



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

THIAGO COSTA FERREIRA

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Sclerotinia*
sclerotiorum EM SEMENTES DE SOJA
TRATADAS COM FUNGICIDAS E AGENTES
BIOLÓGICOS**

Lavras – MG

2015

THIAGO COSTA FERREIRA

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM SEMENTES
DE SOJA TRATADAS COM FUNGICIDAS E AGENTES
BIOLÓGICOS**

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

Orientador

Prof. PhD. José da Cruz Machado

Coorientador

Prof. PhD. Flávio Henrique V. Medeiros

Lavras – MG

2015

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

Ferreira, Thiago Costa.

Níveis de inoculo de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja
tratadas com fungicidas e agentes biológicos/.

Thiago Costa Ferreira. – Lavras: UFLA, 2015.

65p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador (a): José da Cruz Machado.

Bibliografia.

1. Mofo Branco. 2. Soja. 3. Controle químico. 4. Controle Biológico.
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

THIAGO COSTA FERREIRA

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM SEMENTES
DE SOJA TRATADAS COM FUNGICIDAS E AGENTES
BIOLÓGICOS**

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

APROVADA em 15 de julho de 2015.

Dr. Mário Sobral de Abreu

UFLA

Dra. Carla Lima Corrêa

UNEMAT

Orientador

Prof. PhD. José da Cruz Machado

Coorientador

Prof. PhD. Flávio Henrique V. Medeiros

Lavras – MG

2015

Ao meu avô **Antônio Ramos** (*in memoriam*), que por conta de todo o seu amor, paciência, ensinamentos, compreensão e caridade contribuíram para que, não só este, mas vários bons momentos em minha vida fossem realizados.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus por toda a graça, paz, luz e conhecimentos ofertados a nós todos.

À minha família, pelo apoio e compreensão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Fitopatologia (DFP), pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFLA, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Prof. PhD. José da Cruz Machado e ao Prof. PhD. Flávio Henrique, pelo acolhimento, orientação, incentivo e ensinamentos, base sólida para a consolidação desta fase de vida.

Ao professor Edson Ampélio Pozza e sua equipe pela ajuda no entendimento dos resultados estatísticos.

Aos amigos Adalvan Martins, Andrés Maurício, Antônio Roberto, Cristian David, Paulo César, Wendel Maciel e em especial ao Bruno Moretti, pois sem a ajuda destes, este trabalho seria muito dificultoso de ser realizado.

Aos amigos da Rep 514, Eduardo e Helon, pela amizade.

A toda equipe do Laboratório de Patologia de Sementes da UFLA.

A todos os amigos e parceiros de Lavras, músicos e leigos, pela oportunidade de conhecer e entender cada dia mais que somos um só povo.

“Todas as coisas foram feitas por intermédio Dele; sem Ele, nada do que existe teria sido feito.”

[\[João 1:3\]](#)

“O que vale não é o quanto se vive... mas como se vive...”

[Pr. Martin Luther King]

“Não troco o meu '*oxente*' pelo '*ok*' de ninguém!”

[Ariano Suassuna]

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Aspectos econômicos da cultura da soja.....	13
2.2 Aspectos gerais do mofo branco em soja.....	14
2.3 Controle biológico do mofo branco	16
2.4 Controle químico do mofo branco	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Procedimento para obtenção de diferentes níveis de potencial de inóculo de <i>S. sclerotiorum</i> em sementes de soja.....	20
3.2 Tratamento químico e biológico das sementes de soja	21
3.3 Testes de avaliações de desempenho do tratamento de sementes.....	21
3.4 Testes de vigor	23
3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÕES	53
7. REFERÊNCIAS	54

RESUMO

O mofo branco causado por *S. sclerotiorum* em soja pode ser disseminado por sementes, havendo poucas informações sobre o tratamento de sementes para o seu controle. Neste estudo, foram avaliados os efeitos dos tratamentos químico e biológico no controle de *S. sclerotiorum* associado às sementes de soja em diferentes potenciais de inóculo sob condições controladas. Os diferentes potenciais de inóculo, P₀, P₂₄, P₄₈, P₇₂ e P₉₆, correspondentes a 0, 24, 48, 72 e 96 horas de exposição das sementes ao patógeno, foram obtidos pela técnica de condicionamento osmótico. As sementes inoculadas foram tratadas com tiofanato metílico + fluazinam, *T.harzianum* e *T. asperellum*, em separado. Foram avaliadas a sanidade, a germinação e o vigor das sementes e plântulas. O ensaio foi conduzido a 20 °C e 25 °C. Nos testes *in vitro*, o controle do patógeno ocorreu somente com o uso dos fungicidas químicos no potencial de inóculo P₂₄. Não foi constatada a doença no potencial P₀. A 20 °C os efeitos da doença foram mais drásticos e a eficácia do tratamento sanitário foi menor em ambos os tratamentos. De modo geral *T. harzianum* controlou mais a doença em relação a *T. asperellum*, embora do ponto de vista epidemiológico as diferenças não tenham sido significativas. Conclui-se que o tratamento sanitário das sementes para o controle de mofo branco a partir das sementes contaminadas apresenta-se eficaz em condições de baixo potencial de inóculo (P₂₄).

Palavras-chave: *Glycine max* L. *Sclerotinia sclerotiorum*. sanidade.

ABSTRACT

The white mold, caused by *S. sclerotiorum* on soybean can be spread by seed, with little information on seed treatment to control it. In this study, the effects of chemical and biological treatments were evaluated for the control of *S. sclerotiorum* associated with soybean seeds in different inoculum potentials under controlled conditions. The different inoculum potentials P0, P24, P48, P72 and P96, corresponding to 0, 24, 48, 72 and 96 hours of exposure to the pathogen seeds were obtained by water restriction technique. The inoculated seeds were treated with methyl thiophanate + fluazinam, *T.harzianum* and *T. asperellum* separately. Sanity, germination and vigor of seeds and seedlings were evaluated. The trial was conducted at 20 °C and 25 °C. In vitro testing, pathogen control occurred only with the use of chemical fungicides in P24 inoculum potential. It was not detected the disease in potential P0. At 20 °C the effects of disease were more drastic and the effectiveness of sanitary treatment was lower in both treatments. In general, *T. harzianum* was more effective in the control of the disease than *T. asperellum*, although under epidemiological point of view the differences were not significant. It concluded that the sanitary treatment of seeds to control white mold from contaminated soybean seeds has become effective at low inoculum potential conditions (P24).

Keywords: Glycine max L., Sclerotinia sclerotiorum, sanity.

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das culturas agrícolas mais importantes do Brasil, em se destacando como sendo o segundo maior país produtor desta leguminosa (HIRAKURI; LAZAROTTO, 2011), com grande produção anual e expressiva participação na economia brasileira (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTAECIMENTO do BRASIL, 2014). Com os avanços tecnológicos, o cultivo da soja ainda está sujeito à ocorrência de inúmeras doenças que ocasionam perdas de produção e/ou produtividade (HENNEBERG et al., 2011).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary tem sido destacada em diversas regiões agrícolas no mundo inteiro como um patógeno altamente agressivo aos cultivos comerciais (BOTELHO, 2011; JULIATTI et al., 2011), sendo responsável por perdas de produção significativas em várias circunstâncias (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; XIMENES, 2013).

O patógeno possui ampla gama de hospedeiros (CUNHA, 2010; HENNEBERG et al., 2011); alta capacidade de sobreviver no campo como escleródios (AGRIUS, 2005; CUNHA, 2010; HENNEBERG et al., 2011); além de ser facilmente disseminado por meio de sementes contaminadas e/ou infectadas (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; BOTELHO, 2011; MACHADO; MACHADO, 2011). Muitas dificuldades existem para o seu controle (BOTELHO, 2011).

No entanto, o tratamento de sementes é um método recomendado muito importante de controle desta doença, reduzindo fontes de inóculo, com a utilização de quantidades mínimas de produtos e tendo baixo custo para o produtor (HENNEBERG et al., 2011; SAHARAN; MEHTA, 2008).

O tratamento das sementes com produtos químicos para o controle do mofo branco tem sido uma prática bastante sugerida aos sojicultores brasileiros, e os produtos mais utilizados, oficialmente registrados, pertencem ao grupo dos protetores e dos erradicantes (HENNEBERG et al., 2011; PRADO, 2014).

Com relação ao controle biológico, o alvo tem sido o controle de *S. sclerotiorum* sob a parte aérea do cultivo ou associado à palhada no sistema de plantio direto, em primeiro plano; e em segundo, o tratamento de sementes com a utilização de espécies de *Trichoderma spp.*, fungos antagonistas, saprófitas, com vários produtos comerciais formulados para esta finalidade (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; CARVALHO FILHO, 2013; OLIVEIRA, 2005; PEREIRA et al., 2013).

Estes métodos têm sido bastante utilizados em campos produtivos para o controle em baixos níveis de inóculo de sementes (CARVALHO FILHO; 2013; PEREIRA et al., 2013), porém pouco se sabe sobre a efetividade destes produtos em sementes de soja em função de níveis variáveis de potencial do inóculo.

Neste trabalho, o objetivo foi avaliar a influência de diferentes potenciais de inóculo de *S. sclerotiorum* em sementes de soja tratadas com produtos químicos e biológicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos econômicos da cultura da soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma planta pertencente à família das Fabáceas (Leguminosas), de origem asiática, considerada uma das principais “Commodities” agrícolas do mundo. O aumento da área plantada no mundo está relacionado com a utilização de suas sementes para a produção de proteína utilizada na alimentação animal e humana e na produção do óleo e seus subprodutos com diversas finalidades industriais (BOTELHO, 2011; BOTELHO et al., 2013).

Os maiores consumidores mundiais (importadores) de soja são os países asiáticos, como China, Japão e Taiwan, que juntos consomem 68% de toda a soja produzida no mundo (USDA AGRICULTURAL PROJECTIONS TO 2023, 2014). O Brasil e os Estados Unidos são os maiores exportadores mundiais com 39,5 % e 37,7% respectivamente (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTAECIMENTO DO BRASIL, 2014; USDA AGRICULTURAL PROJECTIONS TO 2023, 2014).

