonizar os tecidos saudáveis das plantas num período de 16 a 24 horas após a infecção do tecido floral senescentes, em condições de alta umidade. Em condições de tempo seco, o progresso da doença pode ser paralisado ou retardado, mas será retomado quando as condições ambientais favorecerem o desenvolvimento do fungo (VENETTE, 1998).

Devido ao extravasamento do líquido celular após a degradação da parede celular e lamela média, os sintomas iniciais da infecção de *S. sclerotiorum* são lesões aquosas, seguidas por amplo desenvolvimento das hifas, formando um micélio cotonoso, de coloração branca a

castanha-amarelada, com a presença de escleródios pretos, de tamanho e forma irregulares sobre as lesões. Com o avanço da colonização do tecido vegetal, as lesões aquosas tornam-se secas, com aspecto descolorido e esbranquiçadas, não apresentando mais sinais externos (BOLAND; HALL, 1988; PURDY, 1979; BIANCHINI *et al.*, 2005; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; GÖRGEN, 2009).

S. sclerotiorum é um fungo necrotrófico com produção de escleródios, características que dificultam o controle do patógeno (FERNANDO *et al.*, 2007). No controle desta doença deve-se optar por realizar um manejo integrado, utilizando um conjunto de medidas para reduzir os danos causados pelo patógeno nas culturas de interesse econômico, sendo essas medidas de naturezas diversas, como o uso de controle genético, químico, cultural, físico e biológico (BEDENDO; AMORIM, 2011).

Portanto, deve-se fazer o possível para impedir a entrada do patógeno em áreas onde a doença ainda não foi observada, pois, uma vez presente, é muito difícil erradicá-lo. É essencial, o uso de sementes saudáveis, certificadas, de procedências conhecidas e tratadas com fungicidas recomendados e registrados para a cultura e a doença. Deve-se também proceder a limpeza minuciosa dos implementos agrícolas, principalmente no caso de terem sido utilizados em áreas onde a doença já tenha sido constatada, e evitar condições ambientais que favoreçam o desenvolvimento do patógeno (BARBOSA, GONZAGA, 2012).

2.3 Controle biológico

Backer e Cook (1983) definem o controle biológico de doenças como sendo a ação de um ou mais organismos que não o homem, na redução da soma de inóculo ou das atividades que acarretam a doença provocada por um patógeno, realizada naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas.

O controle biológico, ou biocontrole, pode ser de grande valia no manejo de doenças das lavouras comerciais, já que consegue atuar em algumas situações onde outros métodos de controle não atuam ou têm resultados muito limitados, sendo que o controle biológico pode conseguir resultados em algumas situações, em um curto período de tempo (BETTIOL, 2009). A utilização de antagonistas pode aumentar a eficiência do controle, reduzir a quantidade de defensivos químicos utilizados, e, conseqüentemente, reduzir o custo final de produção, além de minimizar os malefícios atribuídos a saúde do produtor e ao meio ambiente provindo da má utilização dos defensivos químicos. Porém, o sucesso do biocontrole depende da natureza das

propriedades antagonistas e dos mecanismos de ação do hiperparasita (MELO, 1998; GRIGOLETTI; SANTOS; AUER, 2000).

Os agentes de biocontrole podem atuar por meio de vários mecanismos de ação, sendo que os princípios desses mecanismos se baseiam em relações antagônicas como: competição, antibiose, predação, amensalismo, parasitismo ou resistência induzida. Uma característica ideal para um antagonista é apresentar mais de um mecanismo, pois as chances de sucesso do controle biológico serão aumentadas (BETTIOL; GHINI, 1995; GRIGOLETTI; SANTOS; AUER, 2000; AGRIOS, 2005). Os principais atributos de um bom agente de biocontrole são: eficácia em baixas concentrações, amplo espectro de ação, estabilidade genética, ausência de patogenicidade para a planta hospedeira, sobrevivência em condições ambientais adversas, requerimentos nutricionais simples, e ausência de produção de metabólitos potencialmente tóxicos para humanos (SPADARO; GULLINO, 2004; MEDEIROS *et al.*, 2012).

O controle biológico de *S. sclerotiorum* na cultura da soja é uma alternativa viável frente às dificuldades dos métodos tradicionais de controle da doença, já que este patógeno sobrevive no solo por um longo período de tempo sem plantas hospedeiras, através dos escleródios produzidos, bem como pela dificuldade de resistência genética da soja ao fungo, em função de ser uma característica governada por múltiplos genes (COLEY-SMITH; COOKE, 1971; FULLER; COYNE; STEADMAN, 1994; TU, 1989; BARDIN; HUANG, 2001; FERNANDO *et al.*, 2005).

Existem mais de 30 espécies de fungos e de bactérias com efeitos antagônicos ao gênero *Sclerotinia* spp., os quais parasitam escleródios e previnem sua formação, ou reduzem a germinação carpogênica acarretando uma redução do potencial de inóculo (MORETINI; MELO, 2007). Alguns exemplos de microrganismos com efeito antagônico à *S. sclerotiorum* encontrados na literatura são *Coniothyrium minitans* (ADAMS; AYERS, 1979; HUANG, 1980), *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Sporidesmium sclerotivorum* e *Bacillus subtilis* (DAVET, 1988; PHILLIPS, 1986; BUDGE *et al.*, 1995), *Bacillus amyloliquefaciens* (ABDULLAH; ALI; SULEMAN, 2008; ALVAREZ *et al.*, 2012), *Phoma nebulosa* (WHIPPS; BUDGE; MITCHELL, 1993), *Streptomyces lydicus* (ZENG *et al.*, 2012), *Ulocladium atrum* (HUANG; ERICKSON, 2007; FIGUEIRÊDO; FIGUEIRÊDO; NUNES, 2010), *Pseudomonas fluorescens* (ABHINAV *et al.*, 2011; AERON *et al.*, 2011).

No controle biológico de *S. sclerotiorum* são realizadas, principalmente, aplicações de produtos à base de *Trichoderma* spp. O bioagente tem como característica o micoparasitismo em escleródios pela penetração dos haustórios e secreção de enzimas líticas que causam a morte celular do patógeno (VÁZQUEZ-GARCIDUEÑAS; LEAL-MORALES; HERRERA-

ESTRELLA, 1998), ou então através do parasitismo de hifas, reduzindo a incidência e severidade na cultura e a uma menor produção de escleródios nas plantas (TRUTMANN; KEANE, 1990; INBAR; MENENDEZ; CHET, 1996; VRISMAN *et al.*, 2010). Ainda como ganho adicional, algumas espécies do gênero são capazes de promover crescimento e induzir resistência em diferentes culturas (MACHADO *et al.*, 2015).

2.4 *Trichoderma* spp.

O gênero *Trichoderma* são reconhecidamente os hiperparasitas mais importantes e mais estudados entre os fungos filamentosos para controle de fitopatógenos, pois exibe ampla variabilidade entre as linhagens com relação à atividade de biocontrole, espectro de ação contra hospedeiros, propriedades fisiológicas e bioquímicas, além de adaptabilidade ecológica e ambiental (SILVA, 2000; HARMAN, 2000, BETTIOL; GHINI, 2005; WIJESINGHE *et al.*, 2011; TRUSHINA *et al.*, 2013; FILHO *et al.*, 2008). O fungo *Trichoderma* spp. está distribuído mundialmente, estando adaptado aos mais diversos climas, embora mais frequentemente nos de regiões de clima temperado e tropical, associado às raízes das plantas e à matéria orgânica morta (HARMAN *et al.*, 2004).

Esse hiperparasita tem a fase sexuada no filo Ascomycota, Classe Euasmycetes, Ordem Hypocreales, Família Hypocreaceae, gênero *Hypocrea* (ROIGER; JEFFERS; CALDWELL, 1991; MONTE, 2001). Compreende fungos de vida livre, ubíquos, encontrados colonizando vários habitats, principalmente o solo, capazes de crescer em muitos substratos como materiais celulósicos decompondo resíduos vegetais bem como outros fungos (TOPOLOVEC-PINTARIC; ZUTIC; DERMIC, 2013; SCHUSTER; SCHMOLL, 2010; POMELLA; RIBEIRO, 2009).

Nas espécies de *Trichoderma* onde a fase sexuada é conhecida, ocorre a 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, esse fungo tem como característica morfológica, um micélio, inicialmente de coloração branca e de crescimento rápido. Com o desenvolvimento, o mesmo torna-se cotonoso e compacto, com tufo verde-escuro, devido a coloração e a quantidade de conídios. A partir do micélio vegetativo são formados conidióforos com um eixo central e ramificações laterais, que terminam em espirais divergentes de células conidiogênicas do tipo

fiálide. As fiálide têm forma de cantil com o centro dilatado e o ápice afilado, solitárias ou em grupos, hialinos, formando um ângulo com os conidióforos. Na ponta das fiálide são produzidos os típicos conídios unicelulares, esféricos, ovais ou alongados, com textura lisa ou rugosa e coloração hialina para verde-amarelado até verde-escuro, sendo a última, mais comum na maior parte das espécies. Os conidióforos são muito ramificados, geralmente são agregados em pústulas ou ‘tufos’ espalhados pela colônia, comumente em formato cônico ou piramidal. Normalmente mostram-se eretos, formando um ângulo reto com a hifa vegetativa (MELO, 1991; DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 2007; JAKLITSCH 2011, JAKLITSCH; VOGLMAYR, 2015).

O *Trichoderma* spp. têm sido utilizado como agente de biocontrole contra uma gama de patógenos foliares e patógenos do solo causadores de doenças em várias culturas (SIVAN; CHET, 1989; ELAD, 2000; PAULITZ; BÉLANGER, 2001; HOWELL, 2003; HARMAN, *et al.*, 2004), devido a seu amplo espectro de ação, propriedades físico-químicas e versatilidade na adaptação aos mais diversos ambientes (OUSLEY; LINCH; WHIPPS, 1994; SILVA, 2000). Entretanto, a utilização de *Trichoderma* para o controle biológico depende da sobrevivência do fungo no ambiente introduzido, ao sistema de cultivo utilizado, à época, dose e número de aplicações, bem como a compatibilidade com outras práticas culturais, para que resultados positivos possam ser alcançados (SILVA *et al.*, 2010).

Os agentes de biocontrole desse gênero são eficientes no controle de diferentes patógenos causadores de doenças em plantas, incluindo aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos. Entre os vários exemplos, cita-se *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Cylindrocladium* spp., *Armillaria* spp., *Colletotrichum* spp., *Venturia* spp., *Endothia* spp., *Rhizopus* spp., *Diaporthe* spp., *Botrytis* spp., *Poria monticola*, *Stereum purpureum* (OUSLEY; LINCH; WHIPPS, 1994; LARANJEIRA *et al.*, 1996; MELO, 1998; SILVA, 2000; GOMES; GRIGOLLET JUNIOR; AUER, 2001).

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).

2.4.1 Parasitismo

Uma das características mais relevantes do gênero *Trichoderma* é sua capacidade para parasitar fungos. Estudos ecofisiológicos demonstraram que, em maior ou menor escala, todas as espécies de *Trichoderma* são eficazes parasitas de fungos fitopatogênicos (DRUZHININA *et al.*, 2018). O parasitismo pode reduzir a infecção e o inóculo do patógeno agindo sobre estruturas vegetativas, reprodutivas e de sobrevivência. A penetração do micoparasita pode ocorrer por pressão mecânica e/ou por produção de inúmeras enzimas líticas degradadoras de parede celular (ELAD; CHET; HENIS, 1982; SIVAN; CHET, 1982; BETTIOL, 1991; BENÍTEZ *et al.*, 2004).

Este mecanismo de parasitismo apresenta-se como um processo complexo que envolve uma sequência de eventos, incluindo o reconhecimento, ataque, penetração e posterior morte do hospedeiro (HOWELL, 2003; HARMAN *et al.*, 2004; BENÍTEZ *et al.*, 2004). Inicialmente, o *Trichoderma* spp. promove uma desorganização na estrutura da parede celular do fitopatógeno e, conseqüentemente, um desequilíbrio osmótico interno, levando a uma retração da membrana plasmática e agregação no citoplasma (BENHAMOU; CHET, 1993).

As diversas espécies de *Trichoderma* têm a capacidade de produzir uma vasta gama de enzimas como: quitinases, β -N-acetilhexosaminidase, N-acetil- β -galactosaminidase, β -1,3-glucanase, β -1,6-glucanase, α -amilase, celulase, lipase, mananase, xilanase, urease, RNase, pectinase, pectinaliase, lacase, peroxidase e proteases (LORITO, 1998). As enzimas líticas de parede celular dos microrganismos são de extrema importância, pois conferem capacidade para o antagonista parasitar os fitopatógenos (MELO, 1996), sendo o nível e a diversidade de enzimas produzidas, variáveis de acordo com o isolado de *Trichoderma* e a fonte de carbono disponível para atividade das enzimas (EL-KATATNY *et al.*, 2000).

Pertencentes a um vasto grupo de glicosídeos, as quitinases ou enzimas quitinolíticas geralmente catalisam a degradação da quitina e agem frequentemente como endoquitinases, produzindo quito-oligossacarídeos de 2-6-N-acetilglicosamina (STINTZI *et al.*, 1993). Além disso, as quitinases podem exercer funções como indução de defesa em plantas contra

fitopatógenos, com as Proteínas Relacionadas com a patogênese, como a RP-3 (THEIS; STAHL, 2004).

Diversos microrganismos têm a capacidade de crescer sobre quitina, secretando quitinases para fazer a utilização da quitina como fonte de carbono (ZHANG *et al.*, 2000; ZHANG; YUEN, 2000; WANG *et al.*, 2002). Já no gênero *Trichoderma* as enzimas quitinolíticas têm sido encontradas em *T. harzianum*, *T. aureoviride*, *T. atroviride*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. viride*, *T. pseudokoningii*, *T. minutisporum*, *T. hamatum* e *T. reesei*, sendo que os maiores estudos são em *T. harzianum* (LORITO, 1998).

Em muitas situações o mecanismo de indução para a produção de quitinases por *Trichoderma* spp., é bastante especulado. A atividade quitinolítica pode ser induzida por estímulos específicos, como reconhecimento de lecitinas, contato com o substrato, formação de quitoooligômeros ou uma interação específica com outros microrganismos, ou por estímulos não-específicos, como luz, esporulação, estresse por falta de nutrientes ou antagonismo (LORITO, 1998).

Em conjunto com as enzimas quitinolíticas outro sistema enzimático importante é o das glucanases. As mesmas estão envolvidas na degradação de glucanas, homopolímeros de D-glicose ligados em a ou b configurações, que compõem a parede celular e polissacarídeos extracelulares de diversos microrganismos, sendo consideradas como potentes proteínas antifúngicas. O arsenal de enzimas β -glucanolíticas de *Trichoderma* consiste de endoglucanases e exoglucanases que catalisam sinergicamente a degradação de b-glucanas até oligômeros. As glucanases inibem a germinação de esporos ou o crescimento de fungos fitopatogênicos em sinergismo com as quitinases, além disso, as glucanases também participam dos processos de defesa das plantas, sendo a β -1,3 glucanase caracterizada como PR-2 dentro da planta (LINTHORST *et al.*, 1990; BENITEZ *et al.*, 1998; EL-KATATNY *et al.*, 2000; THEIS; STAHL, 2004).

2.4.2 Antibiose

O mecanismo de antibiose refere-se à produção de metabólitos antifúngicos, podendo ser definido como a interação entre microrganismos na qual metabólitos de baixo peso molecular são produzidos por um dos organismos e têm efeito danoso sobre o outro. Esses metabólitos podem atuar na inibição do crescimento ou germinação, e em nível celular, pela inibição das atividades do microrganismo, podendo ser letais (DENNIS; WEBSTER, 1971; BETTIOL, 1991; BENÍTEZ *et al.*, 2004).

Conforme a importância na participação do crescimento e reprodução dos microrganismos, os metabolitos produzidos pelos agentes de biocontrole podem ser divididos em primários e secundários. O gênero *Trichoderma* produz grande quantidade de metabólitos secundários, sendo uma parte deles compostos com ação antibiótica, com atividade antifúngica ou antibacteriana, podendo ser compostos voláteis ou não voláteis (HOWELL, 1998; SIVASITHAMPARAM; GHISALBERTI, 1998).

Os compostos antimicrobianos produzidos por cepas de *Trichoderma* spp. constituem uma das fontes de maior diversidade metabólica do Reino Fungi, pois, são milhares de compostos distribuídos em mais de 120 estruturas moleculares, com grande variedade e aplicação potencial (HOWELL, 1998; HERMOSA *et al.*, 2014). Dentre os metabólicos tóxicos não voláteis produzidos por *Trichoderma* spp. destacam-se o 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). Entre os mais estudados estão os peptaiboles, pequenos peptídeos não ribossômicos, poliquetídios, terpenos e pironas como a 6-pentil-2H-piran-2-ona (KUBICEK *et al.*, 2011; MUKHERJEE *et al.*, 2012). Na produção de metabolitos voláteis pode-se citar moléculas de etileno, cianeto de hidrogênio, acetaldeído, acetona, etanol e dióxido de carbono (TAMIMI; HUTCHINSON, 1975; CAMPBELL, 1989)

Muitos metabolitos secundários produzidos por *Trichoderma* têm atividade antifúngica *in vitro* frente a *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletrotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gaeumannomyces*, *Phytophthora*; *Pythium*, dentre outros microrganismos (LIFSHITZ; WINDHAM; BAKER, 1986; LUMSDEN *et al.*, 1992; WILHITE *et al.*, 1994; HOWELL, 1998; MELO; FAULL, 2000; VINALE *et al.*, 2008; REINO *et al.* 2008; HERMOSA *et al.*, 2014)

2.4.3 Competição

O mecanismo de competição pode ser entendido como a interação entre dois ou mais organismos empenhados por um mesmo requerimento ou recurso, de maneira que a utilização deste, por um deles, reduz a quantidade disponível para os outros. Estes requerimentos ou recursos podem ser nutrientes, oxigênio, espaço físico, luz, água, dentre outros, que no habitat se encontra em quantidade insuficiente para suprir a demanda biológica. A causa mais comum para a morte de microrganismos é a escassez de nutrientes, deste modo, a competição por nutrientes torna-se uma característica essencial para o controle biológico de fitopatógenos

(CHET; INBAR; HADAR, 1997; BETTIOL; GHINI, 2005; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

No processo de competição espera-se que o agente de biocontrole cresça de forma mais eficiente que os patógenos no local de infecção para que o controle seja adequado, portanto, todos os antagonistas capazes de produzir metabólitos com ação microbiana são também bons competidores (BETTIOL; GHINI, 2005).

Considerada um dos mais eficientes mecanismos de ação usados por *Trichoderma*, a competição está relacionada à capacidade desse antagonista em mobilizar e absorver prontamente os nutrientes à sua volta e de utilizar diferentes fontes. A presença de *Trichoderma* em solos naturais e agrícolas, em todas as partes do mundo, prova o quanto os fungos desse gênero são bons competidores por espaço e pelos recursos nutricionais. Os mesmos são encontrados em solos ou habitats naturais ricos em matéria orgânica, onde se comportam como excelentes decompositores de material vegetal e fúngico. Além disso, muitas espécies de *Trichoderma* mostram uma grande versatilidade metabólica que lhes permitem crescer, utilizando uma ampla gama de fontes de carbono e de nitrogênio (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

Durante este processo, o antagonista pode suprimir o crescimento da população do patógeno na rizosfera e, assim, reduzir o desenvolvimento da doença. A colonização da rizosfera das plantas é um ponto chave no mecanismo de competição, pois se o agente de biocontrole não tem capacidade de crescer na rizosfera, o mesmo não poderá competir por espaço e nutrientes (CHET; INBAR; HADAR, 1997; BENÍTEZ *et al.*, 2004; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). Além disso, várias espécies de *Trichoderma* se caracterizam por sua resistência a diferentes compostos tóxicos, não apenas àqueles produzidos e liberados pelas plantas em resposta ao ataque por patógenos, como também a vários agrotóxicos comumente utilizados na agricultura (CHET; INBAR; HADAR, 1997; BENÍTEZ *et al.*, 2004).

O mecanismo de defesa das plantas a fitopatógenos é através da geração de condições adversas, como a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que geram um estresse oxidativo, dificultando o acesso dos patógenos aos tecidos da planta hospedeira. Portanto, como as espécies de *Trichoderma* têm uma elevada capacidade de tolerar o estresse oxidativo, sendo que algumas cepas apresentam a particularidade de suportar altos níveis de ROS, que outros fungos não conseguem tolerar, o *Trichoderma* pode ser considerado um bom competidor na rizosfera da planta (MORÁN-DIEZ *et al.*, 2010).

Diversos fungos filamentosos capturam ferro, e quando este está pouco disponível no ambiente, os fungos podem secretar compostos de baixo peso molécula, conhecidos com

sideróforos (EISENDLE *et al.*, 2004). Algumas espécies de *Trichoderma* são eficientes produtores de sideróforos que capturam o ferro do ambiente, indisponibilizando o uso deste por outros fungos (CHET; INBAR, 1994). Além disso, esses sideróforos colaboram com a sobrevivência e melhora a competição de *Trichoderma* na rizosfera em baixas concentrações de ferro (MUKHERJEE; HORWITZ; KENERLEY, 2012).

2.4.4 Indução de resistência

Na indução de resistência, a planta responde à agressão dos patógenos por meio da produção de fitoalexinas, lignina adicional das células e compostos fenólicos. Essas respostas podem ocorrer também quando há contato com organismos não patogênicos ou isolados não virulentos do patógeno (HORSFALL; COWLING, 1980; BAILEY, 1985; VAN DRIESCHE; BELLOWS, 1996).

Frente ao ataque de fitopatógenos e condições edáficas e ambientais adversas, o *Trichoderma* estimula de forma sistêmica as defesas das plantas, sem a necessidade de estabelecer o contato direto com o invasor ou estar submetidas a um estresse prévio (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019). As plantas não percebem o *Trichoderma* como um inimigo, no entanto, para adquirir essa condição de ‘amizade’ com as plantas, o mesmo precisou desenvolver suas capacidades oportunistas, utilizar os exsudatos da raiz e superar as respostas iniciais de defesa das plantas (VARGAS; MANDAWAWE; KENERLEY, 2009; MORÁN-DIEZ *et al.*, 2012).

2.5 Compatibilidade de *Trichoderma* spp. com defensivos químicos

Embora a utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp. possa contribuir com o manejo de mofo-branco, a eficiência dessa prática é afetada por diferentes variáveis em condições de campo. Alguns fatores bióticos e abióticos podem influenciar seu estabelecimento e, conseqüentemente, seu potencial antagônico contra fitopatógenos em condições de campo (YEDIDIA *et al.*, 2002; BEGOUDE *et al.*, 2007; LUCON, 2009). Portanto, estudos sobre parâmetros fisiológicos e ambientais são essenciais para se estabelecer as melhores condições para o crescimento do agente de biocontrole, e, conseqüentemente, contribuir com sua eficácia contra fitopatógenos em condições de campo (HAJIEGHRARI *et al.*, 2008).

Alguns defensivos químicos utilizados na agricultura, como fungicidas, inseticidas, herbicidas e algumas fontes de nutrientes, podem atuar de forma negativa sobre espécies de

Trichoderma, afetando o crescimento micelial, os mecanismos de ação ou degradando metabólitos secundários (WAGHUNDE *et al.*, 2016). Contudo, outros defensivos químicos podem ser compatíveis sem afetar negativamente o crescimento, desenvolvimento, esporulação e a produção de metabólitos por espécies de *Trichoderma* (LOBO JUNIOR *et al.*, 2009). Portanto, como na literatura os resultados de compatibilidade de defensivos químicos com agentes de biocontrole são escassos, é importante a realização de testes *in vitro*, casa de vegetação e depois em campo, para comprovação da seletividade dos químicos sobre os bioagentes.

De acordo com Moino Júnior e Alves (1998), os estudos *in vitro* têm a vantagem de expor ao máximo o microrganismo à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição, protegendo o agente biológico. Assim, constatada a inocuidade de um agrotóxico em laboratório, não há dúvidas sobre a sua seletividade em condições de campo.

2.5.1 Herbicidas

A prática de controle de plantas daninhas na agricultura é de alta importância para a obtenção de rendimento significativos em qualquer cultivo agrícola. Os herbicidas são defensivos químicos utilizados visando eliminar ou impedir o crescimento de plantas que competem por água, luz, espaço físico e nutrientes com os cultivos de interesse, comprometendo seu crescimento, denominadas daninhas (CAMILO *et al.*, 2012).

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).

O uso de herbicidas também proporciona economia de trabalho e energia pela redução dos custos de colheita e de secagem de grãos, em função da eliminação das plantas daninhas. Além disso, esse método de controle possui flexibilidade quanto a época de aplicação, principalmente em áreas de grande extensão, onde o controle das plantas daninhas pode ser feito em etapas, adequando a demanda de trabalho ao maquinário, implementos e mão de obra disponíveis (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Embora os herbicidas visem o controle de plantas daninhas, podem afetar organismos não alvos, a exemplo dos fungos antagonistas, bem como influenciar no crescimento ou desenvolvimento de diversos fungos fitopatogênicos ou saprófitos do solo (ROSA *et al.*, 2010; PEIXOTO *et al.*, 2010). Além disso, os herbicidas podem aumentar ou diminuir a severidade das doenças devido a alterações metabólicas e fisiológicas que suas moléculas desencadeiam no metabolismo das plantas. Os mecanismos de defesa estão diretamente ligados a esses processos, pois, dependendo do ingrediente ativo, o acúmulo de fitoalexinas pode ser inibido ou estimulado, sendo elas consideradas um dos principais mecanismos de defesa das plantas, estando diretamente associada a prevenção da infecção por muitos patógenos (DUKE; CERDEIRA; MATALLO, 2006).

Na redução da intensidade das doenças fúngicas ocasionadas por herbicida, comumente ocorre a redução do crescimento micelial ou inibição da esporulação. Muitos dos efeitos provocados pelos herbicidas têm sido observados em campo, entretanto, essas observações não permitem determinar se o efeito é devido a interação direta herbicida-patógeno ou ao efeito indireto, tornando as plantas menos ou mais resistentes ao patógeno (RIZZARDI *et al.*, 2003; DUKE; CERDEIRA; MATALLO, 2006).

Ahmad e Malloch (1995) constataram aumento significativo na incidência de doenças ocasionadas por fitopatógenos de solo devido ao uso de herbicidas, em virtude da diminuição de 40% da população bacteriana, disponibilizando assim, mais nutrientes para os organismos causadores de doenças. De acordo com Araújo, Monteiro e Abarkelli (2003), a presença de glifosato no solo pode causar alterações na população microbiana.

2.5.1.1 Inibidores da EPSPs

A enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) é produzida no citoplasma, mas atua no cloroplasto catalisando a conversão de chiquimato-3- fosfato em 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato e fósforo inorgânico, utilizando fosfoenolpiruvato (PEP) como substrato. Os herbicidas inibidores da EPSPs competem com o PEP, ocasionando aumento na concentração de chiquimato nas plantas sensíveis, inibindo a síntese do corismato, que é o precursor dos aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano (RIZZARDI *et al.*, 2003; STEPHENSON *et al.*, 2006; TAN; EVANS; SINGH, 2006).

A inibição da enzima EPSPs interfere no controle de entrada de carbono na via do chiquimato, ocasionando um dreno considerável de carbono produzido na fotossíntese, acumulando chiquimato e reduzindo drasticamente a produção fotossintética de sacarose.

Assim, ocorre redução na eficiência fotossintética e inibição da síntese de aminoácidos aromáticos necessários para a produção de proteínas essenciais ao crescimento de plantas. Essas proteínas formam outros compostos essenciais, tais como hormônios, flavonoides, ácidos benzoicos e outros compostos aromáticos envolvidos em mecanismos de defesa da planta, além de serem requeridos na síntese de proteínas, vitaminas K e E, hormônios (auxina, etileno), antocianina, e vários outros metabólitos secundários (ROSS; CHILDS, 1996; CARVALHO, 2013).

Os herbicidas inibidores da EPSPs são amplamente utilizados no Brasil e pertencem ao grupo químico das Glicinas, sendo representado pelo princípio ativo glifosato. O glifosato é um herbicida ácido fraco muito solúvel em água e com baixa volatilidade, sendo utilizado somente em pós-emergência devido sua forte adsorção às partículas do solo, não apresentando efeito residual para ser usado com pré-emergente (ROSS; CHILDS, 1996). Este herbicida permanece no solo durante um tempo variável, dependendo da textura e conteúdo de matéria orgânica. A meia vida do glifosato tem uma faixa de 3 a 130 dias e pode ser degradado pelos microrganismos do solo, sendo também o ácido aminometilfosfônico e sarcosina, os produtos de degradação (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002; PLINE-SRNIC, 2006).

2.5.1.2 Inibidores da PROTOX

Este grupo é constituído por herbicidas cujo mecanismo de ação inibe a atuação da enzima protoporfirinogênio oxidase (PPO ou PROTOX), denominados também de inibidores da síntese do tetrapirrole ou inibidores da síntese de protoporfirina IX (OLIVEIRA JUNIOR, 2011). A enzima PROTOX está presente nos cloroplastos das plantas que oxida protoporfirrogênio para produzir protoporfirina IX, precursor da clorofila e de grupamentos heme (necessários para a transferência de elétrons) (MARKWELL *et al.*, 2006; JUNG; BACK, 2005).

Ao inibir a enzima PROTOX, ocorre o acúmulo de protoporfirinogênio no cloroplasto. Com isso, o protoporfirrogênio se difunde para o citoplasma, no qual ocorre uma oxidação, formando protoporfirina IX. No citoplasma, a protoporfirina IX atua como um composto fotodinâmico e interage com oxigênio (na presença de luz), levando-o ao estado singleto. Este processo acontece em um local onde a via biossintética dos tetrapirróis é ausente, portanto, o acúmulo deste metabólito causa a formação de O₂ no estado singleto na presença de luz, com a consequente geração de estresse oxidativo. Esse O₂ no estado singleto é responsável pela peroxidação de lipídeos nas membranas celulares. Lipídeos e proteínas são atacados e oxidados,

resultando em perda da clorofila e dos carotenóides e no rompimento das membranas (VIDAL, 1997; HESS, 2000; OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001; DEVINE; DUKE; FEDTKE, 1993; JUNG; KUK, 2003).

2.5.1.3 Inibidores da ALS

Os herbicidas inibidores da ALS atuam inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), também conhecida como acetoidroxiácido sintase (AHAS), que catalisa a condensação de dois piruvatos para formar o acetolactato, ou de um piruvato com 2-cetobutirato para produzir acetoidroxibutirato na rota de síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina (SHANER, 1991; HESS, 1994). A ação destes herbicidas ocorre pela inibição não competitiva dos herbicidas com o substrato, resultando no bloqueio da reação de formação dos aminoácidos (NICOLAI *et al.*, 2008). Estes tipos de herbicidas produzem geralmente aumento no conteúdo de aminoácidos livres similar ao que acontece com glifosato (SHANER, 1991).

Os herbicidas classificados neste mecanismo de ação constituem um dos mais importantes grupos de herbicidas atualmente comercializados, sendo amplamente utilizados, devido sua baixa toxicidade aos animais, à elevada seletividade das culturas, grande gama de plantas daninhas controladas e, principalmente, pela sua alta eficiência de controle mesmo em doses baixas (VARGAS; BORÉM; SILVA, 2001; TREZZI; VIDAL, 2001; ROMAN *et al.*, 2007; OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

A inibição da ALS resulta em suprimentos inadequados da cadeia de aminoácidos que leva à parada do crescimento da parte aérea, ao nanismo, ao amarelecimento das pontas, ao desenvolvimento de pigmentos púrpuras em folhas de dicotiledôneas, às bandas cloróticas em gramíneas, às nervuras vermelhas e à clorose internerval. As raízes ficam reduzidas em número e comprimento (ROSS; CHILDS, 1996).

2.5.1.4 Inibidores da ACCase

Os inibidores da ACCase também denominados de inibidores da síntese de lipídeos, ou inibidores da síntese de ácidos graxos, compreendem dois grupos químicos (ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas), que, embora quimicamente diferentes, apresentam grande semelhança em termos de espectro de controle, eficiência, seletividade e modo de ação (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Os herbicidas inibidores da enzima acetil-Coenzima A carboxilase (ACCase) caracterizam-se por inibir reversível e não competitivamente esta enzima, a qual apresenta papel fundamental na síntese de malonil-CoA, bloqueando, desta forma, a reação inicial da rota metabólica da síntese de lipídios (VIDAL, 1997). Esta enzima, encontrada no estroma dos plastídeos, converte acetil coenzima A (acetil co-A) à malonilcoenzima-A (malonil co-A), através da adição de CO_2 (HCO_3^-) à acetil co-A, no primeiro passo do processo de biossíntese dos ácidos graxos. A inibição da síntese de ácidos graxos bloqueia a produção de fosfolipídeos usados na construção de novas membranas necessárias para o crescimento celular (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Os ácidos graxos são constituintes das membranas celulares, atuando como invólucro de organelas e da própria célula, bem como de ceras e suberina da cutícula. Além disso, atuam na permeabilidade seletiva das membranas e no armazenamento de energia. Portanto, com a paralisação da síntese de ácidos graxos, ocorre a paralisação da síntese de membranas necessárias para o crescimento e multiplicação celular, reduzindo e paralisando o crescimento meristemático na base das folhas (CARVALHO, 2013).

Esses herbicidas são utilizados como pós-emergentes, primariamente para controle de gramíneas em culturas de folhas largas e possuem um alto grau de seletividade com pouca ou nenhuma atividade em folhas largas, são absorvidos pela folhagem e translocados no floema para as regiões meristemáticas (PETERSON *et al.*, 2001). A seletividade é baseada na diferença entre a forma de produção de proteínas em monocotiledôneas e dicotiledôneas. Os dois tipos de plantas possuem enzimas ACCase em seu citoplasma e cloroplastos. As dicotiledôneas possuem uma forma procariótica de enzima no cloroplasto (ACCase composta de várias subunidades) e a forma eucariótica (uniproteica) no citoplasma. As monocotiledôneas possuem apenas a forma eucariótica no citoplasma e no cloroplasto. Somente a produção da forma eucariótica é inibida, de forma que apenas as gramíneas são afetadas (ROSS; CHILDS, 1996; VIDAL, 1997).

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **The American Phytopathological Society**, [S.l.], v. 69, n. 8, 1979.
- _____. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, [S.l.], v. 65, p. 300-309, 1975.
- ABAWI, G. S.; POLACH, F. J.; MOLIN, W. T. Infection of bean by ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, [S.l.], v. 65, p. 673-678, 1975.
- ABDULLAH, M. T.; ALI, N.Y.; SULEMAN, P. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, [S.l.], v. 27, p.1354–1359, 2008.
- ABHINAV, A. *et al.* Multifarious activity of bioformulated *Pseudomonas fluorescens* PS1 and biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* in Indian rapeseed (*Brassica campestris* L.). **European Journal of Plant Pathology**, [S.l.], v. 131, p. 81–93, 2011.
- ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, [S.l.], v. 69, n. 8, p. 896-898, 1979.
- AERON, A.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K.; PANDEY, P.; BAJPAI, V. K.; KANG, S. C. Multifarious activity of bioformulated *Pseudomonas fluorescens* PS1 and biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* in Indian rapeseed (*Brassica campestris* L.). **European Journal of Plant Pathology**, [S.l.], v. 131, n. 1, p. 81–93, 2011.
- AGRIOS, G. **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 2005. 952 p.
- AHMAD, I.; MALLOCH, D. Interaction of soil microflora with the bioherbicide phosphinothricin. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S.l.], v. 54, n. 3, p. 165-174, 1995.
- ALGHISI, P.; FAVARON, F. Pectin-degrading enzymes and plant parasite interactions. **European Journal Plant Pathology**, Berlin. v. 101, p. 365-375, 1995.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja. *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. Vol. 2. Cap. 61, p. 642–664.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F.V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C. Doenças da soja. *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. Doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 2005. p. 569-588.

- ALVAREZ, F.; CASTRO, M.; PRÍNCIPE, A; BORIOLI, G; FISCHER, S.; MORI, G.; JOFRÉ, E. The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP2 18 and ARP2 3 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot disease. **Journal of applied microbiology**, [S.l.], v. 112, n. 1, p. 159–74, 2012.
- AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R. dos; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, [S.l.], v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELLI, R. B. Effect of Glyphosate on the Microbial Activity of Two Brazilian Soils. **Chemosphere**, [S.l.], v. 52, p. 799-804, 2003.
- BACKER, K. F.; COOK, R. J. Biological Control of Plant Pathogens. 1974. In: COOK, R. J.; BACKER, K. F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1983.
- BAILEY, J. A. (Ed). **Biology and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions**. Berlin, German: Springer-Verlag, 1985.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. p. 110-114.
- BARDIN, S. D.; HUANG, H. C. Research on biology and control of Sclerotinia diseases in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, [S.l.], v. 23, n. 1, p. 88-98, 2001.
- BEDENDO, I. P; AMORIM, L. Ambiente e Doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. V. 2, p.133-147.
- BEGOUDE, B. A. D.; LAHLALI, R.; FRIEL, D.; TONDJE, P. R.; JIJAKLI, M. H. Response surface methodology study of the combined effects of temperature, pH, and aw on the growth rate of *Trichoderma asperellum*. **Journal of Applied Microbiology**, [S.l.], v. 103, n. 4, p. 845-854, 2007.
- BENHAMOU, N.; CHET, I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold citochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology**, [S.l.], v. 83, n. 10, p. 1062-1071, 1993.
- BENÍTEZ, T. *et al.* Glucanolytic and other enzymes and their genes. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (Ed.) **Trichoderma & Gliocladium**. London: Taylor & Francis, 1998. p.101-128.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BETTIOL, W. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.

- 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.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. V. 2, Cap. 37. p. 333-349.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Epidemiology of *Sclerotinia* stem rot of soybean in Ontário. **Phytopathology**, v. 78, p. 1241 – 1245, 1988.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. **Plant Disease**, [S.l.], v. 71, n. 10, p. 934-936, 1987.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plants of hostes *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Pathology**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 93-108, 1994.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, [S.l.], n. 7, v. 11, p. 1-16, 2006.
- BUDGE, S. P.; MCQUILKEN, M. P.; FENLON, J. S.; WHIPPS, J. M. Use of *Coniothyrium minitans* and *Gliocladium virens* for Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce. **Biological Control**, [S.l.], v. 5, p. 513-522, 1995.
- CAMILO, S. S.; SOARES, M. A.; SANTOS, J. B. dos; ASSIS JÚNIOR, S. L. de; FERREIRA, E. A.; MENEZES, C. W. G. de. Impactos toxicológicos de herbicidas recomendados para a cultura do milho em ninfas do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Herbicidas**, [S.l.], v. 11, n. 3, p. 339-346, 2012.
- CAMPBELL, R. **Biological Control of Microbial Plant Pathogens**. Bristol, UK: Department of Botany, 1989, 218 p.
- CAMPOS, M. C. Fatores da expansão do complexo sojicultor no território Brasileiro. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros**, [S.l.], v. 7, n. 11, p. 1-28, 2010.
- CARVALHO, L. B. de. **Herbicidas**. Lages-SC: Do Autor, 2013. 72 p.
- CHET, I.; INBAR, J. Biological Control of fungal pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.l.], v. 48, p. 37-43, 1994.

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.

CHRISTIAS, C.; LOCKWOOD, J. L. Conversion of mycelial constituents in four sclerotium-forming fungi in nutrient deprived conditions. **Phytopathology**, [S.l.], v. 63, p. 602-605. 1973.

CLARKSON, J. P.; STAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C. S.; WHIPPS, J. M. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**. [S.l.], v. 107, p. 213-222, 2003.

COLEY-SMITH, J. R.; COOKE, R. C. Survival and germination of fungal sclerotia. **Annual Review of Phytopathology**, [S.l.], v. 9, n. 80, p. 65–92, 1971.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v. 7, safra 2019/20, n. 8 - oitavo levantamento. Brasília, DF, 2020.

_____. **Acompanhamento safra brasileira grãos**, v. 8, safra 2020/21, n. 4 - quarto levantamento. Brasília, DF. p. 1-85, janeiro de 2021.

_____. **Mercado Internacional**. 2018. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-soja/item/download/22986_8d53586a30e1138938f849c71e00440d. Acesso em: 20 jan. 2021.

DAVET, P. Criteria for selecting *Trichoderma* clones antagonistic to sclerotial fungi in soil. **Bulletin OEPP**, [S.l.], v. 17, p. 535-540, 1988.

DENNIS C, WEBSTER J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotic. **Transactions British Mycological Society**, [S.l.], v. 57, p. 25-39, 1971.

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. **Physiology of herbicide action**. New Jersey: PTR Prentice Hall, 1993. 441 p.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. 2nd ed. Eching: IHW-Verlag, 2007. 672 p.

DOW, R. L.; PORTER, D.M.; POWELL, N. L. Effect of environmental factors on *Sclerotinia* minor and *Sclerotinia* blight of peanut. **Phytopathology**, [S.l.], v. 78, p. 672-676, 1988.

DRUZHININA, I. S. *et al.* Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, [S.l.], v. 14, n. 4, e1007322, 2018.

DUKE, S. O.; CERDEIRA, A. L.; MATALLO, M. B. Uso de herbicidas e seus efeitos em doenças vegetais. **Informações Agrônomicas**, [S.l.], n. 115, p. 1-4, 2006.

EISENDLE, M.; OBEREGGER, H.; BUTTINGER, R.; ILLMER, P.; HAAS, H. Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the Pac mediated ambiente pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*. **Eukarotic Cell**, [S.l.], v. 3, p. 561-563, 2004.

ELAD, Y. Biological Control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protection**, [S.l.], v, 19, p. 709-714, 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-KATATNY, M. H. A.; SOMITSCH, W. ROBRA, K. H.; EL-KATATNY, M. S. GUBITZ, G. Production of chitinase and β -1,3-glucanase by *Trichoderma harzianum* for control of the phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. **Food Technology and Biotechnology**, [S.l.], v. 38, n. 3, p. 173-180, 2000.

EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Soja em números (safra 2018/19)**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 15 dez. 2020.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases**, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved January 26, 2021.

FERNANDO, W. G. D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y.; SAVCHUK, S. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. **Crop Protection**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 100-107, 2007.

FERNANDO, W. G. D.; RAMARATHNAM, R.; KRISHNAMOORTHY, A. S.; SAVCHUK, S. C. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. **Soil Biology and Biochemistry**, [S.l.], v. 37, n. 5, p. 955-964, 2005.

FERREIRA, S. A.; BOLEY, R. A. *Sclerotinia sclerotiorum*. Hawaii: Crop Knowledge Master, 1992.

FIGUEIRÊDO, G. S. DE; FIGUEIRÊDO, L. C. DE; NUNES, F. C. Biological and Chemical Control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. and *Ulocladium atrum* and Pathogenicity to Bean Plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S.l.], v. 53, n. February, p. 1-9, 2010.

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

FULLER, P. A.; COYNE, D. P.; STEADMAN, J. R. Inheritance of resistance to white mold disease in a diallel cross of dry beans (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Crop Science**, [S.l.], n. 24, p. 929-933, 1984.

GASQUES, J. G.; SOUZA, G. S.; BASTOS, E. T. **Brasil: Tendências do Agronegócio 2017-30**. Cátedra Luiz de Queiróz: ESALQ, 2018.

GAZZONI, D.L.; DALL'AGNOL, A. **A saga da soja** – de 1050 a.C a 2050 d.C. Brasília: Embrapa, 2018. 199 p.

GOMES, N. S. B.; GRIGOLLET JUNIOR, A.; AUER, C. G. Seleção de antagonistas para controle de *Cylindrocladium spathulatum* em erva mate. **Bol. Pesq.**, [S.l.], v. 43, n. 1, p. 123-128. 2001.

GÖRGEN, A. C.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JÚNIOR, M. Controle do mofo branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.l.], v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

GRAU, C. R.; RADKE, V. L. Effects of cultivars and cultural practices on sclerotinia stem rot of soybean. **Plant Disease**, [S.l.], v. 68, n. 1, p. 56-58, 1984.

GRIGOLETTI, J. R. A.; SANTOS, A. F. dos; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, [S.l.], v. 30, p. 200, 2000.

GUIMARÃES, R. L.; STOTZ, H. U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 136, p. 3703-3711, 2004.

HAIJIEGHRARI, 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.

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.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species--opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews Microbiology**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

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

HENNING, A. A. Manejo de doenças na soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo Abrates**, [S.l.], v. 19, p. 9-12, 2009.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 4 ed. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2009. 74 p.

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. (Eds.). **Biotechnology and biology of *Trichoderma***. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.

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

- HESS, F. D. Mechanism of action of inhibitors of amino acid biosynthesis. *In: Herbicide action course*. Summary of lectures. West Lafayette: Purdue University, 1994. p. 10-23.
- HOMECHIN, M. Plantas daninhas hospedeiras de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 472, 1982.
- HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. **Plant Disease: An Advanced Treatise**. How Diseases Develop in Populations. New York: Academic Press, 1980. V. 2.
- 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.
- HOWELL, C. R. The role of antibiosis in biocontrol. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (Ed.) *Trichoderma & Gliocladium*, London: Taylor & Francis, 1998. v. 2, p.173-184.
- HUANG, H. C. Control of *Sclerotinia* wilt of sunflowers by hiperparasites. **Canadian Journal of Plant Pathology**, [S.l.], v. 2, p. 26-32, 1980.
- HUANG, H. C.; ERICKSON, R. S. *Ulocladium afromum* as Biological Control agent for white mold of bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytoparasitica**, [S.l.], v. 35, p.15– 22, 2007.
- HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Influence of inoculum production temperature on carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Microbiology**, [S.l.], v. 39, p. 548-550, 1993.
- INBAR, J.; MENENDEZ, A. N. A.; CHET, I. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in Biological Control. **Soil Biology and Biochemistry**, [S.l.], v. 28, n. 6, p. 757–763, 1996.
- INGLIS, G. D.; BOLAND, G. L. The microflora of bean and rapeseed petals and the influence of the microflora of bean petals on white mold. **Canadian Journal Plant Pathology**, [S.l.], v. 12, p. 129-134, 1990.
- 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**, [S.l.], 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**, [S.l.], v. 80, p. 1-87, 2015.
- JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F.C. **Podridão branca da haste da soja: manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção**. Uberlândia: Composer, Gráfica e Editora, 2010. 33 p.
- JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. P.; JULIATTI, F. C. A. **Manejo integrado de doenças na cultura da soja**. Uberlândia: EDUFU, 2004. 327 p.