A produção mundial de soja para o ano de 2014 foi de 285.304 toneladas, sendo 32,2% produzidos pelos Estados Unidos (92.261 t), 29,1% (87.859,4 t) pelo Brasil e 19,1% (54.500 t) pela Argentina. Estes três países juntos são responsáveis por 81,23% de toda a soja produzida no mundo (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTAECIMENTO DO BRASIL, 2014; USDA AGRICULTURAL PROJECTIONS TO 2023, 2014).

No Brasil, a safra de 2013/14 apresenta uma produção de 87.859,4 toneladas em área plantada de 29.522 ha. O Estado do Mato Grosso é o responsável pela maior produção do país, com cerca de 26.000 toneladas, seguido pelos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTAECIMENTO DO BRASIL, 2014).

As cultivares modernas de soja cultivadas no Brasil têm uma produtividade de cerca de três toneladas de grãos/ha, dentre estas, pode-se

destacar a cultivar de ciclo médio M-7211RR, ajustada para as condições ambientais do Sudeste brasileiro (MENDES, 2014; MONSOY, 2015).

Um dos fatores de risco para a produção econômica da soja no Brasil tem sido a ocorrência de doenças, cujos danos iniciam-se a partir da germinação das sementes. Entre os fungos fitopatogênicos que contribuem para perdas na produção da soja no Brasil estão: *Colletotrichum truncatum*, agente etiológico da antracnose; *Phakopsora pachyrhizi*, da ferrugem asiática; *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis*, do cancro da haste; *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, da podridão vermelha da raiz; *Peronospora manshurica*, do míldio da soja e *Sclerotinia sclerotiorum*, da podridão branca da haste ou mofo branco (ALMEIDA et al., 2005; BORKERT et al., 1994; EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2010; MENDES, 2014).

2.2 ASPECTOS GERAIS DO MOFO BRANCO EM SOJA

O mofo branco é uma doença altamente destrutiva cujo agente etiológico é o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, que infecta mais de 400 espécies diferentes, como por exemplo, o feijão comum, a soja, o algodão, dentre outras (ALMEIDA et al., 2005; BOLAND; HALL, 1994; BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; GRABICOSKI, 2012).

O ciclo de vida de *S. sclerotiorum* é monocíclico (não existe inóculo secundário), ocorrendo o favorecimento do patógeno durante as épocas mais amenas do ano (15 – 20 °C) (FISHER et al., 2014), com produção de escleródios nos tecidos epígeos (folhas, ramos, flores, vagens e sementes) dos hospedeiros. As estruturas de resistência permanecem dormentes durante as épocas mais amenas do ano e com umidade relativa do ar acima de 60% (FISHER et al., 2014; NAPOLEÃO et al., 2006).

Os escleródios ao germinarem, quando a temperatura se torna mais amenas, não toleram temperaturas altas acima de 25 °C (fator que limita um quadro epidêmico em determinados locais produtivos), produzem corpos de

frutificação chamados apotécios (hastes finas terminando em forma de taças de 5 - 15 mm de diâmetro), e que contêm os ascos e seus ascósporos, os quais são disseminados pelo vento (ALMEIDA et al., 2005; FISHER et al., 2014; OLIVEIRA, 2005; PEREIRA et al., 2013; SAHARAN; MEHTA, 2008).

Estes ascósporos disseminados ao encontrarem um hospedeiro susceptível iniciam a infecção e rapidamente aparecem aglomerados miceliais brancos, ocorrendo também os sintomas característicos de acordo com a cultura afetada, e no fim da estação de crescimento ocorre a produção de escleródios. Esses permanecem na superfície do solo, em restos culturais, em sementes e em plantas daninhas, permanecendo inativo até a próxima época de cultivo, quando as condições ambientais forem favoráveis a outro ciclo deste patógeno (BOTELHO, 2011; FISHER et al., 2014; GRABICOSKI, 2012; NAPOLEÃO et al., 2006; SAHARAN; MEHTA, 2008).

Segundo Garcia et al. (2010), temperaturas amenas, plantio em sucessão de culturas com espécies altamente suscetíveis, cultivos irrigados e o uso de sementes contaminadas/infectadas, são as formas mais comuns e eficazes de entrada e disseminação do inóculo nas áreas de cultivo (PEREIRA et al., 2013; XIMENES, 2013).

O primeiro relato deste patógeno no Brasil ocorreu na década de 20, na região Sul, mais precisamente no Estado do Paraná em plantio com a cultura da batata (GRABICOSKI, 2012). A primeira epidemia em soja ocorreu em meados de 1976, no estado do Paraná, passando a ser disseminado em diversas áreas de cultivo intensivo desta cultura (CUNHA, 2010).

As perdas de produtividade na cultura da soja causadas por *S. sclerotiorum* são estimadas em mais de 30% (BOTELHO, 2011; HENNENBERG et al., 2011; LITHOLDO JÚNIOR et al., 2011). Segundo

Ximenes (2013), o início de perdas significativas em lavouras de soja iniciou-se a partir da safra 2005/2006, coincidindo com o aumento das áreas de soja RR (soja transgênica) e aumento do uso de fungicidas. Outras safras com maiores danos foram as de 2008/2009 e 2010/2011; e a safra com menor incidência da doença foi a de 2011/2012. Este autor ainda menciona que as perdas de produtividade podem aproximar-se de 70%, em campos altamente infectados.

Ensaio que simulem um alto potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* em sementes de soja, visando estudos acerca da dinâmica do controle desta doença, podem ser realizados com a utilização da técnica do condicionamento osmótico, que consiste em colocar sementes isentas de *S. sclerotiorum* sobre o crescimento micelial deste fungo. O meio de cultura utilizado para esta técnica é composto por BDA e um restritor hídrico, que têm a função de favorecer a troca osmótica entre o meio de cultura e as sementes, sem permitir que haja a protrusão radicular destas e possibilitando o contato por longos períodos de tempo da semente com o patógeno (MACHADO; MACHADO, 2011).

Para ensaios com sementes de soja e mofo branco é comumente utilizado como restritor hídrico o manitol, açúcar facilmente dissolvido em água, que, quando utilizado seguindo as recomendações propostas por Machado e Machado (2011), propicia um crescimento satisfatório do micélio fúngico, possibilitando que este seja abundante em cima da superfície do meio de cultura, sobre o qual as sementes são colocadas e mantidas por períodos de tempo determinados.

2.3 CONTROLE BIOLÓGICO DO MOFO BRANCO

O controle biológico no contexto de manejo de doenças de plantas consiste na introdução de microrganismos no agroecossistema visando ao

controle de fitopatógenos (NAGARAJKUMAR; BHASKARAN; VELAZHAHAN, 2004). Inúmeras são as espécies com potencial para este fim, com destaque para *Trichoderma* spp., devido a sua eficiência e facilidade de estabelecimento no solo (SAHARAN; MEHTA, 2008).

Este fungo tem sua fase teleomórfica representada pelo gênero *Hypocrea* e realiza o controle biológico por meio de diferentes mecanismos de ação (HOWEL, 2003; MELO, 1998; SHORESH; HARMAN; MASTOURI, 2010; VINALE et al., 2008) como a produção de substâncias antifúngicas (antibióticos), competição por nicho e alimento e hiperparasitismo (HARMAN et al., 2004; MELO, 1996; VINALE et al., 2008).

Carvalho Filho (2013) e Paula Júnior et al. (2009) referenciam que o tratamento biológico utilizando *Trichoderma* spp., principalmente no sistema de plantio direto (SPD), tem viabilizado a atividade de antagonistas pelo aumento natural da matéria orgânica no solo. Também são utilizados produtos formulados à base destes microrganismos que controlam mofo branco pela ação de metabólitos e pela ação parasita de suas hifas sobre o patógeno (CARVALHO FILHO, 2013; OLIVEIRA, 2005; PEREIRA et al., 2013).

Dentre as espécies de *Trichoderma* utilizadas no controle biológico do mofo branco, estão *T. harzianum* e *T. asperelum*, que apresentam uma função no controle de fungos por micoparasitismo, competição dentro do nicho e antibiose. Estas são responsáveis por favorecerem a indução de resistência nas plantas, sendo usado para a aplicação foliar, tratamento das sementes e ao tratamento do solo para a supressão de vários patógenos causadores de fitodoeças (CARVALHO FILHO, 2013; GÖRGEN et al., 2009; PAULA JÚNIOR et al., 2009; PAULA JÚNIOR et al., 2012).

Carvalho et al. (2011) descrevem a utilização de *Trichoderma* spp. para o controle biológico do mofo branco em feijão, sendo este bastante eficaz, restringindo em mais de 90% o crescimento fúngico. Em outros estudos, foram observados que diversos isolados de *Trichoderma* produzem

metabólitos não voláteis e que também parasitam o patógeno em condições controladas (LOBO JÚNIOR; ABREU, 2000). Diversos outros pesquisadores descrevem a eficácia do controle biológico do mofo branco.

Carvalho Filho (2013) descreve que diferentes isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram altos níveis de inibição micelial de *S. sclerotiorum*. Castillo et al. (2011) relatam que diferentes isolados de *Trichoderma* apresentaram níveis entre 83,3 a 88,9% de inibição micelial de *S. sclerotiorum* e *S. cepivorum* por metabólitos não voláteis, em testes *in vitro* pelo pareamento de culturas.

Carvalho Filho (2013), Ethur et al. (2005) e Ximenes (2013) citam a existência de produtos formulados e registrados no Brasil à base de espécies de *Trichoderma* spp. que podem ser utilizados no tratamento de sementes de soja contra o mofo branco. Segundo o Agrofit (2015), no País, estão registradas duas marcas comerciais para uso em sementes de produtos à base de *T. asperelum* (Quality ®) e de *T. harzianum* (Ecotrich WP ®).

De modo geral, pouco se sabe sobre o desempenho do tratamento biológico de sementes com diferentes potenciais de mofo branco em sementes com o uso de *Trichoderma*.