- JUNG, S.; BACK, K. Herbicidal and antioxidant responses of transgenic rice overexpressing *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase. **Plant Physiology Biochemistry**, [S.l.], v. 43, n. 5, p. 423-430, 2005.
- JUNG, S.; KUK, Y. I. The expression level of a specific catalase isozyme of maize mutants alters catalase and superoxide dismutase during norflurazon-induced oxidative stress oxidative stress in *Scutella*. **Journal of Pesticide Science**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 287-292, 2003.
- KRUGNER, T. L.; BACHI, L. M. A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. Cap.19, p. 46-95.
- KUBICEK, C. P. *et al.* Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, [S.l.], v. 12, n. 4, R40, 2011.
- LARANJEIRA, D.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES, M.; NEVES, R. Efeito de diferentes substratos na esporulação de espécies de *Trichoderma*. **Summa Phytopathologica**, [S.l.], v. 22, p. 178-181, 1996.
- LE TOURNEAU, D. Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, [S.l.], v. 69, p. 887-890, 1979.
- LI, R.; FENG, C.; PANG, G.; SHEN, Q.; CHEN, W. Solubilization of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relations with the Promotion of Tomato Plant Growth. **PLOS One**, [S.l.], v. 25, p. 1-16, 2015.
- LIFSHITZ, R.; WINDHAM, M. T.; BAKER, R. Mechanism of Biological Control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, [S.l.], v. 76, p. 720-725, 1986.
- LINTHORST, H. J. M.; MELCHERS, L.S.; MAYER, A.; VAN ROEKEL, J. S. C.; CORNELISSEN, B. J. C.; BOL, J. F. Analysis of gene families encoding acidic and basic *b*-1,3 glucanases of tobacco. **Proceeding of National Academy of Science of USA**, [S.l.], v. 87, p. 8756-8760, 1990.
- LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A.; DE CARVALHO, D. D. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. Embrapa Arroz e Feijão. (Circular Técnica, 85).
- LORITO, M. Chitinolytic enzymes and their genes. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (Ed.) ***Trichoderma & Gliocladium*** London: Taylor & Francis, 1998. p. 73-100.
- LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** São Paulo: Instituto Biológico/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal. 2009. (Comunicado Técnico, 94) 8 p.
- LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in Plant Diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, [S.l.], v. 69, p. 890-896, 1979.

- LUMSDEN, R. D. LOCKE, J. C.; ADKINS, S. T.; WALTER, J. F. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill soil and soilless media. **Phytopathology**, v. 82, p. 230-235, 1992.
- LUMSDEN, R. D.; DOW, R. L. Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of bean. **Phytopathology**, v. 63, p. 708-715, 1973.
- MACHADO, D.F.M.; TAVARES, A.P.; LOPES, S.J.; SILVA, A.C.F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015.
- 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/>. Acesso em: 24 jan. 2021.
- MASSOLA JUNIOR, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos fitopatogênicos. In: **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos** [S.l: s.n.], 2011.
- MEDEIROS, F. H. V.; MARTINS, S. J.; ZUCCHI, T. D.; MELO, I. S. de; BATISTA, L. R.; MACHADO, J. da C. Biological Control of mycotoxin-producing molds. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 483-497, 2012.
- MELO, I. S. **Agentes Microbianos de controle de fungos fitopatogênicos**. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Controle Biológico**, Jaguariúna: EMBRAPA, v.1, 1998.
- 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.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de planta. In: LUZ, W. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MELO, I. S.; FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* sp. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, 2000.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D. Guerra ao mofo. **Cultivar Grandes Culturas**, [S.l.], v. 11, n. 120, p. 16-18, 2009.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEII, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P. da; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S. (Ed.). **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina, PR: Embrapa Soja, julho 2018. (Circular Técnica 140).
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; NUNES JUNIOR, J.; VENANCIO, W. S.; GODOY, C. V. Chemical control of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) on soybean in Brazil. **Acta Phytopathologica Sinica**, [S.l.], v. 43, p. 137, 2013.
- MOINO JÚNIOR., A.; S. B. ALVES. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de

limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **An. Soc. Entomol**, [S.l.], v. 27, p. 611-620, 1998.

MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.

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.

MORÁN-DIEZ, E.; RUBIO, B.; DOMÍNGUEZ, S.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Physiology**, [S.l.], v. 169, n. 6, p. 614-620, 2012.

MORETINI, A.; MELO, I.S. Formulação do fungo *Coniothyrium minitans* para controle do mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.l.], v. 42, p. 155-161, 2007.

MORRAL, R. A. A. A preliminary study of the influence of water potential on sclerotium germination in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Botany**, [S.l.], v. 55, p. 8-11, 1977.

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.

NELSON, B. Biology of *Sclerotinia*. In: **Proceedings of the sclerotinia workshop**. 1998.

NELSON, B. D.; HELMS, T. C.; OLSON, M. A. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, [S.l.], v. 75, n. 7, p. 662-665, 1991.

NICOLAI, M. *et al.* Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS (Grupo B). In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Orgs.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3. ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 35-49.

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.

OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. **Biology and Fertility of Soils**, [S.l.], v. 17, p. 85–90, 1994.

- PANG S. S.; DUGGLEBY, R. G. Expression, purification, characterization, and reconstitution of the large and small subunits of yeast acetohydroxyacid synthase. **Biochemistry**, [S.l.], v. 38, n. 16, p. 5222-5231, 1999.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. **Annual Review Phytopathology**, [S.l.], v. 53, p. 23-54, 1985.
- PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R. R. Biological Control in greenhouse systems. **Annual Review Phytopathology**, [S.l.], v. 39, p. 103-133, 2001.
- 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.
- PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012.
- PETERSON, D. E.; THOMPSON, C. R.; REGEHR, D. L.; AL-KHATIB, K. **Herbicide mode of action**. Topeka: Kansas State University, 2001. 24 p.
- PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, [S.l.], v. 19, p. 279-283, 1986.
- PLINE-SRNIC, W. Physiological mechanisms of glyphosate resistance. **Weed Technology**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 290-300, 2006.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 238–244.
- PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology**, [S.l.], v. 69, n. 8, p. 875- 880. 1979.
- REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, [S.l.], v. 7, p. 89-123, 2008.
- RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT JR, A. A. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, [S.l.], v. 33, n. 5, p. 957-965, 2003.
- ROIGER, T. C.; JEFFERS, S. N.; CALDWELL, R. W. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soil. *Soil Biology and Biochemistry*. **Britain**, [S.l.], v. 43, n.4, p. 353- 359, 1991.
- ROMAN, E. S. *et al.* **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2007. 160 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.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. New Delly: Springer Science, 2008. 550 p.

SCHUSTER, A, SCHOMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 87, n. 3, p. 787–99, 2010.

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (eds.) **Soja: do plantio a colheita**. Viçosa: UFV MG, 2015.333 p.

SHANER, D. L. Physiological effects of imidazolinone herbicides. In: SHANER, D.L.; O'CONNOR, S.L. (Eds.). **The Imidazolinone Herbicides**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 129- 137.

SILVA, J. I. C.; FERNANDES, D. M.; PEREIRA, M. R. R.; LÉLES, E. P.; PEREIRA, F. R. da S.; CRUZ, S. C. S. Interferência do hipoclorito de sódio na absorção de macro e micronutrientes nas culturas da soja e do feijão. **Bioscience Journal**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 257-265, 2010.

SILVA, P. R. Q. **Transformação de *Trichoderma harzianum* com os genes da proteína fluorescente verde e de resistência ao fungicida benomil**. 2000. 120 p. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 200. 130 p.

SIVAN, A.; CHET, I. Biological Control of *Pythium* by *Trichoderma*. **Phytoparasitica**, [S.l.], v. 10, p. 118, 1982.

SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, [S.l.], v. 79, p. 198-203, 1989.

SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: KUBICEK, C. P.; HARMAN, G. E. (Ed.). **Trichoderma & Gliocladium**. London: Taylor & Francis, 1998. p. 139-192.

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. State of the art and future prospects of Biological Control of postharvest fruit diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, p. 185-194, 2004.

STEADMAN, J. R. White mold – a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, [S.l.], v. 67, p. 346-350, 1983.

STEPHENSON, G. R.; FERRIS, I. G.; HOLLAND, P. T.; NORDBERG, M. Glossary of terms relating to pesticides (IUPAC Recommendations 2006). **Pure and Applied Chemistry**, [S.l.], v. 78, n. 11, p. 2075-2154, 2006.

STEYN C. **Soybean response to rust and Sclerotinia stem rot under different biotic and abiotic conditions [thesis]**. Bloemfontein: University of the Free State, 2015.

STINTZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V.; WIEDEMANN-MERDINOGLU, S.; KAUFFMANN, S.; GOEFFROY, P. Plant ‘pathogenesis related’ proteins and their role in defense against pathogens. **Biochemie**, [S.l.], v. 75, n. 8, p. 687-706, 1993.

SUN, P.; YANG, X. B. Light, temperature, and moisture effects on apothecium production of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, [S.l.], v. 84, p. 1287–1293, 2000.

TAMIMI, K. M.; HUTCHINSON, S. A. Differences between the biological effects of culture gases from several species of *Trichoderma*. **Transactions of the British Mycological Society**, [S.l.], v. 64, pt. 3, p. 455-463, 1975.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicidetolerant crops. **Amino Acids**, [S.l.], v. 30, n. 2, p. 195-204, 2006.

TANCIC, S.; SKROBONJA, J.; LALOSEVIC, M.; JEYTIC, R.; VIDIC, M. Impact of *Trichoderma* spp. on Soybean Seed Germination and Potential Antagonistic Effect on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesticides and Phytomedicine**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 181-185, 2013.

THEIS, T.; STAHL, U. Antifungal proteins: targets, mechanisms and prospective applications. **Cell Molecular Life Science**, [S.l.], v. 61, n. 4, p. 437-455, 2004.

TOPOLOVEC-PINTARIC, S, ZUTIC, I, DERMIC, E. Enhanced growth of cabbage and red beet by *Trichoderma viride*. **Acta agriculturae Slovenica**, [S.l.], v. 101, n. 1, p. 87–92, 2013.

TOWNSEND, B. B.; WILLETTS, H. J. The development of sclerotia in certain fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, [S.l.], v. 37, n. 3, p. 213-221, 1954.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da ALS. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO Jr., A. (Eds.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: Evangraf, 2001. p. 138-148.

TROMBINI, L. **Sanidade Vegetal: Manejo de doenças na cultura da soja**. Portal Dia de Campo, Informação que produz. 2012. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23571&secao=Sanidade%20Vegetal>. Acesso em: 01 dez. 2020.

TRUSHINA, N.; LEVIN, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A. Pac and pH-dependent transcriptome of the mycotrophic fungus *Trichoderma virens*. **BMC Genomics**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 138, 2013.

TRUTMANN, P.; KEANE, P. J. *Trichoderma koningii* as a Biological Control agent for *Sclerotinia sclerotiorum*. **Soil Biology and Biochemistry**, [S.l.], v. 22, p. 43–50, 1990.

TU, J. C. Management of White Mold of White bean in Ontario. **Plant Disease**, [S.l.], v. 73, p. 281-285, 1989.

TURKINGTON, T. K.; MORRAL, R. A. A. Use of petal infestation to forecast Sclerotinia stem rot canola: the influence of inoculum variation over the flowering period and canopy density. **Phytopathology**, [S.l.], v. 83, p. 682-68, 1993.

VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWS, J. R. T. S. **Biological Control**. London: Chapman & Hall, 1996. 539 p.

VARGAS, L.; BORÉM, A.; SILVA, A. A. Herança da resistência aos herbicidas inibidores da ALS em biótipos da planta daninha *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, [S.l.], v. 19, n. 3, p. 331-336, 2001.

VARGAS, W. A.; MANDAWA, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.

VÁZQUEZ-GARCIDUEÑAS, S., LEAL-MORALES, C. A., HERRERA-ESTRELLA, A. Analysis of the beta-1,3-Glucanolytic system of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Appl. Environ. Microbiol.**, [S.l.], v. 64, n. 4, p. 1442-1446, 1998.

VENETTE, J. Sclerotinia spore formation, transport, and infection. *In: Proceedings of the sclerotinia*. Workshop. North Dakota State University. 21 de janeiro de 1998. Fargo North Dakota. USA.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997. 165 p.

VIDIC, M.; DORDEVIC, V.; PETROVIC, K.; MILADINOVIC, J. Review of soybean resistance to pathogens. **Field and Vegetable Crops Research**, [S.l.], v. 50, n. 2, p. 52- 61, 2013.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [S.l.], v. 72, p. 80-86, 2008.

VRISMAN, C. M.; JACCOUD FILHO, D. S.; MANOSSO NETO, M. O.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. Avaliação da eficácia de fungicidas e *Trichoderma* no controle do “Mofo Branco” (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da soja. **Tropical Plant Pathology**, [S.l.], v. 35, p. S63, 2010.

WAGHUNDE, R. R.; SHELAKA, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: a significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, [S.l.], v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.

WANG, S.L.; SHIH, I.L.; LIANG, T.W.; WANG, C.H. Purification and characterization of two antifungal chitinases produced by the *Bacillus amyloliquefaciens* V656 in a shrimp and crab shell powder medium. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, [S.l.], v. 50, n. 8, p. 2241-2248, 2002.

WEGULO, S. N.; SUN, P.; MARTINSON, C. A.; YANG, X. B. Spread of *Sclerotinia* stem rot of soybean from area and point sources of apothecial inoculum. **Canadian Journal of Plant Science**, [S.l.], v. 80, n. 2, p. 389-402, 2000.

WHIPPS, J. M.; BUDGE S. P.; MITCHELL, S. J. Observations on sclerotial mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, [S.l.], v. 97, n. 6, p. 697- 700, 1993.

WIJESINGHE, C. J.; WILSON WIJERATNAM, R. S.; SAMARASEKARA, J. K. R. R; WIJESUNDERA, R. L. C. Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 300-306, 2011.

WILHITE, S. E. *et al.* Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to suppression of Pythium damping-off. **Phytopathology**, [S.l.], v. 84, p. 816-821, 1994.

WILLETTS, H. J., WONG, J. A. L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **The Botanical Review**, [S.l.], v. 46, p. 101-165, 1980.

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.

YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 97, n. 12, p. 567-576, 2002.

ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; SOUSA, B. F. M.; MATOS, C. S. M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, [S.l.], v. 28, n. 5, p. 782-789, 2012.

ZENG, W.; WANG, D.; KIRK, W.; HAO, J. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 225–232, 2012.

ZHANG, J.; SONG, Q.; CREGAN, P. B.; NELSON, R. L.; WANG, X.; WU, J.; JIANG, G. L.; ZHANG. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm. **BioMed Central Genomics**, [S.l.], v. 16, p. 217-228, 2015.

ZHANG, Z.; YUEN, Y. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 in Biological Control of *Bipolaris sorokiniana*. **Phytopathology**, [S.l.], v. 90, p. 384–389, 2000.

ZHANG, Z.; YUEN, Y.; SARATH, G.; PENHEITHER, A.R. Chitinases from the Plant Disease biocontrol agent, *Stenotrophomonas maltophilia* C3. **Phytopathology**, [S.l.], v. 91, p. 204–211, 2000.

CHAPTER 2 HERBICIDES SELECTIVITY TO *Trichoderma* spp. USED IN THE CONTROL OF WHITE MOLD IN SOYBEAN CROP

ABSTRACT

Biological control is a strategy of great interest and importance in the soybean *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary management. In biological management, *Trichoderma* spp. based products applications are carried out mainly, and the ideal application time of these products can be concomitant with the herbicides application. However, the herbicides association can act in an undesirable way in the antagonist survival, reducing its action potential or causing its unfeasibility. In order to obtain sufficient information for adequate tank mixing recommendations between herbicides and biological products, experiments were carried out in soybean production area in the south of Minas Gerais in the 2019/2020 and 2020/2021 seasons. The parameters evaluated were the white mold incidence in the field as a function of treatments containing the association of *Trichoderma* with herbicides, as well as the productivity of each treatment. In addition, *in vitro* tests were performed to determine the herbicides selectivity to biocontrol agents, where the rate of mycelial growth rate, conidia production and the antagonist mycelial growth inhibition percentage in the presence of the herbicides were evaluated, using two different methodologies. The commercial biological products used were based on *T. asperellum* and *T. harzianum*, while the commercial herbicides used were constituted of the active ingredients Haloxifope-p-methyl, Glyphosate N-ammonium salt, Fluasifope-p-butyl, Fomesafem, Chlorimuron ethyl and Imazapyc + Imazapyr. The results obtained by the constant exposure methodology of antagonists to herbicides showed that non herbicide was compatible with biological control agents, however this methodology can cause incompatibility overestimation. The methodology that assesses the sensitivity of biocontrol agents by the time of exposure in hours, demonstrated that the herbicides used were compatible with the fungi up to a maximum exposure time of 8 hours, except for the Glyphosate-based herbicide of N-ammonium salt, which had a fungicidal effect after 4 hours of exposure for *T. harzianum* and after 2 hours of exposure for *T. asperellum*. In field experiments we could observe that the best treatments were constituted by the application of the antagonists in association with the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr, resulting in greater productivity and reductions in the white mold incidence in relation to the control. Therefore, in general, the herbicides used are compatible with antagonists, however compatibility must be analyzed with caution, since some herbicides begin to be incompatible as the exposure time increases.

Keywords: *Glycine max* L. Compatibility. Tank Mix. Biocontrol agents. Herbicides.

RESUMO

O controle biológico constitui uma estratégia de grande interesse e importância no manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary na cultura da soja. No manejo biológico são realizadas, principalmente, aplicações de produtos à base de *Trichoderma* spp., sendo que a época ideal de aplicação desses produtos pode ser concomitante com a aplicação de herbicidas. Entretanto, a utilização de herbicidas pode agir de forma indesejada no desenvolvimento do antagonista, reduzindo seu potencial de ação ou causando sua inviabilização. Com a finalidade de obter informações suficientes para recomendações adequadas de mistura em tanque, entre herbicidas e produtos biológicos, foram conduzidos experimentos em área de produção de soja no Sul de Minas Gerais, nas safras de 2019/2020 e 2020/2021. Os parâmetros avaliados foram a incidência do mofo branco no campo em função dos tratamentos contendo a associação dos *Trichoderma* com herbicidas, bem como a produtividade de cada tratamento. Além disso, foram realizados testes *in vitro* para determinar a seletividade dos herbicidas aos agentes de biocontrole, onde foram avaliados o índice de velocidade de crescimento micelial, produção de conídios e porcentagem de inibição do crescimento micelial do antagonista na presença dos herbicidas, utilizando duas metodologias distintas. Os produtos biológicos comerciais utilizados foram à base de *T. asperellum* e *T. harzianum*, enquanto os herbicidas comerciais utilizados foram constituídos dos princípios ativos Haloxifope-p-metílico, Glifosato sal de di-amônio de N, Fluasifope-p-butílico, Fomesafem, Clorimuron etílico e Imazapique + Imazapir. Os resultados obtidos pela metodologia de exposição constante dos antagonistas aos herbicidas demonstraram que nenhum herbicida foi compatível com os agentes de controle biológico, no entanto, essa metodologia pode ocasionar superestimação da incompatibilidade. A metodologia que avalia a sensibilidade dos agentes de biocontrole pelo tempo de exposição em horas, demonstrou que os herbicidas utilizados foram compatíveis com os fungos até um tempo máximo de 8 horas de exposição, exceto para o herbicida a base de Glifosato sal de di-amônio de N, que apresentou efeito fungicida a partir de 4 horas de exposição para o *T. harzianum* e a partir de 2 horas de exposição para o *T. asperellum*. Nos experimentos em campo observou-se que os melhores tratamentos foram constituídos pela aplicação dos antagonistas em associação com o herbicida à base de Imazapique + Imazapir, resultando nas maiores produtividades e reduções da incidência de mofo branco em relação a testemunha. Portanto, de forma geral, os herbicidas utilizados possuem compatibilidade com os antagonistas, entretanto, a compatibilidade deve ser analisada com cautela, visto que alguns herbicidas começam a ser incompatíveis à medida que aumenta o tempo de exposição.

Palavras-chave: *Glycine max* L. Compatibilidade. Mistura em tanque. Agentes de biocontrole. Herbicidas.

1 INTRODUCTION

The occurrence and levels of damage caused by the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary increased significantly in Brazil, both in the areas with higher altitude in the Brazilian savana, and in the more traditional cultivation areas in the South and Southeast. In infested areas, favorable conditions and absence of disease management, it can reduce productivity by up to 70% (MEYER *et al.*, 2013; CUNHA *et al.*, 2010). The disease progress is extremely dependent on environmental conditions and its damage manifests itself with greater severity in areas above 600 meters of altitude, long periods of leaf wetness, mild temperature and high relative humidity of the air (CAMPOS *et al.*, 2010; JULIATTI; JULIATTI, 2010).

White mold is considered to be a difficult disease to control due to the pathogen's ability to produce a high amount of resistance structures known as sclerotia, which can remain viable in the field, even under unfavorable environmental conditions for several years, allowing the fungus to survive in a saprophytic manner (SCHWARTZ; STEADMAN, 1989; PELTIER *et al.*, 2012).

Among the methods used for the white mold management, chemical control is one of the most used, and its results vary according to the active ingredient, season and number of applications. Currently, the *S. sclerotiorum* control depends on fungicides applied preventively, and studies prove that the early flowering stage, before the fall of petals, is the best time to spray foliar fungicides, aiming at a significant reduction in the disease incidence (KAMAL *et al.*, 2016). However, interest in alternative methods of disease control has increased in recent decades, since chemical pesticides have not been able to adequately control the pathogen, in addition to concerns about the environmental impact and residues left by its active ingredients (SAHARAN; MEHTA, 2008; AGRIOS, 2005).

Another fact that hinders this disease management is the products application time adjustment in order to act when the ascospores are released. In addition to difficulties in reaching the lower third of the plant, where, most of the pathogen lesions are usually found. In addition, the continued use of chemical fungicides is a concern because of the pathogen resistant variants development to products available on the market. In addition to raising production costs and not being efficient in all cycles of the pathogen, such as acting in the soil sclerotia bank (LU, 2003; PELTIER *et al.*, 2012).

Among the alternatives for the integrated management of *S. sclerotiorum*, the use of biological control agents is considered to have less impact. Biological control acts to reduce the

density of the primary and secondary inoculum by parasitizing, reducing, weakening or killing sclerotia, or even restricting germination as well as reducing virulence (FERNANDO *et al.*, 2007; SAHARAN; MEHTA, 2008). Thus, biological control is a strategy of great interest and importance and is complementary to the integrated management of *S. sclerotiorum*. The ideal time to apply biological control is in the fungus survival stage, that is, when the sclerotium is at rest on the soil surface or in the germination stage, during which the pathogen is more vulnerable to the action of the biocontrol agent (TU, 1998; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Therefore, the ideal time of biological products application for the white mold management in soybean can be concomitant with the herbicide application. This detail is preponderant for the biological control use by the producers, mainly because the herbicides application constitutes the main and most efficient tool used in the weeds control, in addition, there is not enough information for efficient and adequate tank mix recommendations of herbicides and biological products based on fungi that enable the survival and the biological control agent action.

In biological management, applications of products based on *Trichoderma* spp. however, like most biological control agents, the efficiency of *Trichoderma* is greatly influenced by biotic and abiotic factors that can act on the germination of conidia, mycelial growth and expression of the genus mechanisms of action (ROSA *et al.*, 2010; PEIXOTO *et al.*, 2010; DIAS NETO, 2014). Among these factors, the interaction with chemical molecules as herbicides can cause changes in the dynamics of *Trichoderma* spp., decreasing its viability or even causing its death.

In view of the above, the objective was to analyze the compatibility of PROTOX, ALS, ACCase and EPSPs inhibiting herbicides in tank mixture with commercial biological products based on the fungus *Trichoderma* spp. registered for the soybean crop. In addition to assessing the efficiency of antagonists in controlling white mold under field conditions.

2 MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted *in vitro* and *in planta*, the *in vitro* part was conducted in the Biological Control laboratory of the Department of Phytopathology at the Federal University of Lavras - UFLA, in order to determine the compatibility between the biocontrol agents to the herbicides, and also check whether the herbicides used have a deleterious effect on the *S. sclerotiorum* pathogen. *In-planta* tests were carried out on two consecutive seasons

(2019/2020 and 2020/2021) in a soybean crop area, with the aim of evaluating the biological control agents and herbicides combinations effects on white mold.

2.1 *In vitro* tests

2.1.1 Obtaining and multiplying the inoculum

The isolate of *S. sclerotiorum* used in the experiments came from the region of Ingaí, located in the south of Minas Gerais. The sclerotia obtained were subjected to superficial disinfection by immersion in 70% alcohol for 30 seconds, then the sclerotia were transferred to a 2% sodium hypochlorite solution for 2 minutes and, finally, washed with distilled water three times (DELGADO *et al.*, 2007). The isolate was multiplied to obtain the mycelial phase massively, a mycelial disk of the mycelial growth of the fungus was plated in a PDA medium (potato-dextrose-agar) and incubated at 20 ± 1 °C and a 12 hours photoperiod for 7 days (OLIVEIRA, 1998).

2.1.2 *Sclerotinia sclerotiorum* sensitivity to herbicides

To test the *S. sclerotiorum* isolate sensitivity to the herbicides, Haloxifope-p-methyl, Glyphosate salt N-ammonium, Fluasifope-p-butyl, Fomesafen, Chlorimuron ethyl and Imazapyc + Imazapyr was used the method of Alves *et al.* (1998) with adaptations, where were added in 200 mL of culture medium PDA the spray volume recommended for the dose of herbicides per hectare. Then, 15 mL of this mixture (culture medium + herbicide) was poured into a 90 mm diameter Petri dish. After the medium had solidified, a mycelial disc of the pathogen of 5 mm in diameter was inserted in the middle of the Petri dish. The plates were sealed with plastic wrap and kept in B.O.D. at temperature of 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ relative humidity and 12 hours of photoperiod for a period of 15 days, according to the methodology adapted from Oliveira (1998). The control treatment consisted only of PDA culture medium without the herbicide's addition, and the pathogen was also inoculated as previously described. The herbicides dose used was according to Table 1, considering a spray volume of 200 L ha^{-1} . The experimental design used was in randomized blocks (DRB) with 7 treatments and 4 repetitions, totaling 28 experimental plots.

Table 1 - Treatments description, active ingredient concentration (a.i.) and commercial product dose (c.p.) used per hectare. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Treatment	Herbicides (c.p.)	Concentration (a.i.)	Dose (c.p.)
1	Haloxifop-p-methyl	124.7 g L ⁻¹	0.5 L ha ⁻¹
2	Glyphosate N-ammonium salt	445.0 g L ⁻¹	6.0 L ha ⁻¹
3	Fluasifop-p-butyl	250.0 g L ⁻¹	1.0 L ha ⁻¹
4	Fomesafen	250.0 g L ⁻¹	1.0 L ha ⁻¹
5	Chlorimuron ethyl	250.0 g kg ⁻¹	80.0 g ha ⁻¹
6	Imazapyc + Imazapyr	525.0 g kg ⁻¹ + 175.0 g kg ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
7	Control	---	---

Source: Product label (2021).

The herbicides effect on the pathogen *S. sclerotiorum* was evaluated by the mycelial growth diameter, number and weight in grams of the sclerotia formed in the herbicide-pathogen interaction. For the evaluation of mycelial growth, the horizontal diameter and vertical diameter were measured with the aid of a digital caliper. These measurements were made every 24 hours, until the control treatment grew across the Petri dish. These data were used to calculate the MGRI, according to the equation described by Oliveira (1991). At 15 cultivation days under controlled conditions, the sclerotia produced in the plates that were already melanized were collected, counted and weighed on an analytical scale to determine the weight in grams.

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

Being:

MGRI = mycelial growth rate index

D = current average colony diameter

D_a = average diameter of the previous day's colony

N = number of days after inoculation

2.1.3 Sensitivity of *Trichoderma* spp. to herbicides

The sensitivity tests were carried out using the commercial formulations of the biological products Ecotrich WP (*Trichoderma harzianum* isolated IBLF 006) and Tricho-

Turbo (*Trichoderma asperellum* isolated BV10). The choice of these biological products was in relation to the results of cooperative experiments on biological control of white mold in the 2018/2019 and 2019/2020 seasons, where these same biological products were among the most efficient in controlling the disease.

The herbicides effect on biological products based on *T. harzianum* and *T. asperellum* was evaluated by mycelial growth, conidia production and inhibition of antagonist mycelial growth in relation to the control treatment. In this experiment, the constant contact of *T. harzianum* and *T. asperellum* with the herbicides was tested, using the Petri dishes methodology containing the PDA culture medium with herbicides as used in methodology 2.1.2 above.

However, the methodology of constant exposure of antagonists to the herbicide does not represent what actually happens at the producer level, so, in order to simulate an application in which the products are mixed in a tank and then sprayed, an experiment using another methodology considering different exposure times (0, 2, 4, 8 and 16 hours) of antagonists to herbicides, simulating the mixing in tanks that possibly occurs in field conditions was carried out.

2.1.3.1 Biological control agent's constant exposure to herbicides assessment

The experimental design used was in randomized blocks (DRB) in a 7 x 2 factorial scheme, with 14 treatments and 4 repetitions. Factor A was constituted by herbicides and factor B by biological products, as described in Table 2 and Annex I. Controls were constituted by biological products, without the herbicide's amendment.

Table 2 - Herbicides active ingredients (a.i.) description, bioprotectant, concentration declared on the label and dose of commercial product (c.p.) used per hectare. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Herbicides (p.c.)	Concentration (a.i.)	Dose c.p.
Haloxyfop-p-methyl	124.7 g L ⁻¹	0.5 L ha ⁻¹
Glyphosate N-ammonium salt	445.0 g L ⁻¹	6.0 L ha ⁻¹
Fluasifop-p-butyl	250.0 g L ⁻¹	1.0 L ha ⁻¹
Fomesafen	250.0 g L ⁻¹	1.0 L ha ⁻¹
Chlorimuron ethyl	250.0 g kg ⁻¹	80.0 g ha ⁻¹
Imazapyc + Imazapyr	525.0 g kg ⁻¹ + 175.0 g kg ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
Bioprotectant	Declared Concentration	Dose c.p.
<i>T. harzianum</i> (IBLF 006)	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
<i>T. asperellum</i> (BV10)	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 mL ha ⁻¹

*CFU - colony forming unit

Source: Product label (2021).

In this test the herbicides were added in 200 mL of PDA melted culture medium, not solidified, a temperature close to 45 °C, previously autoclaved, respecting the spray volume and dose of products per hectare. Then, into the flow chamber, 15 mL of the mixture containing PDA and herbicides was poured in a 90 mm diameter Petri dish. After the medium had solidified, 20 µL of the suspension containing the biological products were inoculated on top of a 5 mm diameter filter paper disc inserted in the middle of the Petri dish, with the aid of an automatic pipette, the plates were sealed with film plastic and kept in BOD at temperature 25 ± 1 ° C, 70 ± 10% relative humidity and 12 hours of photoperiod for a 7 days period. For the control treatments, the PDA culture medium was added to the Petri dishes without the herbicide addition, and the biological products were also inoculated as described above. The dose of herbicides and biological products used were in accordance with Table 2, considering a spray volume of 200 L ha⁻¹.

2.1.3.2 Evaluation of biological control agent's exposure to herbicides at different incubation times

The experimental design used was in randomized blocks (DRB) in a 7 x 2 x 5 factorial scheme, with 70 treatments and 4 repetitions. Factor A was constituted by herbicides and factor B by biological products, as described in Table 2. Factor C was represented by the incubation

times (0, 2, 4, 8 and 16 hours of exposure). The controls were made up of biological products, without the herbicide addition.

In this test, a different methodology was used from the one described above. Herbicides and biological products were added in 200 mL of autoclaved distilled water in a beaker according to the treatments, respecting the spray volume of 200 L ha⁻¹ and the dose prescribed in the package leaflet per hectare (TABLE 2). After mixing and homogenizing the products, a 40 mL aliquot was removed from each beaker and deposited in a falcon tube. Then the falcon tube was placed in an ultrasound bath for 3 minutes, and then subjected to constant automatic agitation at 150 rpm.

At each exposure time, a 5 mL aliquot was removed and taken for centrifugation in order to separate the *Trichoderma* conidia from the herbicide in solution. This 5 mL aliquot was homogenized by vortexing for 1 minute, after which a 1 mL aliquot was removed and laid up in an microtube. This procedure was repeated 4 times for each treatment in the referred exposure time, each microtube being a repetition. Microtubes were centrifuged at 10,000 rpm for 4 minutes to form a pellet containing the fungus conidia. This pellet was resuspended in distilled water and plated.

Plating was performed in 90 mm Petri dishes containing solidified PDA culture medium, with 20 µL of the pellet solution pipetted and inoculated on top of a 5 mm diameter filter paper disc inserted in the middle of the Petri dish.

Plates were sealed with plastic film and kept in B.O.D. at 25 ± 1 ° C temperature, 70 ± 10% relative humidity and 12 hours of photoperiod for 7 days. For the control treatments, only the biological products were not amended.

2.1.3.3 Mycelial growth and sporulation

To assess mycelial growth, the mycelium diameter produced by the fungus was measured with the aid of a digital caliper in two transversal directions, determining the average growth diameter. These measurements were made every 24 hours, until the first contact of one of the colonies of the fungus with the edge of the plate. These data were used to calculate the mycelial growth rate index (MGRI), according to the formula described by Oliveira (1991) (EQUATION 1). Based on the results of mycelial growth, the percentage of mycelial growth inhibition (PMGI) in relation to control was calculated, according to methodology proposed by Bastos (1997) (EQUATION 2).

$$\text{PMGI} = \left(\frac{\emptyset \text{ Control treatment} - \emptyset \text{ of the treatment}}{\emptyset \text{ Control treatment}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Being:

PMGI = Percentage of mycelial growth inhibition

\emptyset = average colony diameter

At 7 days, three 5 mm diameter plugs from the *Trichoderma* colony were removed from each Petri dish for the conidia quantification. Each plug was placed in a 50 mL-conical tube with 5 mL of sterile saline + Tween 80 (0.1%), being vortexed for about two minutes, until the conidia was scrapped from the surface of the mycelial plug. After removing the conidia, counting was performed with the optical microscope at 200x magnification in a Neubauer chamber, using dilutions of the suspension when necessary.

2.1.4 Data analysis

The results of the evaluated variables were transformed in $\sqrt{X + 0.5}$, normality and homogeneity tests were carried out and subsequently subjected to analysis of variance based on the design adopted for p less than or equal to 5% probability, by the F test, using the statistical program R (R CORE TEAM, 2021). When significant differences were detected, the means were compared using the Tukey test.

2.2 *In-plant tests*

2.2.1 Evaluation of the efficiency of biological products in the control of *S. sclerotiorum* in mixture with herbicides, *in vivo*

The test was carried out in two soybean production areas in the 2019/2020 and 2020/2021 seasons. In the 2019/2020 season the experiment was conducted in the production area of Fazenda Papagaio in the Municipality of Luminárias/MG (21°29'10" S / latitude and 44°58'15" W) at 948 meters of altitude, in the period of November 11th from 2019 to March 25th, 2020. In the 2020/2021 season the experiment was carried out in the production area of Fazenda Santa Maria in the municipality of Conceição do Rio Verde/MG (21°53'26" S / 45°06'37" W) a 898 meters of altitude, from October 22th, 2020 to February 23th, 2021.

During the conduction of the experiment, the climatological data were collected every 15 days, considering the values of air temperature (°C) and precipitation (mm), relative humidity (%).

The soybean cultivar used in the 19/20 season was Desafio RR - 8473 RSF (Brasmax), with an indeterminate growth habit and a relative maturation group of 7.4, sown with 60 cm spacing between rows and 15 seeds per linear meter, with stand end of 250 thousand plants per hectare. Fertilization was carried out according to the soil analysis, using 150 kg ha⁻¹ of potassium chloride applied to haul in the pre-planting and 200 kg ha⁻¹ of monoammonium phosphate (MAP) applied in the planting furrow. The seed treatment was carried out with the fungicide/insecticide Standak Top in the dose of 200 mL for 100 kg of seeds. In addition, inoculation was performed with 7 doses of *Bradyrhizobium japonicum* and 2 doses of *Azospirillum brasilense*.

The desiccation of the area was carried out 20 days before soybean sowing, using the herbicides Glyphosate 720 WG Nortox and Aminol 806 in doses of 3.5 L ha⁻¹ and 1.5 L ha⁻¹ respectively. In the desiccation, the application of Cypermethrin Nortox was also carried out in the dose of 200 mL ha⁻¹, in addition to the application of 1.5 kg ha⁻¹ of boric acid via desiccation syrup with the purpose of supplying boron to the soil. The control of Asian rust was carried out by applying the FOX® fungicide combined with Unizeb Gold in stages R1 and R3.

In the 20/21 season, the soybean cultivar Lança 58i60 RSF IPRO (Brasmax) was used, with an indeterminate growth habit and a relative maturation group of 5.8, sown with 45 cm spacing between rows and 13.5 seeds per linear meter, totaling a population of 300 thousand plants per hectare. Fertilization was carried out according to the soil analysis, with 200 kg ha⁻¹ of potassium chloride applied to haul in the pre-planting and 200 kg ha⁻¹ of monoammonium phosphate (MAP) applied in the planting furrow. The seed treatment was carried out with the fungicide/insecticide Standak Top in the dose of 200 mL for 100 kg of seeds. Inoculation was performed with 8 doses of *Bradyrhizobium japonicum* and 2 doses of *Azospirillum brasilense*.

The desiccation of the area was carried out 15 days before soybean sowing, using the herbicides Crucial, Aminol 806 and Classic at doses of 3.0 L ha⁻¹, 1.5 L ha⁻¹ and 80 g ha⁻¹, respectively. In desiccation it was also performed the application of Cypermethrin Nortox in the dose of 200 mL ha⁻¹, in addition to the application of 2.0 kg ha⁻¹ of boric acid via desiccation syrup. The control of Asian rust was carried out by applying the FOX® fungicide combined with Unizeb Gold in stages R1 and R3.

2.2.2 Experimental design and treatments

The experimental design used was randomized blocks (DRB) in a factorial scheme (7x2) + 2, with 4 replications, totaling 64 experimental plots. Each experimental plot was represented by eight lines of 5.0 m in length, the useful area of each plot being the four central lines, excluding 0.5 m at each end of the line. The products and the respective doses used to evaluate the efficiency of the control of white mold are found in Annex II.

The treatments were applied in vegetative stages V2 and V4, and in the first application only the application of the biocontrol agent was performed, while in the second application the biocontrol agents were applied combined with the herbicides in the tank mixture. The doses were diluted in a volume of 200 L ha⁻¹ and the sprays were carried out with the aid of a CO₂ pressurized sprayer coupled to a PET bottle, with a bar consisting of 4 tips of the type XR110.02 spaced 0.5 m apart, under at a pressure of 2 atm (202.65 kPa).

2.2.3 Reviews

To evaluate the control of the disease, evaluations of the white mold incidence were carried out at R5.1, R5.4 and R6, in 40 plants in the two central lines of each experimental plot, according to a methodology adapted from Campbell and Madden (1990). When the plants were in the R8 stage, all the plants in the center of the plot for determining productivity (kg ha⁻¹) were harvested. In the calculation of grain yield, the weight of grains of each useful plot was considered in kg, being subsequently converted to kg ha⁻¹. Grain moisture was corrected to 13% wet basis.

2.2.4 Data analysis

The results obtained were evaluated by the tests of normality and homogeneity test and subsequently submitted to analysis of variance based on the design adopted for p less than or equal to 5% of probability, by the F test, using the statistical program R (R CORE TEAM, 2021). When significant differences were detected, the means were compared using the Scott-Knott test.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 *In vitro* tests

3.1.1 Sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* to the herbicides used

For the mycelial growth rate index (MGRI) it was observed that the control after 72 hours, colonized the entire plate, resulting in an average MGRI of 26.67 mm day⁻¹. Herbicides significantly decreased the growth rate of the pathogen, differing statistically from the control. Among the herbicides, the Glyphosate N-ammonium salt was the most harmful for the pathogen *S. sclerotiorum*, totally inhibiting the fungal vegetative growth *in vitro*, resulting in an MGRI of 0 mm day⁻¹ and consequently reaching 100% inhibiting mycelial germination (TABLE 3).

Table 3 - Effect of herbicides on the mycelial growth rate index (MGRI), number of sclerotia produced (NS), weight of sclerotia (WS) and percentage of mycelial growth inhibition (PMGI) of *Sclerotinia sclerotiorum*. UFLA, Lavras/MG, 2021.

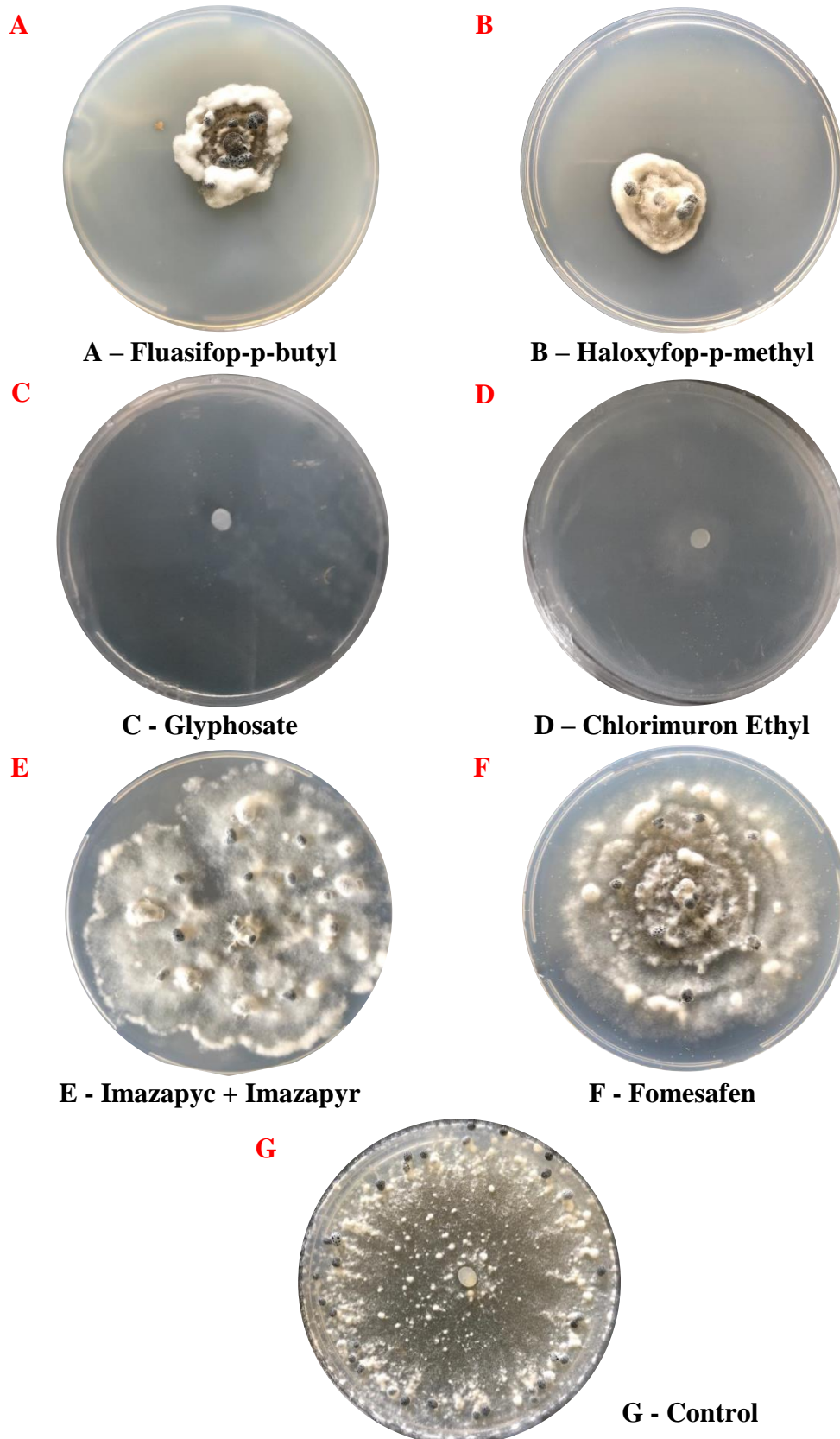
Herbidas (p.c.)	MGRI (mm/day)	NS	WS (g)	PMGI (%)
Haloxifop-p-methyl	2.73 c	2.00 cd	0.077 c	89.75 b
Glyphosate N-ammonium salt	0.00 d	0.00 d	0.000 d	100.00 a
Fluasifop-p-butyl	5.05 b	3.50 c	0.026 cd	81.05 c
Fomesafen	3.95 bc	11.50 b	0.171 b	85.19 bc
Chlorimuron ethyl	4.97 b	0.00 d	0.000 d	81.37 c
Imazapyc + Imazapyr	5.42 b	17.50 ab	0.243 a	79.68 c
Control	26.7 a	22.25 a	0.181 ab	0.00 d
CV (%)	7.47	19.20	2.12	2.10

*Means followed by the same letter do not differ by Tukey's test at 5% probability.

Source: The author (2021).

The other herbicides promoted an inhibition in mycelial growth (PMGI) that varied from 79.68% (Imazapyc + Imazapyr) to 89.75% (Haloxifope-p-methyl), resulting in MGRIs between 2.73 mm dia⁻¹ and 5,42 mm dia⁻¹. As the MGRI decreased, there was an increase in the PMGI, thus showing that the herbicides have an *in vitro* fungicidal action on the mycelial germination of the pathogen that causes white mold. However, the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr and the herbicide based on Fomesafen, allowed satisfactory mycelial growth of the fungus after 5 days of incubation, thus, they show only a fungistatic property (FIGURE 1).

Figure 1 - Number of sclerotia produced by *S. sclerotiorum* in potato-dextrose-agar culture medium with different herbicides at 15 days of incubation. UFLA, Lavras/MG, 2021.



Source: The author (2021).