2.4 CONTROLE QUÍMICO DO MOFO BRANCO

Existe atualmente um volume satisfatório de informações sobre o tratamento químico de sementes visando ao controle de mofo branco de soja (BOTELHO, 2011; BOTELHO et al., 2013; MENDES, 2014; ZANCAN, 2011; ZANCAN et al., 2012; ZANCAN et al., 2015). Para este tratamento, são utilizadas substâncias sintéticas que agem sobre os patógenos em sementes (MENTEN; MORAES, 2010; SAHARAN; MEHTA, 2008), eliminando ou diminuindo o nível de infecção, garantindo assim o estabelecimento pleno da cultura no campo (MACHADO, 2000).

Para o caso de *S. sclerotiorum* em soja, estes produtos são eficazes em reduzir o inóculo em sementes (PRADO, 2014) e a restringir a produção e atuação de estruturas de resistência em campo.

O controle químico do mofo branco tem sido praticado de forma crescente e indiscriminada na maioria das áreas de cultivo de soja no Brasil, principalmente em locais com condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento desta doença.

É importante ressaltar que atualmente existem no Brasil apenas alguns produtos registrados oficialmente para tratamento de sementes de soja visando ao controle de *S. sclerotiorum*, como por exemplo, a mistura comercial de fluazinam e tiofanato metílico, conhecido como Certeza® (CAMPOS et al., 2011; JULIATTI et al., 2011; PRADO, 2014).

No entanto, no mercado existem outros produtos químicos registrados para o tratamento de sementes de soja visando ao controle de outros fungos fitopatogênicos a esta cultura, tais como *Phomopsis*, *Colletotrichum truncatum*, *Cercospora*, dentre outros, os quais possuem também efeito sobre o agente do mofo branco em campo (BRASIL, 2015).

O objetivo central deste trabalho é avaliar diferentes níveis de inóculo de *S. Sclerotiorum* que influenciam na eficácia do tratamento sanitário de sementes de soja e na sua detecção.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia de Sementes (LAPS) do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes de soja, cultivar 7211 IPRO, Monsoy ®, com características RR e moderadamente susceptível a *S. sclerotiorum* (MONSOY, 2014). Inicialmente as sementes foram submetidas aos testes de sanidade (*blotter* teste e incubação em meio Neon), e de germinação (rolo de papel) e vigor (tetrázólio) conforme recomendações das RAS (BRASIL, 2015). O isolado de *S. sclerotiorum*, Ref. LAPS 242, foi procedente de plantas de soja produzidas no município de Barreiras - BA, com virulência comprovada anteriormente (BOTELHO, 2011).

3.1 Procedimento para obtenção de diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* em sementes de soja

Inicialmente as sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (1% por 1 minuto), lavadas em água esterilizada (uma vez) e secas em temperatura ambiente por 24 horas. O isolado de *S. sclerotiorum* foi cultivado em placas de Petri (15 cm de diâmetro) contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido do soluto manitol, com potencial osmótico ajustado para -1,0 Mpa (73,04 g/L), conforme o *software* SPMM (MICHEL; RADCLIFFE, 1995). Foram depositados discos de 5 mm de diâmetro contendo micélio do fungo ao centro das placas, as quais foram colocadas e mantidas em câmara tipo BOD (temperatura: 20 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas diárias) pelo período de cinco dias (MACHADO et al., 2001).

Após a incubação, 50 g de sementes de soja desinfestadas foram distribuídas (camada única) sobre a colônia fúngica e mantidas sob as mesmas condições anteriormente relatadas por diferentes períodos de exposição (24, 48 e 72 e 96 horas), correspondendo estes períodos aos

potenciais de inóculo: P24, P48, P72 e P96, respectivamente, havia um potencial testemunha P0 em que as sementes não entraram em contato com o crescimento micelial (BOTELHO, 2011). Como testemunha para o manitol, foram utilizadas sementes de soja, expostas às mesmas condições acima relatadas, porém sem a presença de *S. sclerotiorum*. Posteriormente, todas as sementes foram secas em temperatura ambiente por 24 horas.

3.2 Tratamento químico e biológico das sementes de soja

Sementes de cada potencial de inoculação foram divididas em quatro partes iguais, que foram submetidas aos tratamentos: 1- Controle, não tratadas; 2- tiofanato metílico + fluazinam (Certeza®), tratadas de acordo com as especificações do fabricante (180 ml/100 kg de sementes); 3- tratadas com Trichodermil® SC 1306 (*Trichoderma harzianum*), na proporção de 100 g/100 kg de sementes de soja, 4 - tratadas com Quality® (*Trichoderma asperelum*), na proporção de 100 g/100 kg de sementes de soja. Os tratamentos foram realizados de acordo com a metodologia proposta por Machado e Machado (2011).

3.3 Testes de avaliações de desempenho do tratamento de sementes

3.3.1 Teste de germinação: Este teste foi realizado em bandejas com areia estéril, consistindo em quatro repetições de 25 sementes/tratamento, acondicionadas em câmara de germinação (sete dias/25 ± 2 °C), ocorrendo a contagem de sementes germinadas após sete dias de plantio, metodologia adaptada da RAS (BRASIL, 2015).

3.3.2 Teste de sanidade (Neon): Consistiu do uso de BDA convencional (40 g/L) acrescido de azul de bromofenol (150 ml/L) e de estreptomicina (150 ml/L), com pH ajustado para 4,7 (modificado pela adição de HCl), essa mistura foi autoclavada (20 min/120 °C/1 atm) e vertida em placas de Petri (15 cm de diâmetro). Foram utilizadas oito repetições de vinte e cinco sementes/tratamento, na qual as sementes foram acondicionadas sob o meio

de cultura gelificado e estas foram acondicionadas em câmara de incubação (temperatura de 20 ± 2 °C; 12 horas de luz, por cinco dias). Exames foram realizados diariamente para verificar a formação de halos amarelados ao redor das sementes (BRASIL, 2015).

3.3.3 Teste de emergência. Para este teste, utilizamos quatro repetições de vinte sementes/tratamento; consistindo no semeio das sementes em copos plásticos contendo substrato autoclavado de areia, solo e composto orgânico, na proporção de 1:1:1. Todo material foi acondicionado em câmaras de crescimento vegetal com temperaturas ajustadas a 20 e 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas por 30 dias. Os copos plásticos dentro de bandejas plásticas foram regados homogeneamente de acordo com as recomendações para este tipo de ensaio. Os efeitos de *S. sclerotiorum* no desempenho das sementes de soja, tratadas e não tratadas, foram avaliados de acordo com as seguintes variáveis:

3.3.3.1 Estandes inicial e final: foram contadas todas as plantas presentes no substrato aos dez e trinta dias após a semeadura;

3.3.3.2 Índice de doença: foram avaliadas utilizando-se uma escala arbitrária com as seguintes notas: 0 – plantas assintomáticas; 2 – plantas emergidas com sintomas de murcha genérica e 5 – plantas ou sementes mortas em pré-emergência. Os valores anotados foram inseridos na fórmula de índice de doença proposta por Mckinney (1923):

$$II(\%) = \sum \frac{(f \cdot v)}{n \cdot x} \cdot 100$$

Sendo: II = Índice de doença (%); f = número de plantas com determinada nota; v = nota observada; n = número total de sementes avaliadas e x = grau máximo de infecção.

3.3.3.3 Altura (cm): foram consideradas 10 plantas aleatórias por parcela, no estande final, as quais foram medidas do colo até o ápice foliar com o uso de uma régua graduada;

3.3.3.4 Peso fresco e seco de plantas: metade das plantas presentes nas bandejas na época do estande final foi cortada em duas partes (aéreo e

radicular) e estas foram pesadas em seguida em balança digital (massa de matéria fresca). Posteriormente foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar (40 °C por 4 dias), depois sendo pesadas para a obtenção da matéria seca. Os pesos totais (fresco e seco) foram obtidos pela soma dos pesos aéreo e radicular (fresco ou seco).

3.3.3.5 Exame de plantas assintomáticas. Para esta análise foi utilizada a técnica do NEON: em vinte e cinco por cento das plantas assintomáticas foram retirados fragmentos na região do colo e da inserção cotiledonal (2 cm de comprimento), ocorreu assepsia do material e estes foram plaqueados em meio Neon (metodologia descrita anteriormente) (BOTELHO et al., 2013).

Para as variáveis de altura total e pesos fresco e seco os resultados foram transformados em média; as variáveis incidências em assintomáticas (Neon) e nos estandes (inicial e final) os resultados foram transformados em porcentagem.

3.4 Testes de vigor

3.4.1 Índice de velocidade de emergência (IVE): para esta avaliação foi utilizado o Teste de emergência em substrato, pelo qual foi realizada a contagem diária de plântulas com cotilédone exposto acima do solo, até a estabilização do estande (MENDES, 2014) e calculado pela fórmula proposta por Maguire (1961):

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots + \frac{En}{Nn}$$

Sendo: IVE = Índice de Velocidade de Emergência; N1... Nn = número de dias decorridos da sementeira até a respectiva contagem; e En = número de PL = plântulas emergidas em cada dia considerado;

3.4.2 Condutividade Elétrica: realizado para verificar a integridade das membranas. Quatro repetições de 50 sementes/tratamento foram colocadas dentro de recipientes plásticos (200 ml), acrescentando 70 mL de água deionizada, estes foram mantidos por 16h em câmara de germinação no

escuro a 25 °C. A condutividade elétrica da solução foi medida com condutivímetro.

3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

Para os ensaios *in vitro*, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado e para os *in vivo* foi utilizado o delineamento em blocos casualizados (MENDES, 2014). A análise de variância será realizada em esquema fatorial: cinco potenciais de inóculo (P0, P24, P48, P72 e P96) vezes quatro tratamentos (controle, químico, *T. harzianum* e *T. asperelum*). A análise das duas temperaturas foi feita em separado, sendo os resultados referentes à câmara de 20 °C transformados utilizando-se a transformação de $\sqrt{x+1}$ para que fosse gerada normalidade nos dados obtidos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Sisvar e as médias comparadas pelo teste de Skott-knot ($P < 0,05$), para o fator produtos, e regressão para o fator potencial de inóculo, dependendo da natureza dos dados. Os gráficos foram produzidos no programa Sigma Plot 11.0.