Regarding the number (NS) and weight (WS) of sclerotia produced (FIGURE 1), there was a significant difference between treatments, with the Witness producing an average of 22.25 sclerotia with a total weight of 0.181 g. The herbicide Imazapyc + Imazapyr was statistically similar to Witness producing an average of 17.5 sclerotia, however, the weight of the sclerotia produced was greater in relation to Witness, reaching a total of 0.243 g. With the production of 11.5 sclerotia, the herbicide Fomesafen was statistically equal to Imazapyc + Imazapyr in the variable NE, for the variable PE, Fomesafen was similar to the control with a total weight of 0.171 g.

The herbicides that stood out the most in reducing NS and consequently in WS were Glyphosate N-ammonium salt and Chlorimuron ethyl. In the case of Glyphosate there was no mycelial germination, while in Chlorimuron ethyl there was a small average mycelial growth of 14.91 mm in diameter, however the herbicide did not allow the junction and melanization of the pathogen hyphae to occur for the formation of sclerotia.

Garcia *et al.* (2013) observed that the active ingredient Chlorimuron ethyl at a concentration of 100 mg L⁻¹, was the one that stood out the most, reducing the mycelial growth of *S. sclerotiorum* isolates from the region of Indianópolis/GO and Jataí/GO by 79.4 % and 84.1%, respectively. The same authors also tested the effect of Fomesafen in the concentration of 100 mg L⁻¹ on the two isolates, where the isolate from Jataí/GO had a 72.8% reduction in mycelial growth while the other isolate was more tolerant to exposure of the active principle, with a reduction of vegetative growth of 44.0%.

Garcia *et al.* (2013) also tested the effect of the active ingredient Cletodim at a concentration of 100 mg L⁻¹ on *S. sclerotiorum* isolates. This active ingredient reduced vegetative growth by 30.0% and 55.6% for isolates from Indianópolis/GO and Jataí/GO, respectively. This active ingredient is used in post-emergence for the control of monocotyledonous weeds, acting within the chloroplast, more specifically inhibiting the enzyme Acetyl-Co A carboxylase (ACCase). In this experiment, this active ingredient was not used, however, two other herbicides were used that have active ingredients of this mechanism of action, being Haloxifope-p-methyl in the concentration of 311.75 mg L⁻¹ and Fluasifope-p-butyl in concentration of 1,250 mg L⁻¹. Herbicides inhibited vegetative growth by 89.75% (Haloxifope-p-methyl) and 81.05% (Fluasifope-p-butyl), different from the results found by Garcia *et al.* (2013), which caused a lower PMGI when compared to the herbicides Haloxifope and Fluasifope. However, it is worth mentioning that the concentration used by the authors was lower than the concentration used in this experiment, as well as a different formulation of the herbicides.

Assessing the potential of herbicides for the control of soil pathogens in bean crops, Lehner *et al.* (2014) found that the active ingredient Imazamox at a concentration of 1,000 mg L⁻¹ had the worst performance among herbicides in reducing the colony diameter of fungi, including *S. sclerotiorum*. This active ingredient is part of the chemical group of imidazolinones, whose mechanism of action is the inhibition of acetolactate synthase (ALS). The herbicide Imazapyc + Imazapyr is in the same group as Imidazolinones, so we can see that this chemical group tends not to be very harmful to the pathogen. However, on the other hand, we have the herbicide Clorimuron ethyl which is inserted in the same mechanism of action, except that of the chemical group of Sulphonylureas, which significantly reduced the mycelial growth of the pathogen and did not allow the formation of sclerotia in the concentration of 100 mg L⁻¹.

In the same work, Lehner *et al.* (2014) obtained a reduction of the myceliogenic germination of the pathogen *S. sclerotiorum* above 70% for the active ingredients Fomesafen and Fluasifope-p-butyl at a concentration of 1,000 mg L⁻¹. These data corroborate with the results obtained in the experiment, where the same active ingredients caused a reduction of mycelial growth above 80% in the concentration of 1,250 mg L⁻¹.

The deleterious effects of the active ingredient Glyphosate on mycelial growth, fungal resistance structures, production and viability of conidia are widely reported in the literature by several authors (ANDALÓ *et al.*, 2004; SOSA-GOMEZ, 2005; COSTA *et al.*, 2004; RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2010; BOTELHO; MONTEIRO, 2011; LEHNER *et al.*, 2014; FREGONESI *et al.*, 2016).

Despite the harmful effects observed in the development of biological control agents, the herbicides used, especially Glyphosate N-ammonium, aren't recommended or positioned at any time for disease management in the field. Some previously described results are combined responses of edaphoclimatic factors showing an interaction with the herbicide, the pathogen and the plant (TOUBIA-RAHME *et al.*, 1995). Furthermore, as these herbicides are applied post-emergence, the amount of the active ingredient that reaches the soil and which may have activity against the pathogen is reduced (LEHNER, *et al.*, 2014). Other factors, such as the physicochemical characteristics of herbicides, especially in relation to mobility in the soil and half-life, reduce any possible efficiency of herbicide control over root pathogens in the field, to the detriment of results obtained *in vitro* (VIEIRA; PAULA JÚNIOR, 2006; LEHNER, *et al.*, 2014).

White mold infection usually occurs after flowering, as the flowers that detach from the plant with the appearance of pods are the main source of nutrients for *S. sclerotiorum* (ABAWI;

GROGAN, 1979), therefore, control with chemical fungicides must start from the opening of the first flowers. As can be seen, the time of application of herbicides in soybean crops occurs outside this period, being carried out in the vegetative period, where the pathogen is found in the form of sclerotia. Sclerotia are composed of compact hyphae surrounded by a thick layer of melanin (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006), whose main function is to protect hyphae against adverse conditions, such as the presence of pesticides (HENSON *et al.*, 1999). Thus, this fact, together with the other factors mentioned above, indicates that the efficiency of herbicides in reducing the damage of this disease in the field is low. Since the combination of these applications (herbicide + biological) is an alternative to reduce costs, with different biological targets and if these characteristics are maintained or at some point optimized, we can combine them in a tank.

3.1.2 *In vitro* compatibility test between herbicides and biological products: constant exposure of biological control agents to herbicides

From the data collected during the seven days of evaluation, it is possible to calculate the growth rate index (MGRI), the number of conidia produced (NC) and the percentage of mycelial growth inhibition (PMGI) of the colonies of the *Trichoderma* in PDA culture medium with the different herbicides Haloxifope-p-methyl, Glyphosate N-ammonium salt, Flusifope-p-butyl, Fomesafen, Chlorimuron ethyl and Imazapyc + Imazapyr. To characterize the species in terms of mycelial growth rate, five intervals were analyzed, from 0-24 hr, 24-48 hr, 48-72 hr, 72-96 hr and 96-120 hr. The antagonist *T. harzianum* showed a higher rate of vegetative growth, growing throughout the Petri dish after 96 hours of incubation. *T. asperellum* was slower, taking 120 hours to grow across the Petri dish.

In the statistical analysis of the split of the factors we can observe that the fungus *T. asperellum* was more sensitive to the action of the herbicides when compared with the *T. harzianum*, presenting smaller MGRIs and statistically inferior to the MGRIs expressed by *T. harzianum* in the different herbicides (TABLE 4). The only exception is in the case of Glyphosate N-ammonium salt, in which both fungi behaved in the same way, that is, Glyphosate inhibited 100% of the mycelial growth of the antagonists.

Table 4 - Effect of herbicides on the mycelial growth rate index of fungi in mm day⁻¹. UFLA, Lavras/MG, 2021

Herbicide	Bioprotectant	
	MGRI do <i>T. harzianum</i> (mm dia ⁻¹)	MGRI do <i>T. asperellum</i> (mm dia ⁻¹)
Haloxifop-p-methyl	9.86 Ac	2.84 Bd
Glyphosate N-ammonium salt	0.00 Ad	0.00 Ae
Fluasifop-p-butyl	16.18 Ab	10.19 Bb
Fomesafen	16.66 Ab	6.13 Bc
Chlorimuron ethyl	11.12 Ac	6.13 Bc
Imazapyc + Imazapyr	22.36 Aa	17.80 Ba
Control	22.50 Aa	18.00 Ba
CV (%)	3.19	

* Means followed by the same uppercase letter in the row and lower-case in the column, do not differ, by Tukey's test at 5% probability. Capital letters are for bioprotectants, while lower case letters are for herbicides.

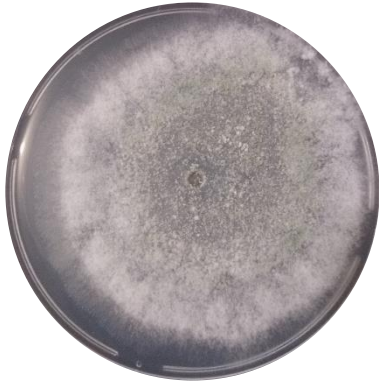
Source: The author (2021).

These results were similar to those obtained by Botelho and Monteiro (2011) who showed that the herbicide Glyphosate causes reduction in mycelial growth and production of conidia of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, as well as Andaló *et al.* (2004) had already verified the same for *B. bassiana*. In general, the same authors classified Glyphosate as moderately toxic at the recommended dose in post-emergence. However, it is worth mentioning that these authors use fungi of other species for the experiments.

In the biocontrol agent *T. asperellum*, the herbicide Haloxifope-p-methyl, classified as an ACCase inhibitor, was the second most harmful for the fungus with an MGRI of 2.84 mm dia⁻¹, behind Glyphosate. As for *T. harzianum*, this herbicide caused mycelial growth statistically equal to Chlorimuron ethyl, with MGRI of 9.86 mm day⁻¹ and 11.12 mm day⁻¹, respectively. These results place the two herbicides as having the most action on the growth of *Trichoderma* spp., After Glyphosate. In the case of *T. asperellum*, the herbicide Fomesafen and Chlorimuron Ethyl behaved similarly in the process of inhibition of the mycelial growth of the fungus, in both the MGRI of the antagonist was 6.13 mm day⁻¹ (FIGURE 2).

Figure 2 - Mycelial growth of biocontrol agents in potato-dextrose-agar culture medium with different herbicides at 5 days of incubation. UFLA, Lavras/MG, 2021. (continued)

A.1



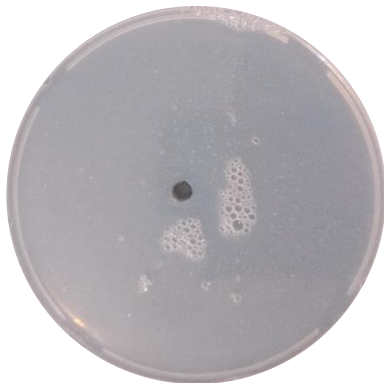
A.1 – Flusafop x *T. harzianum*

A.2



A.2 – Flusafop x *T. asperellum*

B.1



B.1 - Glyphosate x *T. harzianum*

B.2



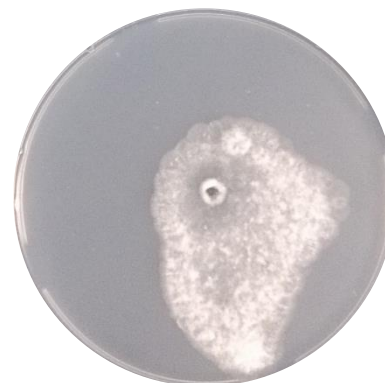
B.2 – Glyphosate x *T. asperellum*

C.1



C.1 – Fomesafen x *T. harzianum*

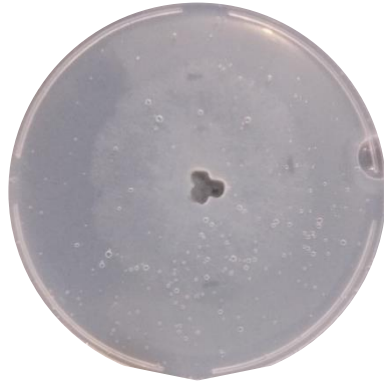
C.2



C.2 – Fomesafen x *T. asperellum*

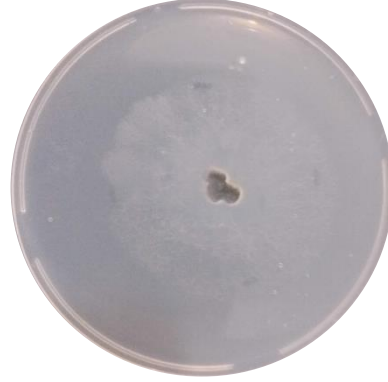
Figure 2 - Mycelial growth of biocontrol agents in potato-dextrose-agar culture medium with different herbicides at 5 days of incubation. UFLA, Lavras/MG, 2021. (continued)

D.1



D.1 – Chlorimuron x *T. harzianum*

D.2



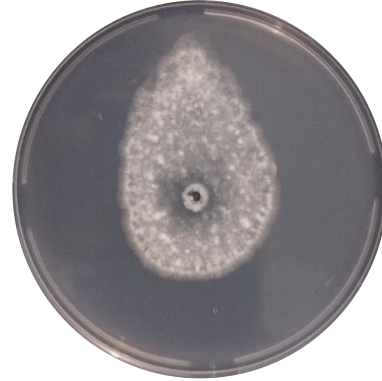
D.2 – Chlorimuron x *T. asperellum*

E.1



E.1 - Haloxifop x *T. harzianum*

E.2



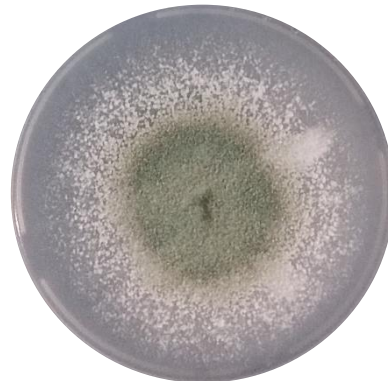
E.2 - Haloxifop x *T. asperellum*

F.1



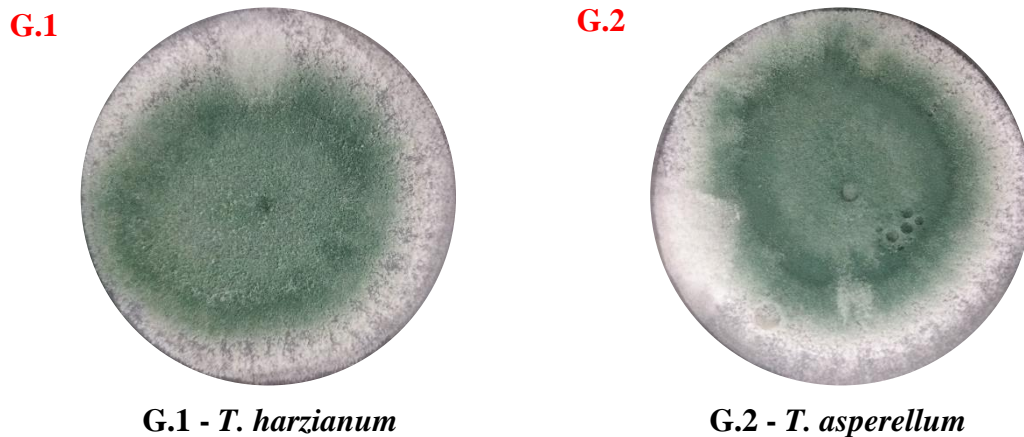
F.1 - Imazapyc + Imazapyr x *T. harzianum*

F.2



F.2 - Imazapyc + Imazapyr x *T. asperellum*

Figure 2 - Mycelial growth of biocontrol agents in potato-dextrose-agar culture medium with different herbicides at 5 days of incubation. UFLA, Lavras/MG, 2021. (conclusion)



Source: The author (2021).

In the statistical analysis of the split of the factors within the conidia production set (TABLE 5), we can observe a behavior of the fungi similar to that of the MGRI, where *T. harzianum* was less sensitive to the exposure of the herbicides when compared to *T. asperellum* in the production of conidia mL⁻¹. In treatments without addition of herbicide in the PDA culture medium, the production was 14.40 conidia mL⁻¹ for *T. harzianum* against 12.10 conidia mL⁻¹ for *T. asperellum*. When herbicides were added, this behavior was maintained, *T. harzianum* was superior in the production of conidia, except in culture media with Haloxifope-p-methyl and Glyphosate, where the two species of the genus *Trichoderma* were statistically equal in this parameter. There was no production of conidia for the Glyphosate N-ammonium salt, as it totally inhibited the mycelial growth of fungi. In the case of Haloxifope-p-methyl, the production of conidia mL⁻¹ was 2.70 and 1.05 for the fungi *T. harzianum* and *T. asperellum*, respectively. The other herbicides drastically reduced the production of conidia mL⁻¹ from biological control agents.

Table 5 - Effect of herbicides on the number of conidia mL⁻¹ (NC) produced by biocontrol agents. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Herbicide	Bioprotectant			
	NC do <i>T. harzianum</i>		NC do <i>T. asperellum</i>	
Haloxifop-p-methyl	6.75 x 10 ⁵	Ac	2.63 x 10 ⁵	Ab
Glyphosate N-ammonium salt	0.00	Ad	0.00	Ac
Fluasifop-p-butyl	12.38 x 10 ⁵	Ab	3.50 x 10 ⁵	Bb
Fomesafen	10.50 x 10 ⁵	Ab	3.38 x 10 ⁵	Bb
Chlorimuron ethyl	8.34 x 10 ⁵	Abc	4.13 x 10 ⁵	Bb
Imazapyc + Imazapyr	10.13 x 10 ⁵	Abc	4.25 x 10 ⁵	Bb
Control	36.00 x 10 ⁵	Aa	30.25 x 10 ⁵	Ba
CV (%)	9.42			

* Means followed by the same uppercase letter in the row and lower-case in the column, do not differ, by Tukey's test at 5% probability. Capital letters are for bioprotectants, while lower case letters are for herbicides. Source: The author (2021).

Corroborating these results, Costa *et al.* (2004) pointed out that Glyphosate at a dose of 6.0 L ha⁻¹ significantly reduced vegetative growth and sporulation of *M. anisopliae*. Other studies carried out with *B. thuringiensis*, showed results similar to this study, where the Glyphosate-based herbicide inhibited the formation of colonies, and it is not possible to quantify the growth. Thus, the herbicide was classified as incompatible with the entomopathogen because it does not allow the formation of colony forming units (CFU mL⁻¹) (AGOSTINI *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2008).

Sosa-Gomez (2005) had already observed a reduction in the production of *M. rileyi* conidia, regardless of the Glyphosate dose tested. In addition to the active ingredient Glyphosate, the herbicides based on Fenoxaprope-p-ethyl, Lactofen, Metribuzin, Imazetapyr, Bentazona and Imazaquim, both in the recommended concentrations in package inserts and in half dosages, also considerably impaired the growth of *B. thuringiensis*, being incompatible with the development of CFUs.

Regarding PMGI, there was a significant interaction between the herbicidal and biological fungicidal factors by the F test at 5% probability, presenting a variation coefficient of 4.88% (TABLE 6). PMGI the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr did not affect the mycelial growth of the antagonists, this result being statistically equal to the results of the antagonists without the addition of herbicide, where the growth inhibition was 0.0%. The herbicide that obtained the highest percentage of inhibition of vegetative growth of the two species of *Trichoderma* was the Glyphosate N-ammonium salt with 100% growth inhibition,

followed by the herbicide based on Haloxifop-p-methyl which resulted in a reduction 84.22% for *T. asperellum* and 56.19% for *T. harzianum*. Again, *T. asperellum* was the least tolerant to constant exposure to herbicides according to PMGI.

Table 6 - Percentage of mycelial growth inhibition of biocontrol agents caused by the effect of herbicides amended to potato-dextrose-agar culture medium. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Herbicide	Bioprotectant	
	% de inibição de <i>T. harzianum</i>	% de inibição de <i>T. asperellum</i>
Haloxifop-p-methyl	56.19 Ab	84.22 Bb
Glyphosate N-ammonium salt	100.00 Aa	100.00 Aa
Fluasifop-p-butyl	28.09 Ac	43.37 Bd
Fomesafen	25.97 Ac	65.93 Bc
Chlorimuron ethyl	50.60 Ab	65.97 Bc
Imazapyc + Imazapyr	0.64 Ad	1.09 Ae
Control	0.00 Ad	0.00 Ae
CV (%)	4.88	

* Means followed by the same uppercase letter in the row and lower-case in the column, do not differ, by Tukey's test at 5% probability. Capital letters are for bioprotectants, while lower case letters are for herbicides.

Source: The author (2021).

The herbicide based on Chlorimuron ethyl also caused a substantial reduction in mycelial growth for both species of the antagonist, by 50.60% and 65.97% for *T. harzianum* and *T. asperellum*, respectively. However, these results were statistically different, confirming that this active ingredient was more harmful to *T. asperellum*. Although the fungi do not have a phototrophy mechanism, it was observed that the herbicide based on Fomesafen caused a reduction of 65.93% in the mycelial growth of *T. asperellum*, being statistically similar to Chlorimuron ethyl. According to Malkones (2000), the additives present in the formulation of pesticides can affect microorganisms and, in certain cases, even modify the effect of the pesticide.

On the other hand, this herbicide based on Fomesafen did not significantly affect the mycelial growth of *T. harzianum*, resulting in a 25.97% inhibition of vegetative growth, being statistically equal to Fluasifope-p-butyl, which inhibited growth by 28.09%. According to Batista Filho, Almeida and Lamas (2001), it is normal to have a difference in effect between different pathogens and even between strains of the same biological agent, since the toxicity of chemicals can vary for different isolates due to their differences in sensitivity.

Reis *et al.* (2013) working with the herbicide Oxadiazon, which has the same mechanism of action as Fomesafen, an inhibitor of the enzyme protoporphyrinogen oxidase (PROTOX), observed different reductions in mycelial growth in isolates of *Trichoderma* spp., Where the isolate CE 66 was not affected by herbicide, isolate TRI 02 showed moderate sensitivity, with a 16% reduction in mycelial growth, and isolates AJAM 118 and TRI 01 were more sensitive, with reductions of 66% and 35%, respectively. Reis *et al.* (2013) obtained similar results, where *Trichoderma* species showed different levels of selectivity for the herbicide Fomesafen.

There is a lack of information in the literature, but in general, there is agreement regarding incompatibilities or compatibilities, even with different evaluation methodologies. However, this methodology, where the herbicide is placed in the culture medium, does not represent what actually happens at the producer level, because under field conditions, the biocontrol agent is exposed to chemical pesticides in the spray solution only for a few hours, when at most 24 hours and then need to survive on plants and cultural remains. Therefore, when using a methodology in which the antagonists are exposed to the chemical pesticide for 7 or more days, an overestimation of the pesticides' incompatibility with the antagonists can occur, thus showing a scenario of the most adverse conditions of time / exposure and, consequently, often resulting in incompatibility.

3.1.3 *In vitro* compatibility test between herbicides and biological products: exposure of biological control agents to herbicides at different exposure times

With the hypothesis that exposure to high doses of chemical products is low in the field, a method was sought that resembled the modality employed by the rural producer. Thus, an experiment was carried out considering different exposure times (0, 2, 4, 8 and 16 hours) of the biocontrol agent with herbicides in the tank mixture.

The results indicate that the herbicides acted differently on the growth and development of the *Trichoderma* species as the exposure time with the herbicide increased, there was a reduction in the growth and production of *Trichoderma* conidia when compared to the control (without addition of herbicide), a fact that was expected, given the longer contact time between the antagonist and the herbicide, causing greater exposure of the antagonists to the active ingredient of the herbicide. In general, we observed that *T. asperellum* was more sensitive to the tested herbicides in comparison with *T. harzianum* (TABLE 7).

MGRI and conidia production were affected by the presence of the herbicide based on Haloxifope-p-methyl, but more pronounced effects were observed in the longer exposure times. Within 8 hours of exposure, the production of conidia decreased by 33.67% and 53.03% for *T. harzianum* and *T. asperellum*, respectively. With respect to *T. harzianum*, the times of 0, 2 and 4 hours were statistically equal for the MGRI and PMGI parameters, with the MGRI ranging from 17.47 mm day⁻¹ to 17.10 mm day⁻¹ and the PMGI between 2.90% and 4.97%, for times of 0 and 4 hours of exposure, respectively. The parameter of conidia production was most affected by the herbicide based on Haloxifope-p-methyl, and only the times of 0 and 2 hours of exposure were statistically equal and superior to the other times of exposure, producing 16.51 conidia mL⁻¹ at the time of exposure of 0 hours and 15.35 conidia mL⁻¹ at the time of exposure of 4 hours.

It can be verified that the time of 16 hours of exposure to the herbicide Haloxifope-p-methyl circumstantially affected the growth and development parameters of the antagonist *T. harzianum*, being statistically inferior to the others presented the worst results, mainly in the production of conidia, where there was a reduction of 82% in relation to the time of 0 hours. In this same herbicide, the fungus *T. asperellum* in the time of 16 hours of exposure, presented a reduction of approximately 84% in the production of conidia in relation to the time 0 hours. Regarding mycelial growth over 16 hours, the herbicide caused a reduction of 41.27% for the antagonist *T. asperellum* and 25.78% for *T. harzianum*.

Table 7 - Mycelial growth rate index (MGRI) in mm day⁻¹, number of conidia mL⁻¹ (NC) and percentage of mycelial growth inhibition (PMGI) of biocontrol agents caused by the herbicides amendment to the spray volume. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Time	MGRI (mm day ⁻¹)				NC (conidia mL ⁻¹)				PMGI (%)			
	B1 ¹		BII ²		B1		BII		B1		BII	
Haloxyfop-p-methyl												
0	17.47	Aa	16.85	Ba	41.28 x 10 ⁵	Aa	21.03 x 10 ⁵	Ba	2.90	Bc	6.34	Ac
2	17.27	Aa	16.65	Ba	38.38 x 10 ⁵	Aa	18.13 x 10 ⁵	Bab	4.01	Bc	7.45	Ac
4	17.10	Aa	14.84	Bb	24.88 x 10 ⁵	Ab	13.38 x 10 ⁵	Bab	4.97	Bc	17.55	Ab
8	15.71	Ab	14.72	Bb	27.38 x 10 ⁵	Ab	9.88 x 10 ⁵	Bbc	12.70	Ab	1.82	Bd
16	13.35	Ac	8.81	Bc	7.38 x 10 ⁵	Ac	3.38 x 10 ⁵	Ac	25.78	Ba	41.27	Aa
Glyphosate N-ammonium salt												
0	12.91	Aa	12.28	Ba	20.65 x 10 ⁵	Aa	12.00 x 10 ⁵	Ba	28.26	Bb	31.77	Ab
2	0.00	Ab	0.00	Ab	17.75 x 10 ⁵	Aab	0.00	Bb	100.00	Aa	100.00	Aa
4	0.00	Ab	0.00	Ab	10.13 x 10 ⁵	Ab	0.00	Bb	100.00	Aa	100.00	Aa
8	0.00	Ab	0.00	Ab	0.00	Ac	0.00	Ab	100.00	Aa	100.00	Aa
16	0.00	Ab	0.00	Ab	0.00	Ac	0.00	Ab	100.00	Aa	100.00	Aa
Fluasifop-p-butyl												
0	17.62	Aa	17.53	Aa	39.65 x 10 ⁵	Aa	18.03 x 10 ⁵	Ba	2.08	Ac	2.59	Ac
2	17.47	Aab	17.35	Aa	36.75 x 10 ⁵	Aa	15.13 x 10 ⁵	Ba	2.92	Abc	3.60	Ac
4	17.36	Aab	15.82	Bb	32.38 x 10 ⁵	Aa	15.50 x 10 ⁵	Ba	3.55	Bbc	12.08	Ab
8	16.71	Abc	14.32	Bc	23.75 x 10 ⁵	Ab	12.25 x 10 ⁵	Bab	7.16	Aab	4.48	Ac
16	15.94	Ac	10.87	Bd	13.75 x 10 ⁵	Ac	3.63 x 10 ⁵	Bb	11.42	Ba	27.52	Aa
Fomesafen												
0	17.56	Aa	17.31	Aa	27.03 x 10 ⁵	Aa	17.65 x 10 ⁵	Ba	2.44	Ac	3.81	Ac
2	17.36	Aab	17.11	Aa	24.13 x 10 ⁵	Aab	14.75 x 10 ⁵	Ba	3.55	Abc	4.92	Ac
4	16.66	Abc	14.47	Bb	17.88 x 10 ⁵	Abc	9.88 x 10 ⁵	Bab	7.39	Bab	19.56	Ab
8	16.45	Ac	14.59	Bb	17.87 x 10 ⁵	Abc	9.86 x 10 ⁵	Bab	8.57	Aa	2.68	Bc
16	16.05	Ac	10.83	Bc	10.75 x 10 ⁵	Ac	3.75 x 10 ⁵	Bb	10.82	Ba	27.80	Aa
Chlorimuron ethyl												
0	17.35	Aa	16.42	Ba	31.65 x 10 ⁵	Aa	17.52 x 10 ⁵	Ba	3.57	Bc	8.77	Ab
2	17.15	Aab	16.22	Ba	28.75 x 10 ⁵	Aa	14.63 x 10 ⁵	Ba	4.68	Bbc	9.88	Ab
4	16.85	Aab	15.89	Ba	13.63 x 10 ⁵	Abc	10.00 x 10 ⁵	Aab	6.36	Bbc	11.70	Ab
8	16.47	Ab	14.49	Bb	17.88 x 10 ⁵	Ab	8.75 x 10 ⁵	Bab	8.46	Aab	3.37	Bc
16	15.68	Ac	10.38	Bc	8.75 x 10 ⁵	Ac	4.50 x 10 ⁵	Ab	12.87	Ba	30.83	Aa
Imazapyc + Imazapyr												
0	17.65	Aa	17.50	Aa	26.52 x 10 ⁵	Aa	21.15 x 10 ⁵	Aa	1.91	Ab	2.79	Ab
2	17.49	Aab	17.30	Aa	23.63 x 10 ⁵	Aa	18.25 x 10 ⁵	Aab	2.79	Ab	3.89	Ab
4	17.24	Aab	14.82	Bb	24.13 x 10 ⁵	Aa	8.88 x 10 ⁵	Bc	4.22	Bb	22.02	Aa
8	16.84	Ab	14.03	Bb	21.62 x 10 ⁵	Aa	9.50 x 10 ⁵	Bbc	6.44	Ab	1.18	Bb
16	15.81	Ac	11.37	Bc	10.63 x 10 ⁵	Ab	4.50 x 10 ⁵	Ac	12.18	Ba	24.14	Aa
Control												
0	18.00	Aa	18.00	Aa	29.90 x 10 ⁵	Aa	24.40 x 10 ⁵	Aa	0.00	Aa	0.00	Aa
2	18.00	Aa	18.00	Aa	28.63 x 10 ⁵	Aa	21.50 x 10 ⁵	Bab	0.00	Aa	0.00	Aa
4	18.00	Aa	18.00	Aa	28.12 x 10 ⁵	Aa	12.75 x 10 ⁵	Bbc	0.00	Aa	0.00	Aa
8	18.00	Aa	15.00	Bb	18.88 x 10 ⁵	Ab	9.88 x 10 ⁵	Bc	0.00	Aa	0.00	Aa
16	18.00	Aa	15.00	Bb	18.50 x 10 ⁵	Ab	8.87 x 10 ⁵	Bc	0.00	Aa	0.00	Aa
CV³ (%)	2.88				28.08				12.41			

¹ Bioprotectant based on *T. harzianum*. ² Bioprotectant based on *T. asperellum*. ³ Coefficient of variation. Means followed by the same uppercase letter in the row and lower-case in the column, do not differ, by Tukey's test at 5% probability. Capital letters are for bioprotectants, while lower case letters are for herbicides.

Source: The author (2021).

For the herbicide based on the active principle Fluasifope-p-butyl, the MGRI at the time of 0 hours of exposure was statistically equal to the MGRI at the times of 2 and 4 hours, except for the fungus *T. asperellum* where only the MGRI at the time of exposure of 2 hours was statistically similar to the time of 0 hours, with values of 17.53 mm day⁻¹ and 17.35 mm day⁻¹, respectively. In 16 hours, the two species of *Trichoderma* presented the lowest MGRI, in addition to a reduction in the production of conidia of 65% for *T. harzianum* and 80% for *T. asperellum*.

In the conidia production parameter, the exposure times of 0, 2 and 4 hours did not differ statistically, producing the largest amounts of conidium mL⁻¹, in addition, these times caused a growth inhibition below 4%, except for *T. Asperellum* which in the time of 4 hours presented a reduction of 12.0%, proving that this herbicide based on Fluasifope-p-butyl can be compatible with the species of *Trichoderma* used for a period of up to 4 hours in mixture in the syrup. spraying at the doses used in this experiment. Within 8 hours of exposure, the results were not substantially low, making it possible in special cases for the antagonists to be mixed with the herbicide based on Fluasifope-p-butyl for up to 8 hours without drastically reducing efficiency. antagonist control. These same considerations can be made for the herbicide based on Haloxifope-p-methyl, where this herbicide showed a similar behavior with respect to compatibility at different times of exposure.

The herbicides based on Fluasifope-p-butyl and Haloxifope-p-methyl are from the chemical group of Aryloxyphenoxypropionic Acid, acting in the inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase). This enzyme is found in the stroma of plant plastids, converting acetyl coenzyme A (acetyl co-A) to malonylcoenzyme-A (malonyl co-A), by adding CO₂ (HCO₃) to acetyl co-A, in the first step of the fatty acid biosynthesis process. The inhibition of fatty acid synthesis blocks the production of phospholipids used in the construction of new membranes necessary for cell growth, ceasing plant growth with subsequent death (OLIVEIRA JÚNIOR, 2011). Acetyl co-A carboxylase is an enzyme widely distributed in nature, also present in bacteria and fungi, catalyzing the first and irreversible stage of fatty acid synthesis, one of the most fundamental metabolic pathways found in living beings, carrying out the formation of malonyl co-A from acetyl co-A (CRONAN JUNIOR; WALDROP, 2002). Therefore, Fluasifop-p-butyl and Haloxifop-p-methyl herbicides can act directly on microorganisms through this mode of action.

It is possible to observe that the herbicide based on the active ingredient Glyphosate N-ammonium salt, allowed the development of *T. harzianum* until the time of 4 hours, during this period the herbicide showed to have a fungistatic effect on the growth and development of the

fungus, however, this growth was not significant, resulting in a low number of conidia produced and a high percentage of mycelial growth inhibition. On the other hand, *T. asperellum* showed growth when exposed to Glyphosate N-ammonium salt, only within 0 hours, and even so, the losses were significant, reducing mycelial growth by 31.77% with production of 4, 8 conidia mL⁻¹.

From the exposure time of 4 hours for *T. harzianum* and 2 hours for *T. asperellum*, the herbicide started to present a fungicidal effect, completely inhibiting the development of the two antagonist species. Although *T. harzianum* develops in the exposure time of up to 4 hours, the results of the parameters were substantially lower than those of other herbicides, causing extremely negative effects on the survival and development of the antagonist. Thus, in the dose of package insert used in the experiment, the herbicide Glyphosate N-ammonium salt did not show compatibility with the biocontrol agents, mainly with *T. asperellum*, and is not indicated for tank mixing with these antagonists.

Still in Table 7, we can see that the treatment composed by *T. harzianum* + Glyphosate N-ammonium salt in the periods of 2 and 4 hours of exposure resulted in MGRIs of 0 mm day⁻¹, however they obtained a small production conidia with 7 days of growth. This fact was due to the fungistatic effect that the herbicide had on the antagonist, allowing the growth of the fungus only after some time.

Glyphosate is a herbicide that blocks the enzyme EPSPs (5-enolpyruvylchiquime-3-phosphate synthase), which catalyzes the binding of the compounds 3-phosphate (S3P) and phosphoenolpyruvate (PEP), producing the organic enolpyruvylchime-3-phosphate and phosphate. Therefore, the inhibition of EPSPs causes the accumulation of high levels of chiquimate in vacuoles, in addition to blocking the synthesis of tryptophan, phenylalanine and tyrosine (SIKORSKI; GRUYS, 1997; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004; FEDTKE; DUKE, 2005).

The chiquimic acid pathway is a metabolic route used by fungi and bacteria, for the production of aromatic amino acids, used in the synthesis of proteins and secondary metabolites essential for environmental adaptation. In bacteria and fungi, enzymes from the chiquimate pathway are located in the cytoplasm. Therefore, the direct effects on microorganisms can occur through this mode of action. However, definitive studies have not been conducted to determine the exact mode or prevalence of toxicity in different microbial species. Unlike plants, many microorganisms are able to tolerate or overcome the toxic effects of Glyphosate, presumably through the production of positively regulated EPSPs, modified EPSPS structures or rapid

metabolism / detoxification of the Glyphosate molecule (BENTLEY, 1990; DROUIN *et al.*, 2010; TZIN; GALILI; AHARONI, 2012; SHEHATA *et al.*, 2013).

The herbicide based on Fomesafen in the longest exposure time (16 hours) caused a reduction of mycelial growth of the fungus *T. harzianum* in 10.82% in relation to the control without addition of herbicides and reduced the production of conidia in approximately 60% in relation to the 0 hours exposure time. The MGRI parameter showed significant differences between the exposure times, but the difference between the time between 0 hours and 16 hours was 1.51 mm day⁻¹. The antagonist *T. asperellum* showed results statistically inferior to that of *T. harzianum*, suffering the negative effects of the herbicide in a more accentuated way. The herbicide Fomesafen reduced the growth of *T. asperellum* when compared to the control without addition of herbicide by 27.80% in 16 hours and caused a decrease in the production of conidia of approximately 80%.

The active ingredient Chlorimuron ethyl severely impaired the production of conidia, reducing more than 40% after 4 hours of exposure compared to the time of 0 hours, for both fungi. In the PMGI evaluation, there was a greater reduction for *T. asperellum*, decreasing its growth by 30.83% in relation to the control without the addition of herbicides. For *T. harzianum*, mycelial growth inhibition ranged from 3.57% to 12.87%, respectively for the 0 and 16 hours exposure times, showing statistically significant differences.

The product based on *T. harzianum* was compatible with the herbicide based on Imazapyc and Imazapyr, and this herbicide did not cause a drastic reduction in the MGRI, NC and PMGI of the fungus. Until the time of 8 hours of exposure, the production of conidia was statistically similar to the time of 0 hours, showing a small decrease with the increase of hours of exposure. Regarding the MGRI, there were significant differences in which the time of 0 hours presented the best result with 17.65 mm day⁻¹, followed by the times of 2 and 4 hours, which were statistically similar to the time of 0 hours, presenting a growth of 17, 15 mm dia⁻¹ and 16.85 mm dia⁻¹, respectively. The time of 8 hours of exposure generated a mycelial growth (MGRI) of 16.47 mm day⁻¹, which was statistically similar to the times of 2 and 4 hours of exposure.

The PMGI for the fungus *T. harzianum* in a mixture with the herbicide based on Imazapyc and Imazapyr was statistically equal between the times of 0 to 8 hours, varying from 1.91% for 0 hours and 6.44% for 8 hours. There were significant differences only for the exposure time of 16 hours, which reduced the growth of the fungus by 12.18% in relation to the control without the addition of herbicides, this value being less than the percentage of growth inhibition that the same herbicide caused to *T. asperellum* (24.14%).

In the case of *T. asperellum*, this herbicide caused more significant damage both in the production of conidia and in MGRI, in addition to PMGI. For the MGRI, the values were 17.50 mm day⁻¹ for 0 hours and 17.30 mm day⁻¹ for 2 hours of exposure, with no significant difference between these times. After the exposure time of 4 hours, a drop in the MGRI occurs, passing to 14.82 mm day⁻¹.

The herbicide based on Chlorimuron ethyl is from the chemical group of Sulfonylurea while the herbicide based on Imazapyc and Imazapyr is from the chemical group of Imidazolinone however they act in the same mechanism of action inhibiting the enzyme acetolactate synthase (ALS), which is important for the biosynthesis of branched chain amino acids isoleucine, leucine and valine in the plant (SHANER; ANDERSON; STIDHAM, 1984, TAN *et al.*, 2005).

The ALS enzyme also known as acetohydroxyacid synthase (AHAS) is relatively conserved, being present in bacteria, fungi and plants, being located in the mitochondria of fungi and in the chloroplasts of plants. The deduced amino acid sequences of this enzyme are similar in fungi and plants and have a high correlation with the larger subunit of AHAS in bacteria, suggesting that all AHAS are derived from a single common ancestor (PANG; DUGGLEBY, 1999). Therefore, inhibition of the growth and development of microorganisms after exposure to this mechanism of action is expected.

Boldt and Jacobsen (1998) confirmed this fact in an experiment using sulfonylurea herbicides on fluorescent *Pseudomonas* isolated from an agricultural soil. At a concentration of 5 mg L⁻¹, herbicides based on active ingredients of the sulfonylurea group reduced the growth rate of up to 20% of the strains tested. However, there was a reduction in growth inhibition when branched chain amino acids were added to the culture medium, implying that the mode of toxicity was ALS inhibition according to the hypothesis. Similar results were found by Nelson and Duxbury (2008), who concluded that most of the microorganisms present in the tested soils contained only a functional ALS enzyme that is sensitive to the action of ALS-inhibiting herbicides.

Herbicides based on Haloxifope-p-methyl, Fluasifope-p-butyl, Fomesafen, Chlorimuron ethyl and Imazapyc + Imazapyr in association with the antagonists did not cause their severe inhibition at different times of *in vitro* exposure, so these herbicides are compatible with the biocontrol agents *T. harzianum* and *T. asperellum*. However, it is believed that in the field the action of these herbicides is even less damaging to the fungus due to the influence of external factors of the environment, avoiding such intense contact between the chemical and the biological (DALACOSTA; FURLAN; MAZARO, 2019), as in the case of glyphosate-based

herbicides that are strongly adsorbed on soil particles, becoming inactive (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002; TONI; SANTANA; ZAIA, 2006; LOCKE; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2008), or processes such as drift, gradual decrease in product concentration due to abiotic factors, or even irregular product deposition in the field (ROSSI-ZALAF *et al.*, 2008).

These results become important, as this methodology is closer to what occurs in the field, different from the results found in the previous methodology, where the fungus is in direct contact with the herbicide in a closed and isolated environment for 7 or more days, suffering the action of the herbicide molecule on several fronts, especially if there is a tendency for the herbicide to lose itself to the atmosphere in the form of gas, causing the interior of the Petri dish to saturate with the gas formed.

3.2 *In-plant test:* Evaluation of the efficiency of biological products in the control of *S. sclerotiorum* mixed with herbicides, *in vivo*

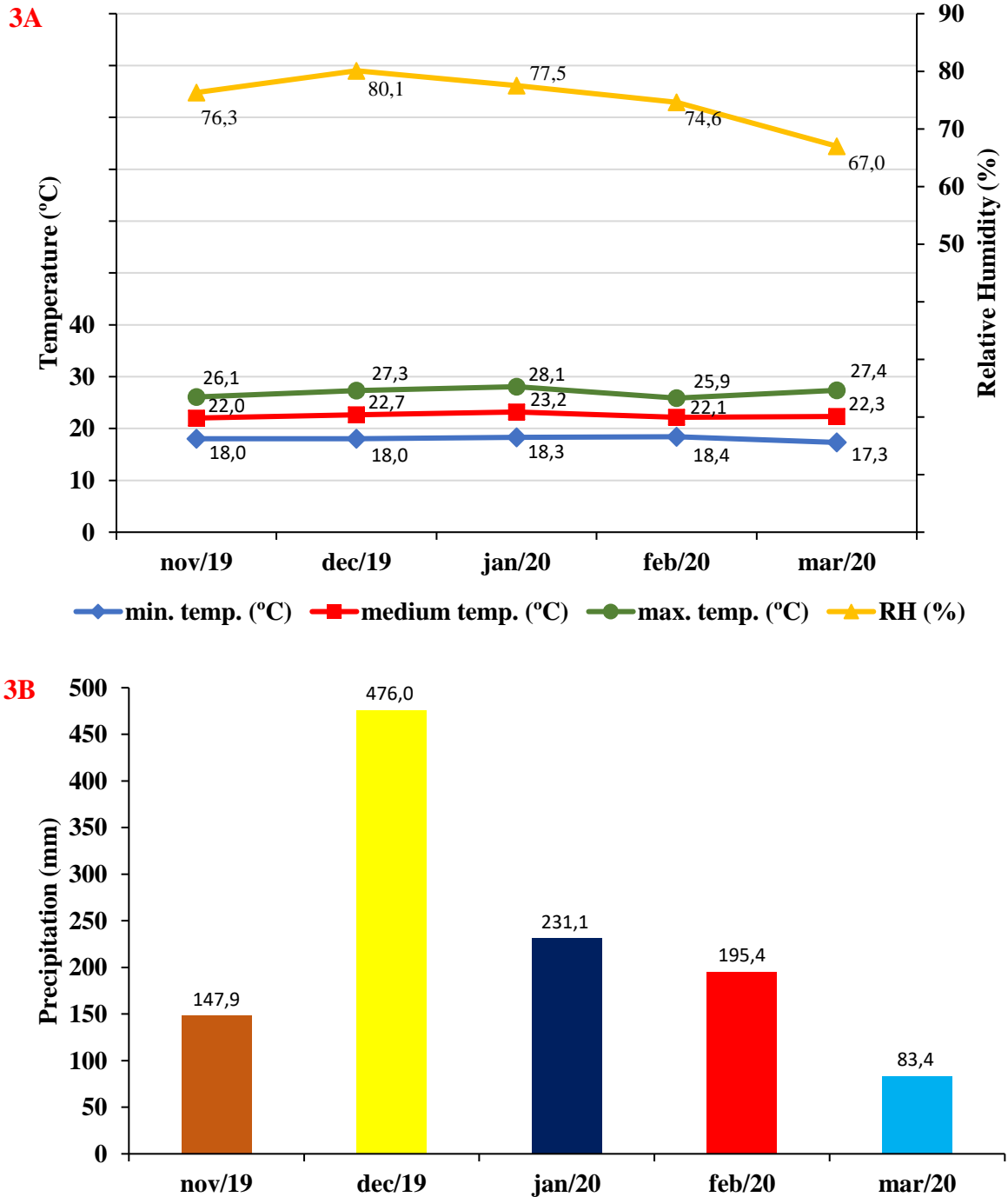
The vast majority of compatibility research is carried out using *in vitro* methodologies or controlled conditions, which are important as a reference. However, the field response may differ considering the dispersion of the active ingredients in the soil and the stability of the biological agent, in addition to the influence of numerous external factors (DALACOSTA; FURLAN; MAZARO, 2019). 2020 and 2020/2021, two experiments carried out in plant under field conditions.