4 RESULTADOS

4.1 Teste *in vitro* de Sanidade e Vigor

As sementes utilizadas nestes experimentos apresentaram o seguinte perfil de qualidade: 89,5% de sementes viáveis pelo teste de Tetrazólio; germinação de 97,00%; zero percentual de *S. sclerotiorum*, pelo teste de Neon; 11,00% de *Rhizopus* sp., 6,50% de *Aspergillus* spp.; 4,00% de *Penicillium* spp. e 1,00% de *Colletotrichum truncatum* pelo *Blotter test*.

Para o teste de germinação, houve diferenças significativas ($p < 0.005$) somente para o fator potencial de inóculo (Tabela 1A). Para este fator, a presença do patógeno proporcionou a redução da germinação das sementes em todos os tratamentos, sendo este efeito progressivo com o aumento do potencial de inóculo; a queda de germinação foi de 90,91% no potencial de inóculo P96 em relação às sementes sem inoculação (P0) (Figura 1A). Em relação ao efeito dos diferentes tratamentos, não houve diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1B).

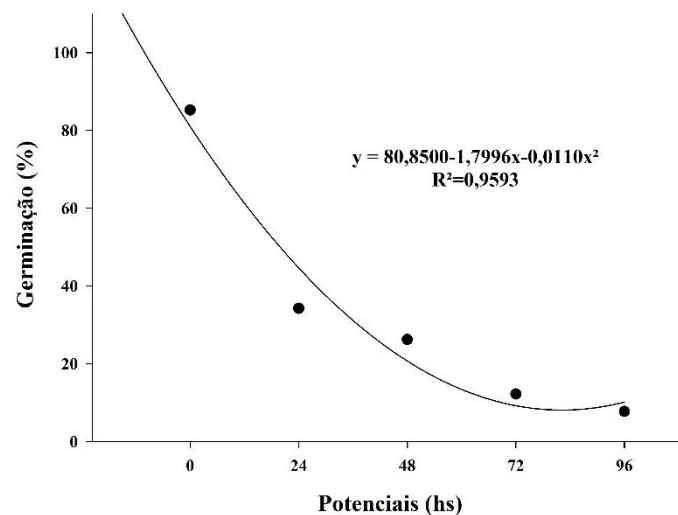


Figura 1 Regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para a variável germinação *in vitro* (%).

Com respeito ao teste de sanidade em sementes pelo método do Neon, houve diferenças significativas ($p < 0.001$) entre todos os fatores analisados e para suas interações (Tabela 1A). Para o desdobramento, em relação ao efeito do potencial de inóculo em função dos diferentes tratamentos, todos estes proporcionaram significância e apresentaram o modelo quadrático como o melhor ajuste (Figura 2B); com valores crescentes de acordo com o crescimento dos potenciais de inóculo. Para o fator tratamento em função dos diferentes potenciais de inóculo, somente o P0 não foi significativo ($p > 0,005$); em P48, P72 e P96, o tratamento com tiofanato metílico + fluazinan foi diferente dos demais (Tabela 1C).

Pelo teste de Condutividade Elétrica houve diferenças significativas ($p < 0.005$) entre todos os fatores analisados e para a interação entre estes (Tabela 1A). Para o potencial de inóculo em função dos diferentes tratamentos testados, podem ser observadas diferenças significativas entre todos os tratamentos (Tabela 1B), com o modelo quadrático como melhor ajuste, valores crescentes de acordo com os acréscimos dos potenciais (Figura 2B). Para o fator tratamentos em função dos diferentes potenciais de inóculo, foram observadas apenas significância ($p < 0.005$) para os potenciais P0, P24 e P48; nestes o tratamento químico e o *T. harzianum* foram diferentes dos demais produtos testados (Tabela 1C).

Pela avaliação dos fragmentos da região do coleto e da inserção dos cotilédones de plantas de soja obtidas nos testes *in vivo*, para as duas temperaturas (20 e 25 °C), e que foram plaqueados em meio Neon, não se detectou a ocorrência de *S. sclerotiorum* em nenhuma amostra testada.

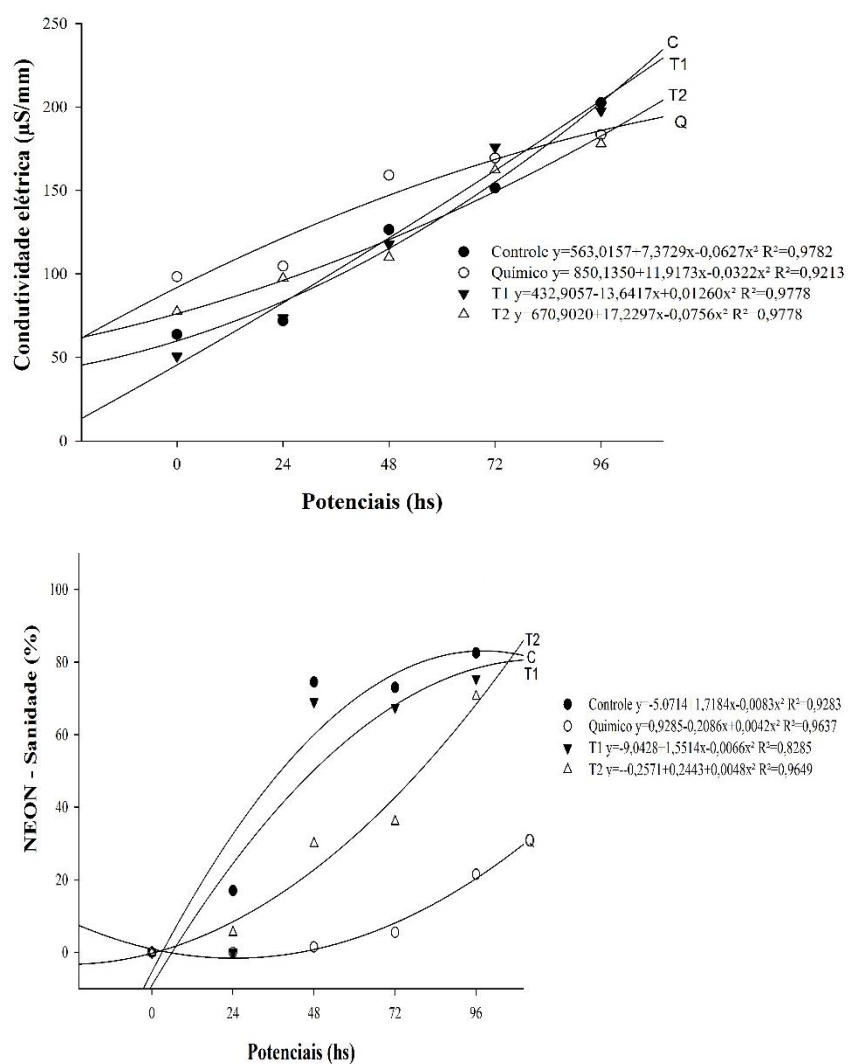


Figura 2 Análise de regressão da interação dos valores de Sanidade (Neon) e Condutibilidade Elétrica, A e B respectivamente, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

4.2 Testes *in vivo* (20 °C)

Todas as variáveis analisadas nesta condição de temperatura obtiveram resultados significativos ($p < 0.005$) para o fator potencial de inóculo (Tabela 2A); somente as variáveis: Estande Final e Índice de Doença obtiveram resultados significativos ($p < 0.005$) para o fator tratamentos (Tabela 2A) e para a interação entre os fatores, somente a variável Índice de Doença obteve valores significativos ($p < 0.005$).

Para o fator Potencial de inóculo, o modelo quadrático foi observado como o melhor ajuste para as variáveis: Estande inicial (Figura 3A) e Estande final (Figura 3B), IVE (Figura 4A), Peso Fresco Radicular (Figura 5B), Peso Seco Radicular (Figura 6B) e Total (Figura 7B), com valores de P96 cerca de 90,00; 93,06; 98,50; 3,41; 2,50; 9,85; % abaixo de P0 respectivamente. Para as demais variáveis, pode ser constatado que o modelo de regressão linear obteve melhor ajuste, sendo estas: altura média (Figura 4B); Peso Fresco Aéreo (Figura 5B) e Total (Figura 6A), Peso Seco Aéreo (Figura 7A) das plantas emergidas. Para estas, podem ser observados os seguintes decréscimos percentuais quando são comparados P0 e P96, respectivamente: 50,50; 2,20; 6,48; 2,46.

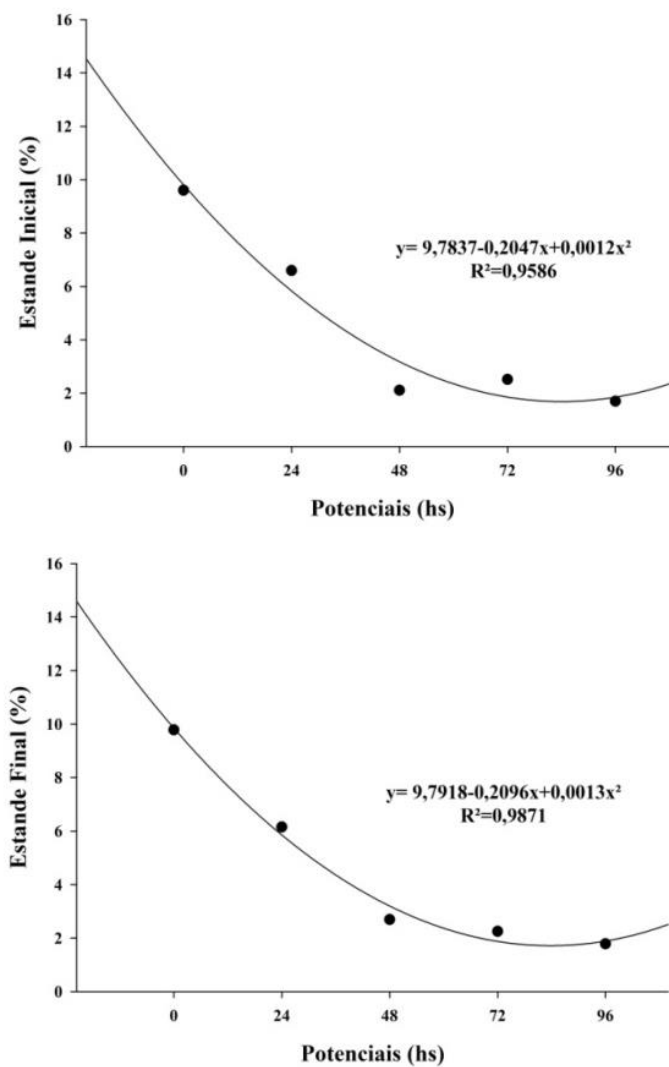


Figura 3 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para as variáveis Estande Inicial e Final (%) (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), em plântulas de soja cultivadas a 20 °C.