Climatological data during the conduction period of the experiments are found in figures 3 and 4. It can be seen that in both seasons there was a uniform distribution of rainfall with thermal bands and relative humidity, with ample favorability for the development of the culture and the white mold epidemic.

White mold can occur over a wide temperature range (17-25 °C), and the condition of mild temperatures (17-20 °C) induces carpogenic germination and, consequently, the disease epidemic. At higher temperatures (21-25 °C), only the myceliogenic phase occurs, which will not cause great damage to the current crop under low pressure from sclerotia (MEDEIROS *et al.*, 2019; ABAWI; GROGAN, 1975; MORRAL, 1977; PHILLIPS, 1986; HUANG; KOSUB, 1993). Noteworthy, in December, for both trials, 300 mm rainfall was registered, in addition to coinciding with the flowering of the crop, developing a favorable microclimate for the pathogen. This is interesting for the infection and subsequent dissemination of the pathogen in the canopy of plants by both autoinfection and alloinfection. However, in the 2019/2020 season

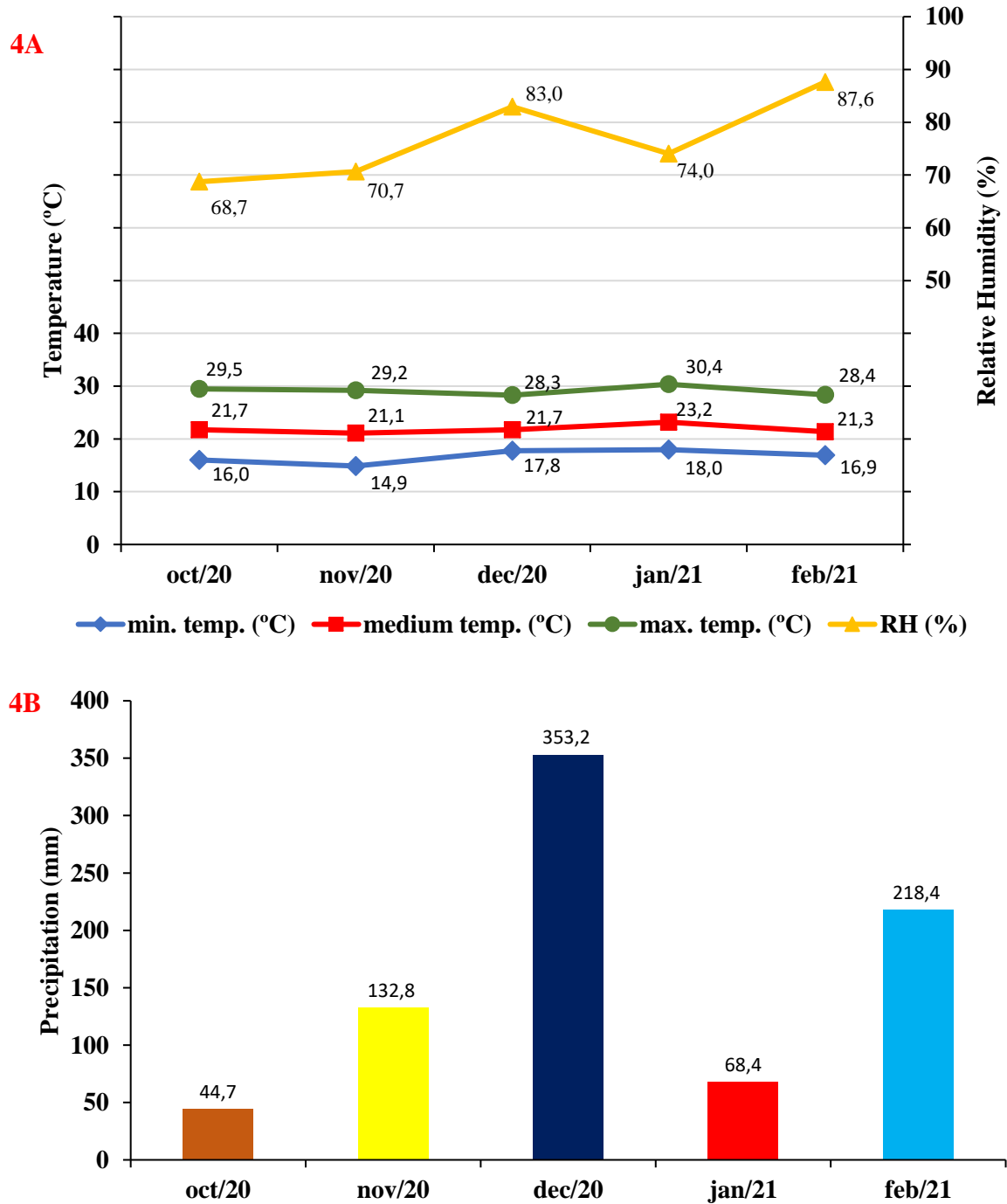
the incidence of white mold was not high, while in the 2020/2021 season the incidence was high.

Figure 3 - Climatic conditions during the execution of the experiment in the 2019/2020 season. UFLA, Lavras/MG, 2021.



Source: The author (2021).

Figure 4 - Climatic conditions during the execution of the experiment in the 2020/2021 season. UFLA, Lavras/MG, 2021.



Source: The author (2021).

In the statistical analysis of the data, there was no significant interaction between the herbicidal and biological fungicidal factors, so the treatments were analyzed in a directly randomized block design. The first incidence assessment (1st AV) of the 19/20 season was carried out on February 5th, 2020 with an average incidence in the control of approximately 8%, showing a statistical difference for the other treatments. The averages of the other treatments

vary from 0.0% to 4.37%. The treatments composed by the application of *T. asperellum* + (Imazapyc + Imazapyr) and *T. harzianum* + Glyphosate Salt Di-ammonium of N showed the lowest incidence of white mold with respectively 0.0% and 0.94%, while the treatment with application of *T. harzianum* + Fluasifop-p-butyl showed the highest incidence with 4.37% of plants infected with *S. sclerotiorum*, just below the control (TABLE 8).

In the 2020/2021 season, the first incidence assessment was carried out on January 5th, 2021 with an average incidence in the control of approximately 60%. As we can see in the 20/21 season, the incidence of white mold was extremely higher than in the previous season, since in the stages R1 and R2, that is, during the period of flowering of the crop, the plants were exposed to conditions favorable to the development of the disease, in addition to this cultivation area having a large amount of initial inoculum (sclerotia). In this evaluation, the treatments *T. harzianum* + Glyphosate N-ammonium salt, *T. harzianum* + Fomesafen, *T. asperellum* + Glyphosate N-ammonium salt, *T. asperellum* + Chlorimuron ethyl showed results statistically equal to the control, with values of incidence of 49.68%, 47.18%, 52.81% and 42.81%, respectively.

Table 8 - Percentage of white mold incidence and percentage of reduction of incidence in soybean plants according to different treatments with tank mix of herbicides and biological fungicides, under field conditions. UFLA, Lavras/MG, 2021. (continued)

Treatment	Crop 19/20			
	1 ST AV ¹	2 ND AV ²	3 RD AV ³	%R ⁴
Control	7.81 a	13.43 a	20.62 a	0.0
<i>T. harzianum</i> + Haloxyfop-p-methyl	2.81 c	4.06 b	6.25 c	69.7
<i>T. harzianum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	0.94 c	2.18 b	6.87 c	66.7
<i>T. harzianum</i> + Fluasifop-p-butyl	4.37 b	5.62 b	5.62 c	72.7
<i>T. harzianum</i> + Fomesafen	1.56 c	3.12 b	9.06 b	56.1
<i>T. harzianum</i> + Chlorimuron ethyl	4.06 b	7.18 b	11.25 b	45.4
<i>T. harzianum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	1.25 c	3.75 b	5.93 c	71.2
<i>T. harzianum</i>	1.56 c	5.63 b	7.81 c	62.1
<i>T. asperellum</i> + Haloxyfop-p-methyl	3.43 b	4.37 b	9.06 b	56.1
<i>T. asperellum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	2.50 c	4.06 b	9.68 b	53.1
<i>T. asperellum</i> + Fluasifop-p-butyl	1.88 c	4.06 b	6.56 c	68.2
<i>T. asperellum</i> + Fomesafen	1.25 c	5.62 b	12.18 b	40.9
<i>T. asperellum</i> + Chlorimuron ethyl	3.12 b	5.31 b	10.93 b	47.0
<i>T. asperellum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	0.00 c	0.93 b	3.43 c	83.4
<i>T. asperellum</i>	3.75 b	8.12 b	8.75 b	57.6
Fluazinam	1.56 c	3.75 c	9.06 b	56.1
CV (%)	80.04	49.52	30.32	---

Table 8 - Percentage of white mold incidence and percentage of reduction of incidence in soybean plants according to different treatments with tank mix of herbicides and biological fungicides, under field conditions. UFLA, Lavras/MG, 2021. (conclusion)

Treatment	Crop 20/21			
	1 ST AV	2 ND AV	3 RD AV	%R
Control	60.62 a	77.81 a	81.31 a	0.0
<i>T. harzianum</i> + Haloxyfop-p-methyl	35.83 b	49.27 c	49.93 c	38.6
<i>T. harzianum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	49.68 a	53.12 b	55.62 b	31.6
<i>T. harzianum</i> + Fluasifop-p-butyl	31.56 b	41.20 c	43.75 c	46.2
<i>T. harzianum</i> + Fomesafen	47.18 a	55.31 b	56.81 b	30.1
<i>T. harzianum</i> + Chlorimuron ethyl	31.26 b	37.54 c	40.14 c	50.6
<i>T. harzianum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	0.62 c	2.41 d	4.68 d	94.2
<i>T. harzianum</i>	33.75 b	44.80 c	47.33 c	41.8
<i>T. asperellum</i> + Haloxyfop-p-methyl	35.83 b	47.11 c	49.68 c	38.9
<i>T. asperellum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	52.81 a	56.87 b	59.37 b	27.0
<i>T. asperellum</i> + Fluasifop-p-butyl	26.87 b	29.95 c	33.54 c	58.8
<i>T. asperellum</i> + Fomesafen	32.57 b	38.13 c	40.73 c	49.9
<i>T. asperellum</i> + Chlorimuron ethyl	42.81 a	49.06 c	52.26 c	35.7
<i>T. asperellum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	1.56 c	3.83 d	5.93 d	92.7
<i>T. asperellum</i>	30.09 b	35.51 c	38.05 c	53.2
Fluazinam	30.15 b	38.17 c	40.8 c	49.9
CV (%)	44.44	33.07	31.00	---

*Means followed by the same letter do not differ by the Scott-knott test at 5% probability. ¹ White mold incidence in R5.1. ² White mold incidence in R5.4. ³ White mold incidence in R6. ⁴ Percentage of reduction of the incidence of disease in relation to the control, considering the incidence in R6.

Source: The author (2021).

The second evaluation took place on February 16th, 2020 in the 19/20 season and on January 18th, 2021 in the 20/21 season. In this evaluation, the witness of the 19/20 crop experiment obtained an average incidence percentage of 13.43%, differing statistically from the other treatments. The remainder of the treatments did not show statistically significant differences, with averages ranging from 0.93% to 7.18% in the incidence of the pathogen. In the 20/21 season there was also a significant difference ($p \leq 0,5$) between the control and the other treatments. The witness presented 77.81% of mold incidence, while the other treatments varied from 2.41% to 56.87%.

The last evaluation of the 19/20 season was carried out on February 27th, 2020 with an average incidence in the control of 20.62%, being statistically different from the other treatments. The incidence of the rest of the treatments did not exceed 12.18% (*T. asperellum* + Fomesafen). The application of treatments containing only biological products resulted in an average incidence of 8.75% for the antagonist *T. asperellum* and 7.81% for *T. harzianum*, differing statistically from each other, with a reduction in incidence in relation to the control of 57.6% and 62.1%, respectively. The treatments with the lowest incidence of disease were *T.*

asperellum + (Imazapyc + Imazapyr), *T. harzianum* + Fluasifope-p-butyl and *T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr) with 3.43%, 5.62% and 5.93%, respectively.

Regarding the 20/21 season, the average incidence of mold in the control exceeded 80%, being statistically different from the other treatments. The treatments *T. asperellum* + N Glyphosate N-ammonium salt (59.4%), *T. harzianum* + Fomesafen (56.8%) and *T. harzianum* + Glyphosate N-ammonium salt (55.6%) presented the following higher percentage of incidence after the control, not statistically different from each other. Meanwhile, in both treatments that were applied together with the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr, there was the lowest percentage of incidence with 5.93% for the treatment *T. asperellum* + (Imazapyc + Imazapyr) and 4.68 % for the treatment *T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr).

These results corroborate those obtained in the 19/20 season, where these same treatments with the application of the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr resulted in the lowest incidence of white mold in the plants. The occurrence of a lower incidence of white mold in these treatments is correlated with the architecture of the plant and development variables, such as plant height, maturity and lodging. As the soybean cultivars used in the two trials are not tolerant to the herbicide based on Imazapyc + Imazapyr, its phytotoxicity occurred on the cultivars, causing the crop to stunt.

The herbicide-induced stunting resulted in a lower rate of lodging, in addition, the leaves of the soybean plants were narrower in shape, facilitating the ventilation and the penetration of the ultraviolet light of the sun in the shallow and between the lines. There was also a delay of approximately 7 days in the culture cycle (FIGURE 5). Therefore, variables like these can influence the development of the pathogen and consequently the disease, by modifying the favorable environmental conditions for infection and the development of white mold. This fact was more visible in the 20/21 season, when there was a higher pressure of white mold inoculum and treatments with the application of this herbicide obtained a greater reduction in the incidence of white mold, with values above 90%.

These facts were confirmed by Boland and Hall (1987) and Kim *et al.* (2000), where the lower, early or low lodging soybean cultivars were associated with a lower incidence of the disease compared to tall, late cultivars and with higher lodging index. The lodging index is a variable that must be taken into account, since cultivars resistant to lodging with upright plants, have good air circulation and thus, low exposure to intense leaf wetness, which can significantly reduce the intensity of mold white in soy (BOLAND; HALL, 1987; NELSON; HELMS; OLSON, 1991).

Figure 5 - Treatment with application of *T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr). UFLA, Lavras/MG, 2021.



Source: The author (2021).

Regarding the treatments containing the herbicide based on Glyphosate N-ammonium salt, it is observed that in the 20/21 season the incidence of white mold was high and consequently obtained a low incidence reduction, possibly this result is related to the fact that the herbicide causes negative effects on antagonists as evidenced in laboratory experiments, which reduces the efficiency of control of biocontrol agents, especially in relation to *T. asperellum*, which resulted in a reduction in the incidence of white mold in only 27 %. In the 19/20 season, as the incidence of mold in the experimental area was low, this behavior was not visible.

The high incidence of white mold in treatments with the application of the Glyphosate-based of N-ammonium salt may also be related to the lower content of lignin, phytoalexins and flavonoids in plants treated with the herbicide. Since the decrease in these substances is seen as an enhancer for increasing the severity of diseases, making plants more susceptible to the action of pathogens. Meschede *et al.* (2007a), analyzing the levels of lignin and cellulose in samples of *Brachiaria decumbens* submitted to Glyphosate underdoses, observed a decrease of approximately 50% in the original levels of lignin from 30 days after application of the product. The same authors working with sugarcane observed a 30% reduction in the level of lignin 30 days after the application of 400 mL of Glyphosate per hectare as a ripener, which fell from 3.75%, in the control, to 1.95 %, in the treatment with Glyphosate (MESCHEDÉ *et al.* 2007b).

Regarding the synthesis of phytoalexins, both Glyphosate and the pathogen inhibit the synthesis of phytoalexins - the first by blocking the chiquimate route and the second by suppressing the activity of PAL-phenylalanine amonialiase (AGRIOS, 1997).

On the contrary, herbicides can act as a defense inducer, as is the case with diphenyl ethers (Fomesafen) in soybeans. These herbicides act as PROTOX inhibitors. This inhibition results in the production of reactive oxygen and lipid peroxidation (DUKE *et al.*, 1991; DEVINE *et al.*, 1993; DAN HESS, 2000). The reactive forms of oxygen mediate the activation of the defense genes responsible for the synthesis of phytoalexins and, also, by hypersensitivity reaction, conferring greater resistance to pathogens. In the treatments in which the herbicide was applied based on Fomesafen, the percentage of reduction in the incidence of white mold in relation to the control was below 50%, except in the 19/20 season for the treatment *T. harzianum* + Fomesafen that obtained a reduction of 56.1%.

As for productivity (TABLE 9), in the 19/20 season the averages ranged from 2,112.4 kg ha⁻¹ to 4,270.5 kg ha⁻¹, corresponding to the Witness and *T. asperellum* treatments, while in the 20/21 season the averages were between 2,731.2 kg ha⁻¹ to 4,533.1 kg ha⁻¹ for the Witness and *T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr) treatments, respectively. Regarding the productivity of the 19/20 crop, no statistical differences were observed between treatments with the application of biological herbicides and fungicides in relation to the control treatment without application of fungicide. It is observed that in the 19/20 season, the Witness showed a reduction of approximately 50% in productivity in relation to the most productive treatment, while the rest of the treatments resulted in productivity losses of less than 25%.

In the 20/21 season, the control showed a reduction of 39.7% in relation to the most productive treatment (*T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr)), however only Fluazinam, *T. asperellum*, *T. asperellum* + (Imazapyc + Imazapyr), *T. harzianum* and *T. harzianum* + (Imazapyc + Imazapyr) showed significant differences in relation to the control, with productivity averages higher than the control and the other treatments. It is observed that in this season the treatments constituted of the isolated applications of the biocontrol agents were better than the treatments that contained the mixture of the antagonists with herbicides, except for the herbicide based on (Imazapyc + Imazapyr) that caused a change of architecture in the plant, increasing the plant's shredding and consequently productivity. More compact and balanced plants can be more efficient in photosynthesis. According to Liu *et al.* (2010) the supply of a greater amount of light to soybean plants that are at the beginning of flowering allows a greater amount of effective pods at the end of the cycle and a consequent increase in productivity.

Table 9 - Yield and yield reduction as a function of different treatments with tank mix of herbicides and biological fungicides, under field conditions. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Treatment	19/20 Season		20/21 Season	
	kg ha ⁻¹	%R ¹	kg ha ⁻¹	%R
Control	2112.4 a	50.5	2.731.2 b	39.7
<i>T. harzianum</i> + Haloxyfop-p-methyl	3690.2 a	13.6	3.587.6 b	20.9
<i>T. harzianum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	3751.0 a	12.2	3.348.2 b	26.1
<i>T. harzianum</i> + Fluasifop-p-butyl	4109.2 a	3.8	3.525.1 b	22.2
<i>T. harzianum</i> + Fomesafen	3867.3 a	9.4	3.339.2 b	26.3
<i>T. harzianum</i> + Chlorimuron ethyl	3631.5 a	15.0	3.280.2 b	27.6
<i>T. harzianum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	3501.5 a	18.0	4.533.1 a	0.0
<i>T. harzianum</i>	4009.9 a	6.1	3.943.0 a	13.0
<i>T. asperellum</i> + Haloxyfop-p-methyl	3377.7 a	20.9	3.426.9 b	24.4
<i>T. asperellum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	3687.4 a	13.7	3.551.9 b	21.6
<i>T. asperellum</i> + Fluasifop-p-butyl	4004.9 a	6.2	3.334.6 b	26.4
<i>T. asperellum</i> + Fomesafen	4137.6 a	3.1	3.567.6 b	21.3
<i>T. asperellum</i> + Chlorimuron ethyl	4106.0 a	3.9	3.357.6 b	25.9
<i>T. asperellum</i> + (Imazapyc + Imazapyr)	3308.4 a	22.5	4.500.2 a	0.7
<i>T. asperellum</i>	4270.5 a	0.0	3.928.5 a	13.3
Fluazinam	3452.3 a	19.2	4.327.1 a	4.5
CV (%)	20.62		15.59	

*Means followed by the same letter do not differ by the Scott-knott test at 5% probability. ¹Percent reduction in productivity in relation to the most productive treatment.

Source: The author (2021).

The productivity increases in treatments with isolated application of the antagonists may be related to the ability of the genus *Trichoderma* to promote plant growth, with increased productivity of crops, greater absorption of nutrients and induction of resistance to abiotic stresses (BAKER, 1989; HARMAN *et al.*, 2004; HERMOSA *et al.*, 2012; HERMOSA *et al.*, 2014; RUBIO *et al.*, 2017). Possibly the herbicides caused some negative effect on this mechanism of action of the antagonists, not letting them express the maximum potential for growth promotion when in mixtures with the herbicides. The action of these biocontrol agents as growth stimulators is complex and carried out by interactions with biochemical factors and the production of diverse enzymes and beneficial compounds, which can be affected by molecules of synthetic molecules of chemical pesticides, as in the case of herbicides (BAUGH; ESCOBAR, 2007).

In the 19/20 season, productivity increases in relation to the control treatment ranged from 19.9 bags ha⁻¹ to 36.0 bags ha⁻¹, while in the 20/21 season the increments were between 9.1 bags ha⁻¹ a 30.0 bags ha⁻¹ (TABLE 10), demonstrating the importance and necessity of adopting disease control measures, whose potential for damage can significantly compromise

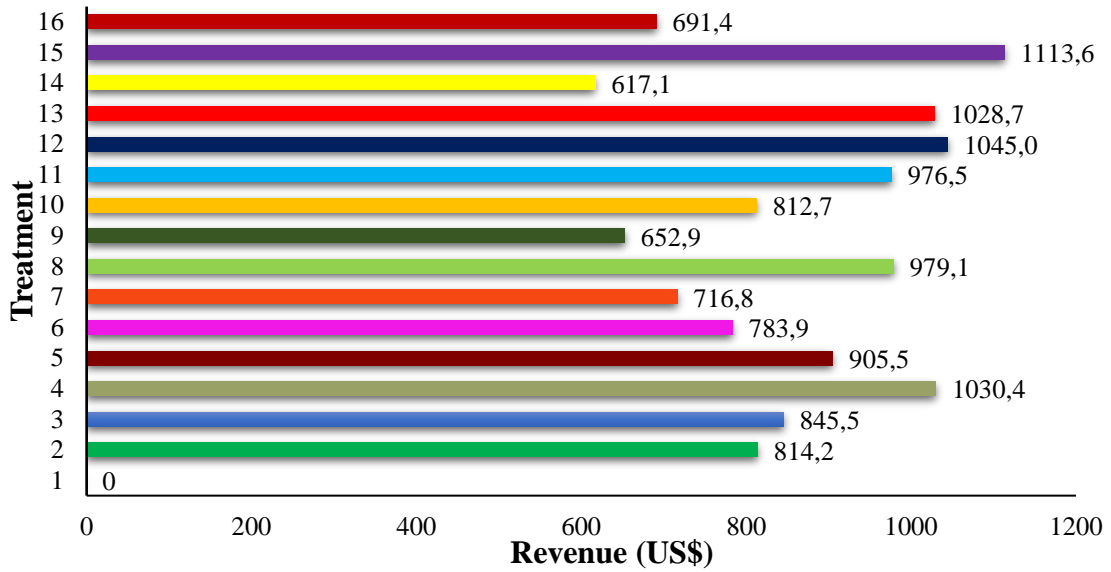
crop productivity. The revenue from the productivity increase in relation to Witness was calculated taking into account the quotation of April 9th, 2021, where the quoted price was 30.96 US\$/bag (FIGURE 6 and 7).

Table 10 - Increase in productivity (bag ha⁻¹) in relation to the control treatment. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Treatment	19/20 Season	20/21 Season
	bag ha ⁻¹	
Control	0	0
<i>T. harzianum</i> + Haloxyfop-p-methyl	26,3	14,3
<i>T. harzianum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	27,3	10,3
<i>T. harzianum</i> + Fluasifop-p-butyl	33,3	13,2
<i>T. harzianum</i> + Fomesafen	29,2	10,1
<i>T. harzianum</i> + Chlorimuron ethyl	25,3	9,1
<i>T. harzianum</i> + (Imazapyc + imazapyr)	23,2	30,0
<i>T. harzianum</i>	31,6	20,2
<i>T. asperellum</i> + Haloxyfop-p-methyl	21,1	11,6
<i>T. asperellum</i> + Glyphosate N-ammonium salt	26,3	13,7
<i>T. asperellum</i> + Fluasifop-p-butyl	31,5	10,1
<i>T. asperellum</i> + Fomesafen	33,8	13,9
<i>T. asperellum</i> + Chlorimuron ethyl	33,2	10,4
<i>T. asperellum</i> + (Imazapyc + Imazapyr)	19,9	29,5
<i>T. asperellum</i>	36,0	20,0
Fluazinam	22,3	26,6

Source: The author (2021).

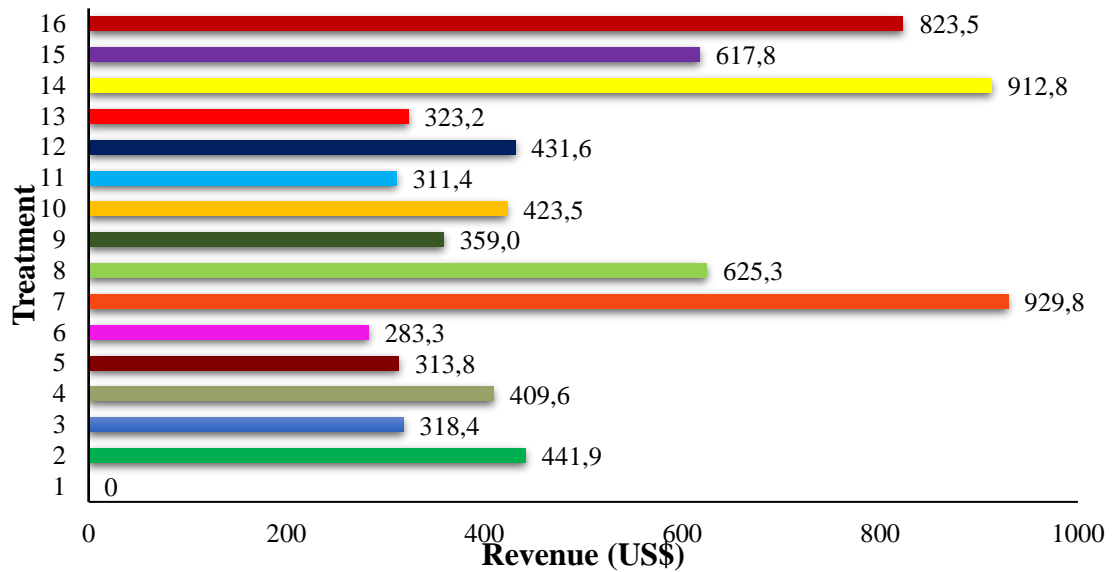
Figure 6 - Revenue of the increase in the productivity of the treatments in relation to the control treatment (season 19/20). Soybean price: 30.96 US\$/bag. UFLA, Lavras/MG, 2021.



1 – Control; 2 - *T. harzianum* + Haloxyfop-p-methyl; 3 - *T. harzianum* + Glyphosate N-ammonium salt ; 4 - *T. harzianum* + Fluasifop-p-butyl, 5 - *T. harzianum* + Fomesafen; 6 - *T. harzianum* + Chlorimuron ethyl; 7 - *T. harzianum* + (Imazapyc + imazapyr); 8 - *T. harzianum*; 9 - *T. asperellum* + Haloxyfop-p-methyl; 10 - *T. asperellum* + Glyphosate N-ammonium salt; 11 - *T. asperellum* + Fluasifop-p-butyl; 12 - *T. asperellum* + Fomesafen; 13 - *T. asperellum* + Chlorimuron ethyl; 14 - *T. asperellum* + (Imazapyc + Imazapyr); 15 - *T. asperellum*; 16 - Fluazinam.

Source: The author (2021).

Figure 7 - Revenue of the increase in the productivity of the treatments in relation to the control treatment (season 20/21). Soybean price: 30.96 US\$/bag. UFLA, Lavras/MG, 2021.



1 – Control; 2 - *T. harzianum* + Haloxyfop-p-methyl; 3 - *T. harzianum* + Glyphosate N-ammonium salt ; 4 - *T. harzianum* + Fluasifop-p-butyl, 5 - *T. harzianum* + Fomesafen; 6 - *T. harzianum* + Chlorimuron ethyl; 7 - *T. harzianum* + (Imazapyc + imazapyr); 8 - *T. harzianum*; 9 - *T. asperellum* + Haloxyfop-p-methyl; 10 - *T. asperellum* + Glyphosate N-ammonium salt; 11 - *T. asperellum* + Fluasifop-p-butyl; 12 - *T. asperellum* + Fomesafen; 13 - *T. asperellum* + Chlorimuron ethyl; 14 - *T. asperellum* + (Imazapyc + Imazapyr); 15 - *T. asperellum*; 16 - Fluazinam.

Source: The author (2021).

4 CONCLUSIONS

- i. The herbicides based on Haloxifop-p-methyl, Glyphosate N-ammonium salt, Flusifop-p-butyl and Chlorimuron ethyl did not show selectivity to the pathogen *S. sclerotiorum*, drastically inhibiting its growth and sclerotium production.
- ii. The constant exposure methodology, where the PDA culture medium with herbicides, is not ideal for assessing the compatibility between biological control agents and chemical pesticides, as it does not represent what actually happens at the field level. The microfuge incubation is more appropriate and better represented the observed selectivity. In this methodology, all herbicides were deleterious to the sporulation of *Trichoderma*;
- iii. The herbicide based on Glyphosate N-ammonium salt at the maximum recommended rate reduced selectivity to *T. asperellum*, with a maximum exposure time of 2 hours. Regarding *T. harzianum*, Glyphosate also showed reduced selectivity, however the maximum exposure time is 4 hours;
- iv. The herbicides Haloxifop-p-methyl, Flusifop-p-butyl, Fomesafen, Chlorimuron ethyl and Imazapyr + Imazapyr showed good selectivity to antagonists up to a maximum time of 4 hours of exposure, from that time until the time of 8 hours of exposure. exposure, the herbicides showed regular selectivity to fungi, allowing their use in mixing in tanks with biocontrol agents;
- v. *T. harzianum* was less sensitive to the herbicides than *T. asperellum*;
- vi. In the 2019/2020 season, the incidence of white mold (*S. sclerotiorum*) was low, so that all treatments obtained satisfactory control of white mold;
- vii. In the 2020/2021 season, the incidence of white mold was high, showing more strongly the effect of herbicides on antagonists, incidence and productivity. The treatments applied to the herbicide based on Imazapyr + Imazapyr, resulted in reductions of more than 90% in the incidence of white mold and in the highest productivity of the experiments, producing approximately 75 sc ha⁻¹.

REFERENCES

- ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **The American Phytopathological Society**, [S.l.], v. 69, n. 8, P. 899-904, 1979.
- AGOSTINI, L. T.; OTUKA, A. K.; SILVA, E. A.; BAGGIO, M. V.; LAURENTIS, V. L. de; DUARTE, R. T.; AGOSTINI, T. T.; POLANCZYK, R. A. Compatibilidade de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) com glifosato em diferentes dosagens, utilizado em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência et Praxis**, [S.l.], v. 6, n. 11, 2013.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. London: Academic Press, 1997. 635 p.
- _____; **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 2005. 952 p.
- ALVES, R. T.; BATEMAN, R. P.; PRIOR, C.; LEATHER, S. R. Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. **Crop Protection**, [S.l.], v. 17, n. 8, p. 675-679, 1998.
- AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Métodos de extração e determinação do herbicida glyphosate: breve revisão. **Química Nova**, [S.l.], v. 25, n. 3, p. 420-428, 2002.
- ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA- CECÍLIA, L.V.C.; SOUZA, G.C. Compatibility of *Beauveria bassiana* with chemical pesticides for the control of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 463-467, 2004.
- BAKER, R. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. **Trends of Biotechnology**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 34-38, 1989.
- BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 441-3, 1997.
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, [S.l.], v. 30, p. 437-447, 2001.
- BAUGH, C. L., ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**, [S.l.], v. 1, n. 4, p. 1-4, 2007.
- BENTLEY, R. The shikimate pathway – A metabolic tree with many branches. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, [S.l.], v. 25, n. 5, p. 307-84, 1990.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. **Plant Disease**, [S.l.], v. 71, n. 10, p. 934-936, 1987.
- BOLDT, T. S.; JACOBSEN, C. S. Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. **FEMS Microbiol. Lett.**, [S.l.], v. 161, p. 29–35, 1998.

- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, [S.l.], n. 7, v. 11, p. 1-16, 2006.
- BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, [S.l.], v. 70, p. 361-369, 2011.
- CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; MEYER, M. C.; SILVA, J. R. C.; NUNES JUNIOR, J. Mofo branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. **Tropical Plant Pathology**, [S.l.], v. 35, p. CCI, 2010.
- COSTA, E. A. D.; MATALLO, M. B.; ALMEIDA, J. E. M.; LOUREIRO, E. S.; SANO, A. H. Efeito de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, [S.l.], v. 14, p. 19-24, 2004.
- 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.
- CUNHA, W. G.; TINOCO, M. L. P.; PANCOTI, H. L.; RIBEIRO, R. E.; ARAGÃO, F. J. L. High resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in transgenic soybean plants transformed to express an oxalate decarboxylase gene. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 59, n. 4, p. 654-660, 2010.
- DALACOSTA, N. L.; FURLAN, S. H.; MAZARO, S. M. Compatibilidade de produtos à base de *Trichoderma* com fungicidas utilizados no tratamento de sementes. In: MEYER, M. C. MAZARO, S. M., SILVA, J. C. da. (Eds). **Trichoderma: uso na agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa, DF, 2019.
- DAN HESS, F. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, [S.l.], v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.
- DELGADO, G. V.; MARTINS, I.; MENÊZES, J. E.; MACEDO, M. A.; MELLO, S. C. M. Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. *in vitro*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2007. Brasília. **Resumos [...]** Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.
- DEVINE, M.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. Oxygen toxicity and herbicidal action; Secondary physiological effects of herbicides. In: _____. **Physiology of herbicide action**. New Jersey: Prentice-Hall, 1993. p.177-188.
- DIAS NETO, J. A. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematóides na cultura da soja**. 2014. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, MS, 2014.
- DROUIN, P.; SELLAMI, M.; PREVOST, D.; FORTIN, J.; ANTOUN, H. Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae. **Journal of Environmental Sciences**, [S.l.], v. 45, p. 780-788, 2010.

- DUKE, S.O.; LYDON, J.; BECERRIL, J.M.; SHERMAN, T.D.; LEHNEN JR., L.P.; MATSUMOTO, H. Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. **Weed Science**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 465-473, 1991.
- FEDTKE, C.; DUKE, S.O. Herbicides. In: HOCK, B.; ELSTNER, E.F. (Eds.). **Plant toxicology**. New York, EUA: Marcel Dekker, 2005. p. 247-330.
- FERNANDO, W. G. D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y.; SAVCHUK, S. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. **Crop Protection**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 100-107, 2007.
- FREGONESI, A. F.; MOCHI, D.A.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de isolados de *Beauveria bassiana* a inseticidas, herbicidas e maturadores em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.l.], v. 83, p. 01-08, 2016.
- GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G. Efeito de fungicidas e herbicidas no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 6, p. 1989-1996, 2013.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HENSON, J. M.; BUTLER, M. J.; DAY, A. W. The dark side of the mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, [S.l.], v. 37, p. 447-471, 1999.
- 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. (Eds.). **Biotechnology and biology of Trichoderma**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, [S.l.], v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Influence of inoculum production temperature on carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Microbiology**, [S.l.], v. 39, p. 548-550, 1993.
- JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F.C. **Podridão branca da haste da soja: manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção**. [S.l.]: Composer, Gráfica e Editora, 2010. 33 p.
- KAMAL, M. M.; LINDBECK, K. D.; SAVOCCHIA, S.; ASH, G. J. Biological control of *sclerotinia* stem rot of canola using antagonistic bacteria. **Plant Pathology**, [S.l.], v. 64, n. 6, p.1375-1384, 2016.
- KIM, H. S.; HARTMAN, G. L.; MANANDHAR, J. B.; GRAEF, G. L.; STEADMAN, J. R.; DIERS, B. W. Reaction of soybean cultivars to *sclerotinia* stem rot in field, greenhouse, and laboratory evaluations. **Crop Science**, [S.l.], v. 40, n. 3, p. 665-669, 2000.

- KREDICS, L.; MANCZINGER, L.; ANTAL, Z.; PÉNZES, Z.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. *In vitro* water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activities of *Trichoderma* strains with biocontrol potential. **Journal of Applied Microbiology**, [S.l.], v. 96, n. 3, p. 491-498, 2004.
- LEHNER, M. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LIMA, R. C.; SILVA, R. A.; SOARES, B. A.; NASCIMENTO, M.; CARNEIRO, J. E. S. Potencial de herbicidas para o controle de patógenos de solo do feijão. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 117-123, 2014.
- LIU, B.; LIU, X. B.; WANG, C.; JIN, J.; HERBERT, S. J.; HASHEMI, M. Responses of soybean yield and yield components to light enrichment and planting density. **International Journal of Plant Production**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 001- 009, 2010.
- LOCKE, M. A.; ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Integrating soil conservation practices and glyphosate-resistant crops: impacts on soil. **Pest Management Science**, [S.l.], v. 64, n. 4, p. 457–469, 2008.
- LU, G. Engineering *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in oilseed crops. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 2, n. 12, p. 509–516, 2003.
- 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.
- MEDEIROS, F. H. V. de; GUIMARÃES, R. A.; SILVA, J. C. P. da; CRUZ-MAGALHÃES, V.; SOUZA, J. T. *Trichoderma*: interações e estratégias. In: MEYER, M. C. MAZARO, S. M., SILVA, J. C. da. **Trichoderma**: uso na agricultura. 1. ed. Brasília: Embrapa, DF, 2019.
- MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A. Teores de clorofilas e carotenóides na cana-de-açúcar submetida à aplicação de maturadores. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, 1., 2007, Botucatu. **Anais [...]** Botucatu: UNESP, 2007b. p. 296-298.
- MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; CORRÊA, M. R. Determinação do teor de lignina e celulose em amostras de *Brachiaria decumbens* submetidas à subdoses de glyphosate. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, 1., 2007, Botucatu. **Anais [...]**, Botucatu: FCA-UNESP, 2007a. p. 82-84.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; NUNES JUNIOR, J.; VENANCIO, W. S.; GODOY, C. V. Chemical control of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) on soybean in Brazil. **Acta Phytopathologica Sinica**, [S.l.], v. 43, p. 137, 2013.
- MORRAL, R. A. A. A preliminary study of the influence of water potential on *sclerotium* germination in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Botany**, [S.l.], v. 55, p. 8-11, 1977.
- NELSON, B. D.; HELMS, T. C.; OLSON, M. A. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, [S.l.], v. 75, n. 7, p. 662-665, 1991.

NELSON, D.R.; DUXBURY, T. The distribution of acetohydroxyacid synthase in soil bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.l.], v. 93, p. 123-132, 2008.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S. de. Mecanismos de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S. de.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011. 348 p.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

OLIVEIRA, S. H. F. de. **Controle químico de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro: ação in vitro sobre o ciclo de vida, ação preventiva e curativa em condições controladas, eficiência e modo de aplicação em campo**. 1998. 92 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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.

PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, [S.l.], v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012.

PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, [S.l.], v. 19, p. 279-283, 1986.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T.; FERREIRA, A.; PRANDO, H. F.; TCACENCO, F. A.; GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. da S. Seletividade de agrotóxicos utilizados na cultura do arroz irrigado ao fungo *Metarhizium anisopliae*, agente de controle microbiano de *Tibraca limbativentris*. **Ciência Rural**, [S.l.], v. 40, n. 4, p. 745-751. 2010.

REIS, M. R.; LEÃO, E. U.; SANTOS, G. R.; SARMENTO-BRUM, R. B. C.; GONÇALVES, C. G.; CARDON, C. H.; SILVA, D. B. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma* spp. **Planta Daninha**, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 419-426, 2013.

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.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 279–302.

RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, [S.l.], v. 8, article 294, 2017.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. Netherlands: Springer Science Business Media BV, 2008.

SCHWARTZ, H. F.; STEADMAN, J. R. White mold. In: Schwartz HF, Pastor-Corrales MA, eds. **Bean Production Problems in the Tropics**. 2nd edn. Cali, Colombia: CIAT, 1989. 211–30.

SHANER, D. L.; ANDERSON, P. C.; STIDHAM, M. A. Imidazolinones potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 76, p. 545-546, 1984.

SHEHATA, A. A.; SCHRODL, W.; ALDIN, A. A.; HAFEZ, H. M.; KRUGER, M. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota *in vitro*. **Current Microbiology**, [S.l.], v. 66, p. 350–358, 2013.

SIKORSKI, J. A.; GRUYS, K.J. Understanding glyphosate's molecular mode of action with EPSP synthase: evidence favoring an allosteric inhibitor model. **Accounts of Chemical Research**. [S.l.], v. 30, P. 2–8, 1997.

SILVA, E. R. L.; ALVES, L. F. A.; SANTOS, J.; PO-TRICH, M.; SENE, L. Técnicas para avaliação *in vitro* do efeito de herbicidas sobre *Bacillus thuringiensis* Berliner var. kurstaki. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.l.], v. 75, n. 1, p. 59-67, 2008.

SOSA-GÓMEZ, D. R. **Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2005.

TAN, S.; EVANS, R.R.; DAHMER, M.L.; SINGH, B.K.; SHANER, D.L. Imidazolinonetolerant crops: history, current status and future. **Pest Management Science**, [S.l.], v. 61, p. 246–257, 2005.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H. de; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, [S.l.], v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TOUBIA-RAHME, H.; ALI-HAIMOUD, D.E.; BARRAULTT, G.; ALBERTINI L. Inhibition of *Dreschlera teres* sclerotoid formation in barley straw by application of glyphosate or paraquat. **Plant Disease**, [S.l.], v. 79, p. 595-598, 1995.

TOUBIA-RAHME, H.; ALI-HAIMOUD, D.E.; BARRAULTT, G.; ALBERTINI L. Inhibition of *Dreschlera teres* sclerotoid formation in barley straw by application of glyphosate or paraquat. **Plant Disease**, [S.l.], v. 79, p. 595-598, 1995.

TU, J. C. The role of white mold-infected white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds in the dissemination of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Phytopathology**, [S.l.], v. 121, p. 40-50. 1988.

TZIN, V.; GALILI, G.; AHARONI, A. **Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis**. Chichester: John Wiley & Sons, 2012.

VIEIRA, R. F.; PAULA JÚNIOR, T. J. Sementes: veículos de disseminação de patógenos. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 600 p.

VIEIRA, R. F.; PAULA JÚNIOR, T. J. Sementes: veículos de disseminação de patógenos. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 600 p.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, [S.l.], v. 33, p. 825-831, 2004.

ANNEX I

Table 11 - Description of the experimental treatments used. UFLA, Lavras/MG, 2021.

Treatment	Factor A - Herbicide	Factor B - Bioproduct
1	Haloxifop-p-methyl	<i>T. harzianum</i>
2	Glyphosate N-ammonium salt	<i>T. harzianum</i>
3	Fluasifop-p-butyl	<i>T. harzianum</i>
4	Fomesafen	<i>T. harzianum</i>
5	Chlorimuron ethyl	<i>T. harzianum</i>
6	Imazapyc + Imazapyr	<i>T. harzianum</i>
7	---	<i>T. harzianum</i>
8	Haloxifop-p-methyl	<i>T. asperellum</i>
9	Glyphosate N-ammonium salt	<i>T. asperellum</i>
10	Fluasifop-p-butyl	<i>T. asperellum</i>
11	Fomesafen	<i>T. asperellum</i>
12	Chlorimuron ethyl	<i>T. asperellum</i>
13	Imazapyc + Imazapyr	<i>T. asperellum</i>
14	---	<i>T. asperellum</i>

Source: The author (2021).

ANNEX II

Table 12 - Description of the treatments used in the field. UFLA, Lavras/MG, 2021. (continued)

TRAT	Herbicide	Biological	Application		Active Ingredient Dose	Commercial Product Dose
			1°	2°		
1	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Haloxifop-p-methyl	<i>T. harzianum</i>	---	V4	124.7 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 0.5 L ha ⁻¹
2	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Glyphosate N-ammonium salt	<i>T. harzianum</i>	---	V4	445.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 6.0 L ha ⁻¹
3	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Fluasifop-p-butyl	<i>T. harzianum</i>	---	V4	250.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 1.0 L ha ⁻¹
4	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Fomesafen	<i>T. harzianum</i>	---	V4	250.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 1.0 L ha ⁻¹
5	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Chlorimuron ethyl	<i>T. harzianum</i>	---	V4	250.0 g kg ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 80.0 g ha ⁻¹
6	---	<i>T. harzianum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Imazapyc + Imazapyr	<i>T. harzianum</i>	---	V4	525.0 g kg ⁻¹ + 175.0 g kg ⁻¹ + 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 150.0 g ha ⁻¹
7	---	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1.0 x 10 ¹⁰ CFU g ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
8	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Haloxifop-p-methyl	<i>T. asperellum</i>	---	V4	124.7 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 0.5 L ha ⁻¹
9	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Glyphosate N-ammonium salt	<i>T. asperellum</i>	---	V4	445.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 6.0 L ha ⁻¹
10	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Fluasifop-p-butyl	<i>T. asperellum</i>	---	V4	250.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 1.0 L ha ⁻¹
11	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Fomesafen	<i>T. asperellum</i>	---	V4	250.0 g L ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 1.0 L ha ⁻¹

Table 12 - Description of the treatments used in the field. UFLA, Lavras/MG, 2021. (continued)

TRAT	Herbicide	Biological	Application		Active Ingredient Dose	Commercial Product Dose
			1°	2°		
12	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Chlorimuron ethyl	<i>T. asperellum</i>	---	V4	250.0 g kg ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 80.0 g ha ⁻¹
13	---	<i>T. asperellum</i>	V2	---	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
	Imazapyc + Imazapyr	<i>T. asperellum</i>	---	V4	525.0 g kg ⁻¹ + 175.0 g kg ⁻¹ + 1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹ + 150.0 g ha ⁻¹
14	---	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	1.0 x 10 ¹⁰ conidia mL ⁻¹	150.0 g ha ⁻¹
15	---	Fluazinam	R1	10 DAA	500.0 g L ⁻¹	1 L ha ⁻¹
16	---	---	---	---	---	---

Source: The author (2021).