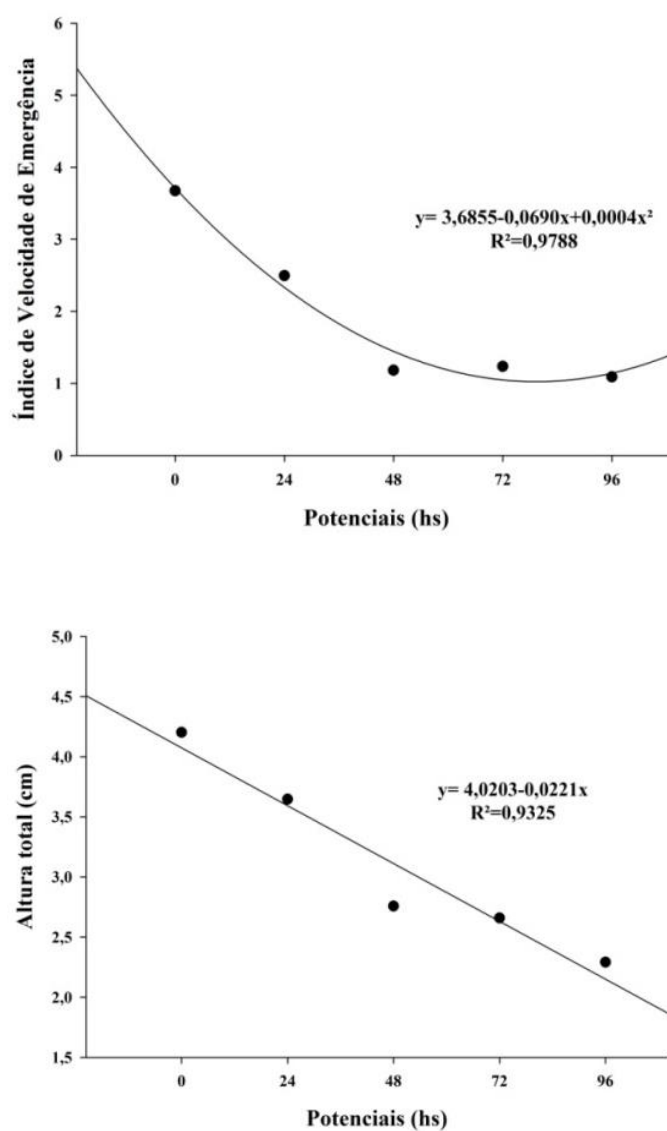


Figura 4 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para as variáveis Índice de Velocidade de Emergência e Altura Média (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), A e B respectivamente, em plântulas de soja cultivadas a 20 °C.

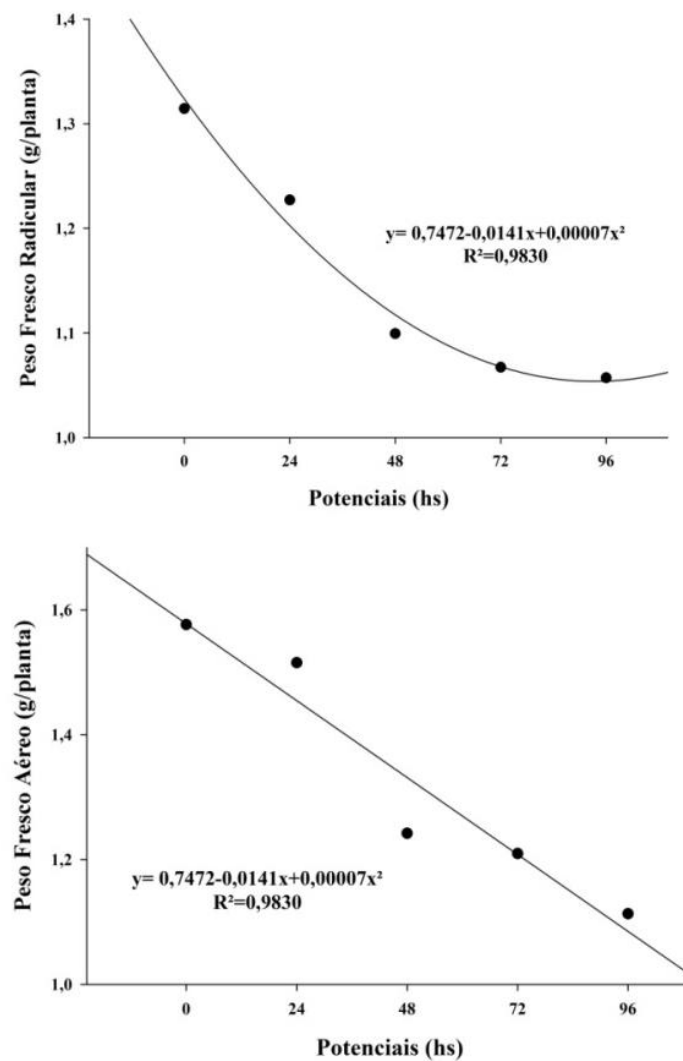


Figura 5 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para as variáveis Peso Fresco Radicular e Peso Fresco Aéreo (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), A e B respectivamente, em plântulas de soja cultivadas a 20 °C.

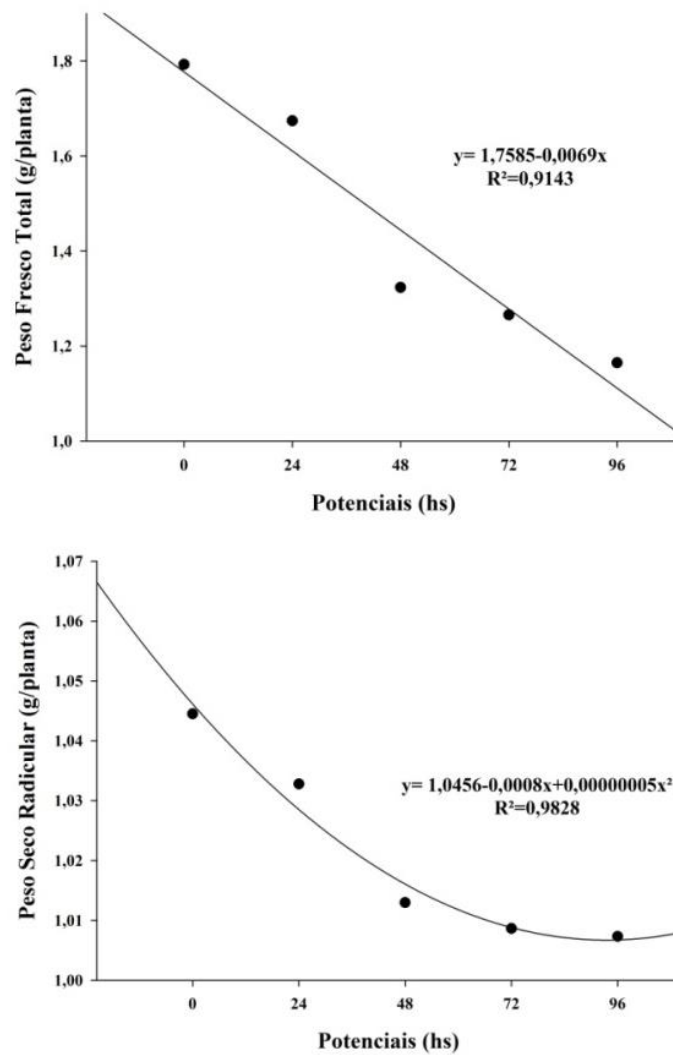


Figura 6 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para as variáveis Peso Fresco Total e peso Seco Total (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), A e B respectivamente, em plântulas de soja cultivadas a 20 °C.

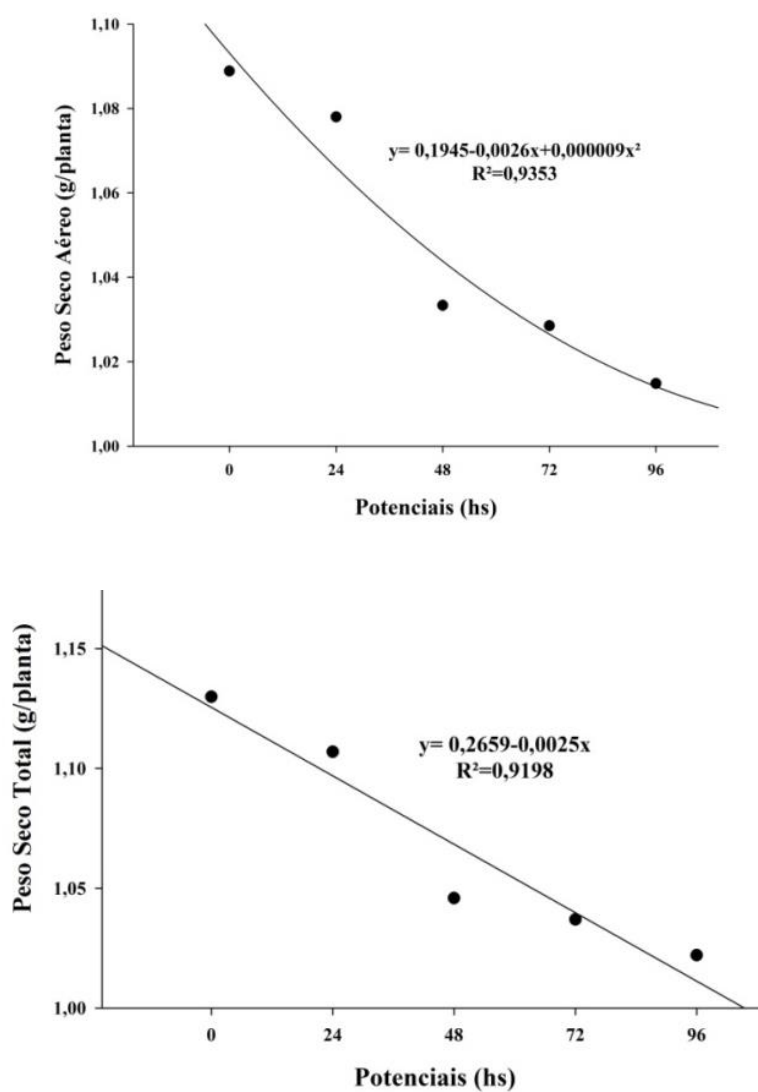


Figura 7 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para as variáveis: Peso Seco Aéreo e Peso Seco Total (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), A e B respectivamente, em plântulas de soja cultivadas a 20 °C.

Para o fator tratamentos, na variável Estande Final, pode ser observado resultados significativos ($p < 0.005$) (Tabela 2B), porém, segundo o teste de médias utilizado (Skott-Knot), não foi constatada diferenças entre os tratamentos (Tabela 2B).

Como fora dito anteriormente, para o quesito interação entre fatores, a variável Índice de Doença, obteve significância ($p < 0,005$). Sendo assim, para o fator potencial de inóculo em função dos tratamentos, pode ser observado o modelo quadrático de regressão em ambos, com menos valor em P96. Com respeito ao fator tratamentos em função dos diferentes potenciais de inóculo, somente P24 e P48 foram significativos ($p < 0.005$), em ambos, o tratamento químico diferiu dos demais, com 73,77% e 48,90% a menos que a média dos demais tratamentos respectivamente (Tabela 2C).

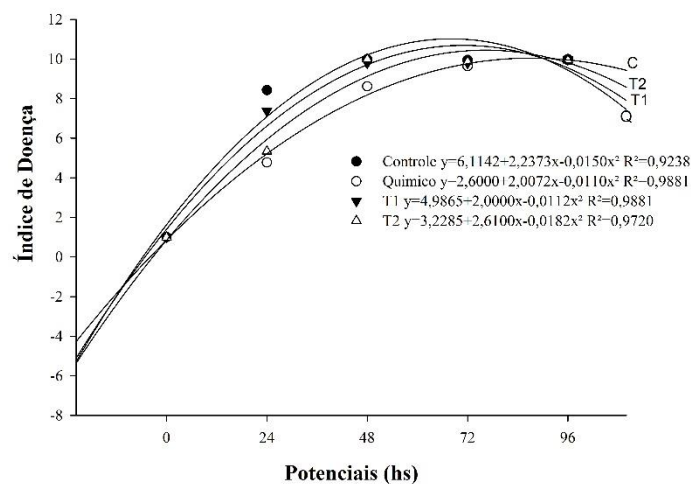


Figura 8 Análise de regressão da interação dos valores da variável índice de Doença (valores transformados por $\sqrt{x+1}$), em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

4.3 Testes *in vivo* (25 °C)

Para a variável Estande Inicial, somente a interação não foi significativa ($p < 0.005$). Para o fator potencial, a equação quadrática (Figura X) obteve melhor ajuste, com decréscimo que acompanha o aumento dos potenciais, tendo como maior valor o potencial P96 com resultado 75,08% abaixo do P0 (Figura 3B). Para o fator tratamentos, a maior média foi encontrada com o tratamento químico, com 45,38% acima da média de todos os tratamentos (Tabela 2B e C).

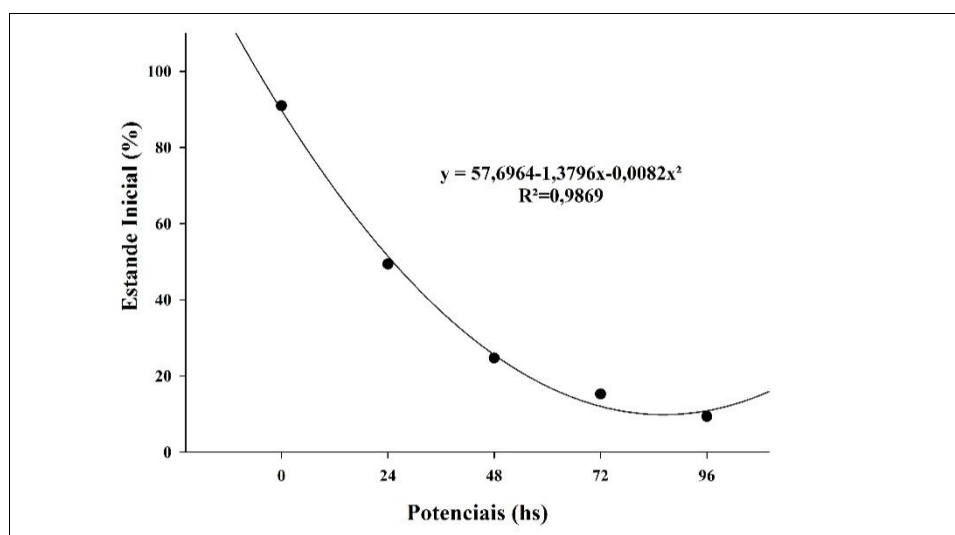


Figura 9 Análise da regressão para os diferentes níveis de Potencial de Inóculo para a variável: Estande Inicial (%) em plântulas de soja cultivadas a 25 °C.

Para a variável Estande Final, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0.005$) (Tabela 2A). Para a interação: o fator potencial de inóculo em função de cada tratamento obteve significância ($p < 0.005$) para todos, para estes, o modelo quadrático melhor descreveu os dados; ambos decrescem até P96, cerca de 90,00% a menos estande final quando comparado com P0 (Figura 4B). Com relação aos tratamentos em função dos diferentes potenciais, somente P24 e P48 foram significativos; em ambos, o

tratamento químico diferiu dos demais, com 51,50 e 13,03%, respectivamente, acima do controle (Tabela 2C).

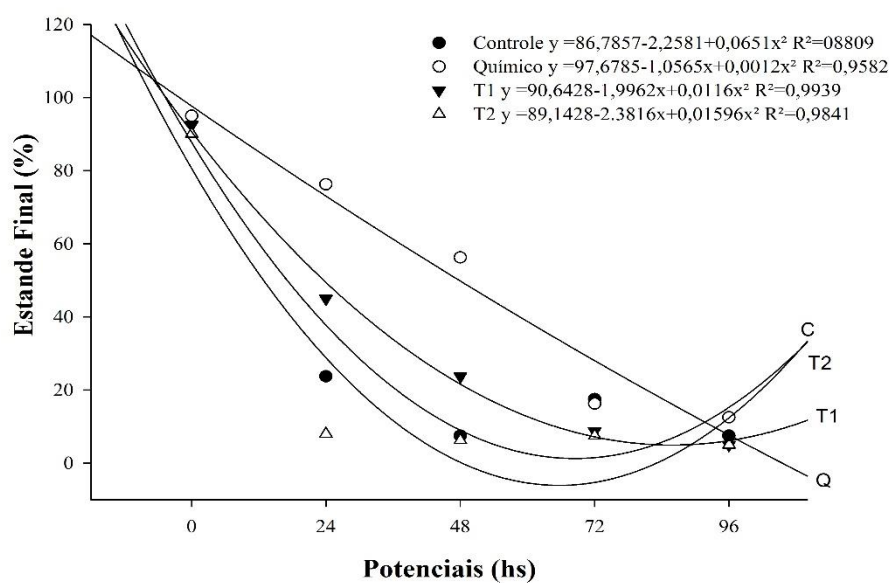


Figura 10 Análise de regressão da interação dos valores de Estande Final (%), em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

A variável Índice de Velocidade de Emergência (IVE) não apresentou significância ($p > 0,005$) para o fator tratamentos e para a interação entre os fatores (Tabela 2A); já para o fator potencial de inóculo, o modelo quadrático foi apontado como o melhor ajuste; ambos com maior ponto em P0, decrescendo com o aumento dos potenciais (Figura 6A e B), menor ponto foi P96, com 98,05 % acima que P0. Para o fator produtos, o tratamento químico diferiu dos demais, obtendo uma média superior de 30% aos outros tratamentos (Tabela 2B).

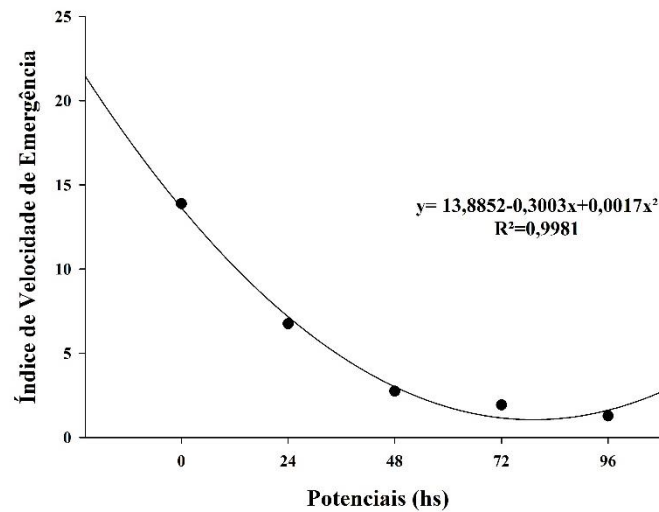


Figura 11 Análise de regressão da interação dos valores de Índice de Velocidade de Emergência, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Com respeito à variável índice de doença, foram constatadas diferenças estatísticas significativas ($p < 0.005$) entre todos os fatores e para a interação (Tabela 2A). Para o fator potencial de inóculo em função de cada tratamento, observou-se significância ($p < 0.005$) para todos os potenciais, com regressão ajustada para o modelo quadrático em todos os tratamentos e temperaturas, com maior ponto em P96 (Figura 5A e B). Com relação aos tratamentos em função dos diferentes potenciais, somente P0 e P24 foram significativos; em P24, o tratamento químico e *T. harzianum* diferiram dos demais, com 55% a menos que a média dos outros tratamentos (Tabela 2C).

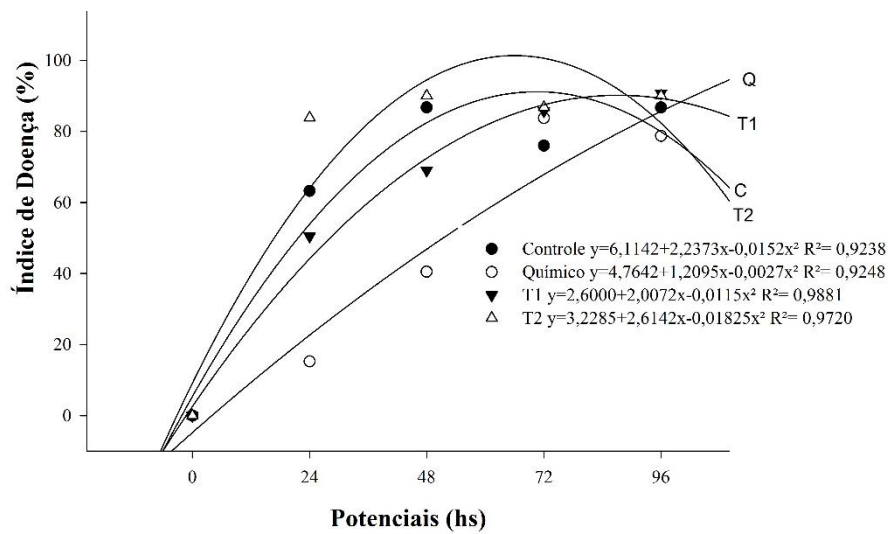


Figura 12 Análise de regressão da interação dos valores Índice de Doença, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Para a variável altura média, somente o fator tratamentos não foi significativo ($p>0.005$) (Tabela 2A). Para interação entre o fator potencial de inóculo e tratamentos, todos foram significativos (modelo linear), decrescendo com o aumento dos potenciais (Figura 7B). Com relação à interação entre o fator tratamento em função dos diversos potenciais, houve significância para os potenciais P24, P48 e P72, apresentando o controle químico como diferente estatisticamente dos demais (Tabela 2B e 2C).

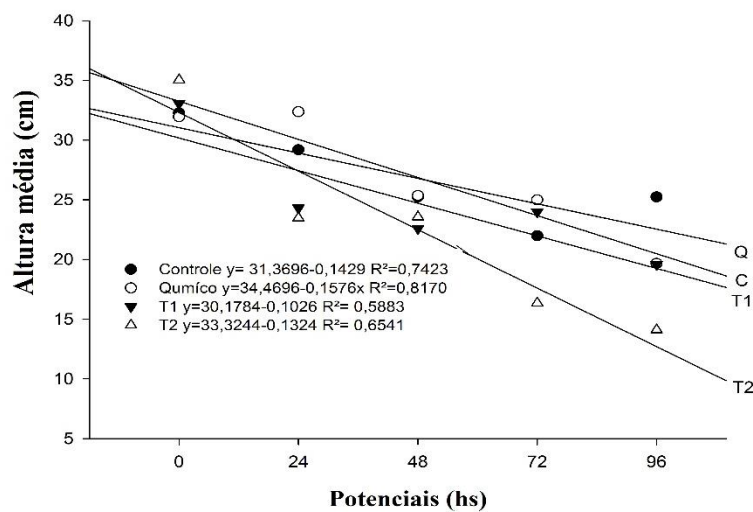


Figura 13 Análise de regressão da interação dos valores Altura Média, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Com respeito à variável Peso fresco radicular, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0,005$) (Tabela 2A). Logo para o fator potencial de inoculação em função de cada tratamento, observou-se significância para todos estes. Ajustando como melhor modelo o quadrático para todos os potenciais com menor valor em P96 (Figura 9B). Para os produtos em função dos diferentes potenciais de inóculo, somente P0, P24 e P72 foram significativos, para estes, o químico e o controle diferiram dos demais (Tabela 2C).

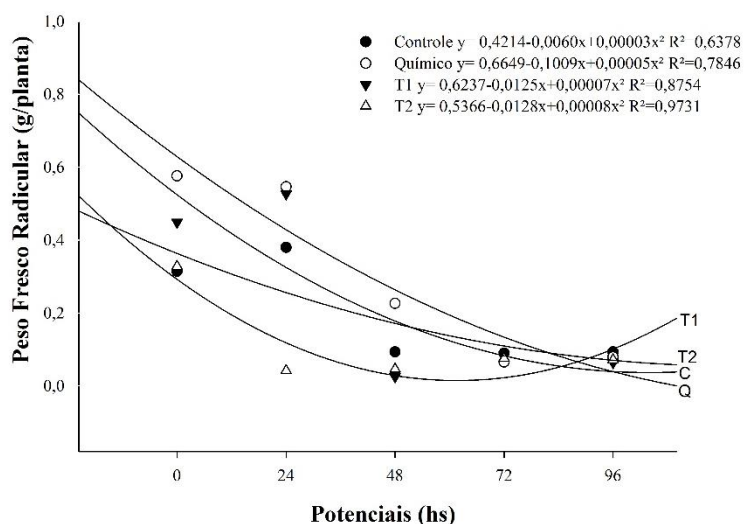


Figura 14 Análise de regressão da interação dos valores Peso Fresco Radicular, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Tratando-se da variável Peso fresco Aéreo, pode-se observar que todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0,005$) (Tabela 2A). No desdobramento, o fator potencial de inóculo em função de cada produto, obteve significância para todos estes. Para o controle e o químico (modelo linear) e para o controle biológico (modelo quadrático) foram os melhores ajustados (Figura 8B). Para os produtos em função dos diferentes potenciais, somente P72 foi significativo. Para P72, o controle diferiu dos demais (Tabela 3C).

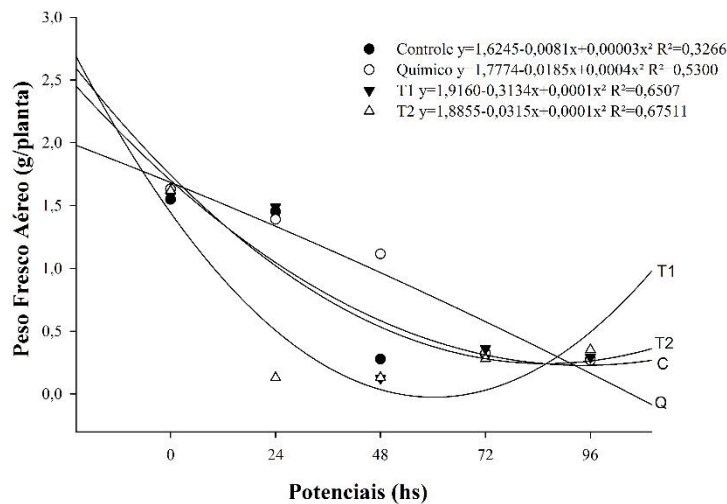


Figura 15 Análise de regressão da interação dos valores Peso Fresco Aéreo, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Já para a variável Peso Fresco Total, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0,005$) (Tabela 2A). Para o desdobramento, o fator potencial de inoculação em função de cada produto, obteve significância para todos estes. Para o controle e o tratamento químico, o modelo ajustado foi o linear, e para os demais, o modelo quadrático melhor se ajusta, estes decrescem de P0 a P72, e voltam a crescer em P96, dentro da margem do erro estatístico (Figura 10B). Para os tratamentos em função dos diferentes potenciais, somente P72 foi significativo. Para P72, o controle diferiu dos demais tratamentos (Tabela 2C).

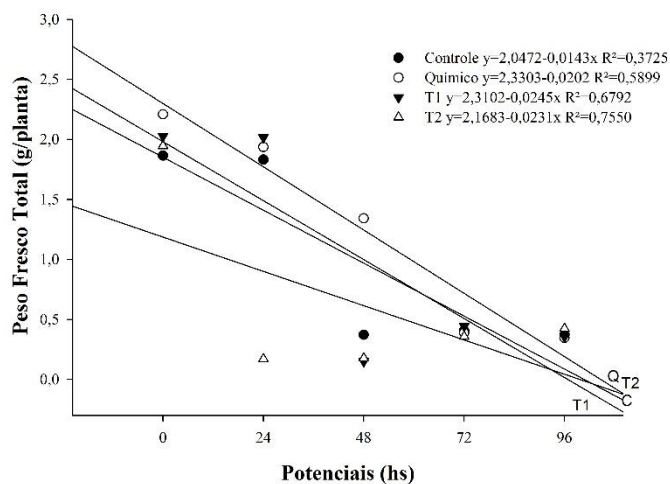


Figura 16 Análise de regressão da interação dos valores Peso Fresco Total, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Para a variável Peso Seco Radicular, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0,005$) (Tabela 2A). Para o fator potencial de inóculo em função de cada produto, obteve-se significância para todos estes, com o modelo quadrático sendo o que melhor ajustou os dados apresentados, em ambos, este cresce de P0 a P96 (dentro do desvio padrão) (Figura 11A). Para os tratamentos em função dos diferentes potenciais, somente P0, P24 e P48 foram significativos. Para P0, **a** *T. harzianum* e o tiofanato metílico + fluazinam diferiram dos demais, com 28,75 e 44,44% acima da média destes respectivamente. Para P24, **o** *T. harzianum* e o tiofanato metílico + fluazinam diferiram dos demais, com 26,98 e 25,80% acima da média destes respectivamente. Para P48, o *T. harzianum* e o tiofanato metílico + fluazinam diferiram dos demais, com 87,67 e 84,51% acima da média destes respectivamente (Tabela 2C).

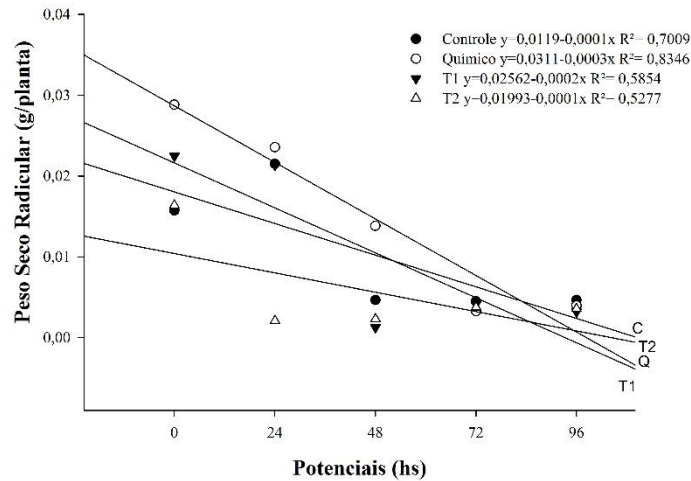


Figura 17 Análise de regressão da interação dos valores Peso Seco Radicular, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

Para a variável Peso Seco Aéreo, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0,005$) (Tabela 2A). No desdobramento, o fator potencial de inóculo em função de cada tratamento, obteve significância para todos estes, em ambos o modelo quadrático é o melhor ajustado (Figura 12B). Para os tratamentos em função dos diferentes potenciais de inóculo, somente P48 foi significativo, logo para este, obteve-se 71,01% de peso aéreo que a média dos demais (Tabela 2C).

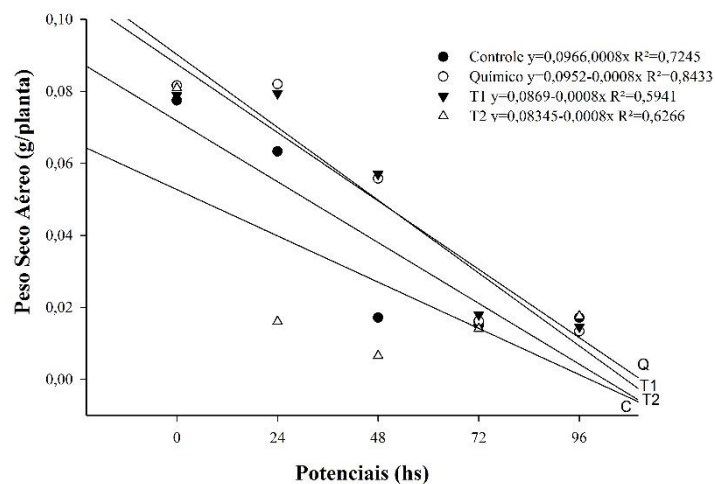


Figura 18 Análise de regressão da interação dos valores Peso Seco Aéreo, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

E por fim, para a variável Peso seco total, todos os fatores e a interação foram significativos ($p < 0.005$) (Tabela 2A). Para o desdobramento, o fator potenciais de inóculo em função de cada produto, obteve significância para todos estes; para ambos, o modelo quadrático melhor se adaptou com o menor ponto em P96 (Figura 12B). Para os tratamentos em função dos diferentes potenciais, somente P72 foi significativo, logo para este, o controle obteve 50,28% de peso total acima da média dos demais tratamentos (Tabela 2C).

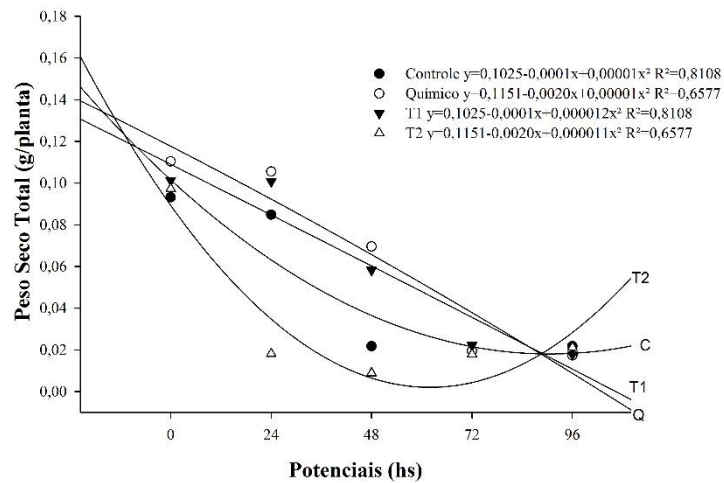


Figura 19 Análise de regressão da interação dos valores Peso Seco Total, em sementes de soja tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*) e T2 (*T. asperelum*); em relação a diferentes níveis de potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96).

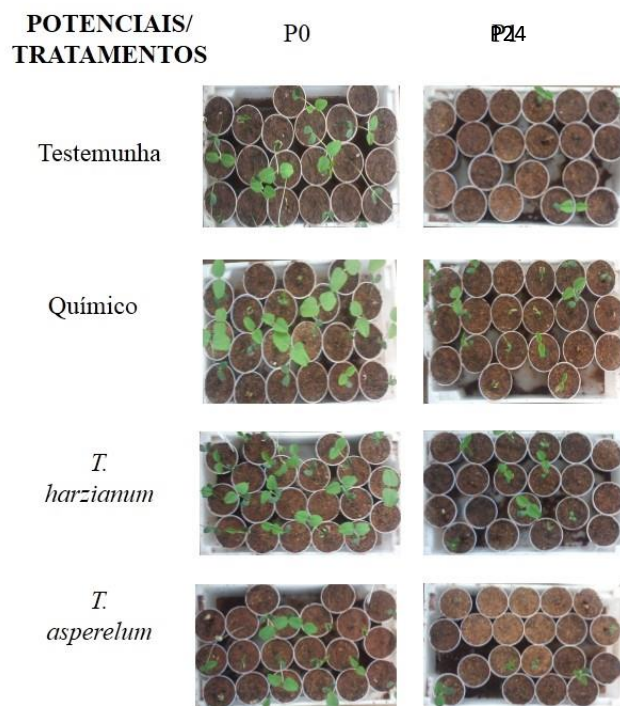


Figura 20 Quadro demonstrativo da emergência de sementes de soja, tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T.harzianum*), T2 (*T. asperelum*), em função dos potências de inóculo de *S. sclerotiorum* P0 e P24, aos 30 dias após a semeadura sob temperatura de 20 °C.

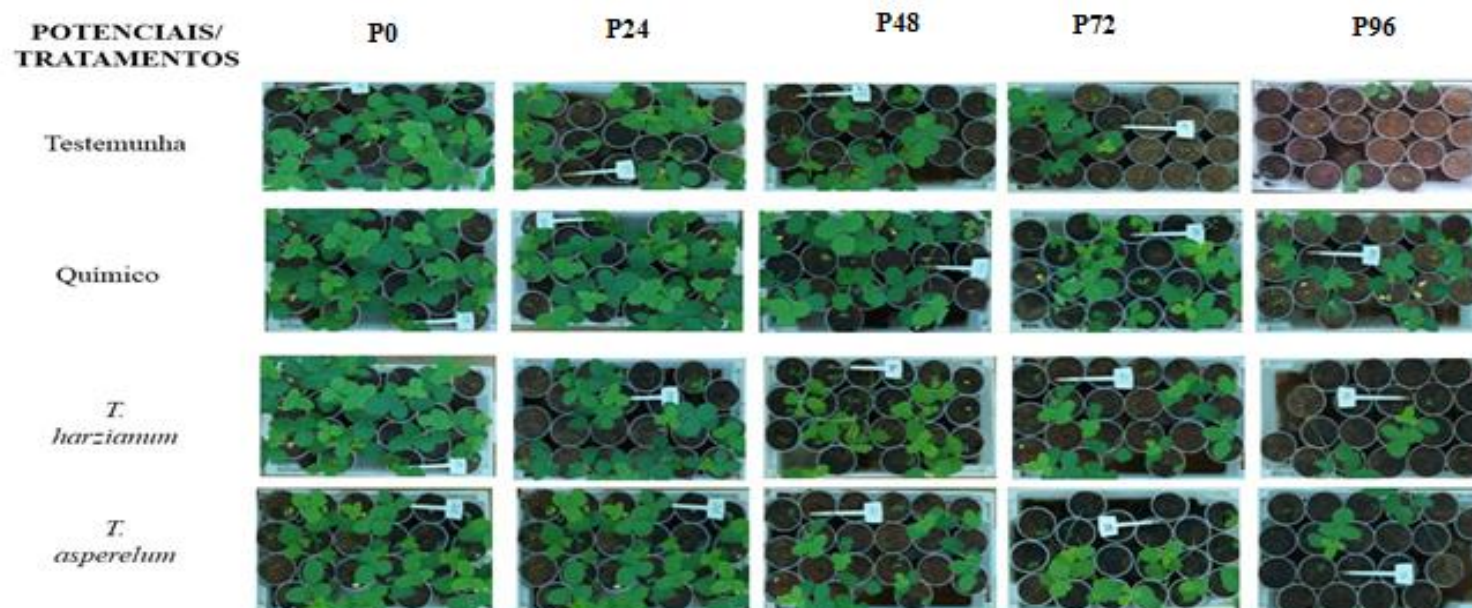


Figura 21 Quadro demonstrativo da emergência de sementes de soja, tratadas e não tratadas com produtos químicos (tiofanato metílico + fluazinam), e biológicos, T1 (*T. harzianum*), T2 (*T. asperelum*), em função de diferentes potências de inóculo de *S. sclerotiorum* (P0, P24, P48, P72, P96) aos 30 dias após a semeadura sob temperatura de 25 °C.

5 DISCUSSÃO

Estudos sobre eficácia do tratamento químico e tratamento biológico de sementes de soja visando ao controle de mofo branco têm sido escassos e pouco esclarecedores. Pela literatura, e para outros patossistemas, embora o número de trabalhos tenha sido maior, pouco se conhece sobre a relação entre o tratamento sanitário e fatores como potencial de inóculo dos patógenos presentes nas sementes a serem tratadas, impossibilitando maiores informações conclusivas sobre este aspecto (BOTELHO et al., 2013; MENDES, 2014; ZANCAN et al., 2012; ZANCAN et al., 2015; ZANCAN, 2011).

Neste trabalho, os efeitos de *S. sclerotiorum* na qualidade das sementes de soja foram evidenciados e confirmaram as informações de outros trabalhos anteriores nesta linha de pesquisa (BOTELHO et al., 2013; PRADO, 2014). De modo geral, os efeitos negativos do referido fungo na germinação, emergência e vigor das sementes de soja da cultivar utilizada foram acentuados e progressivos com o aumento do potencial de inóculo conforme demonstrado pela técnica de restrição hídrica. Machado et al. (2001), Zancan (2011), Zancan et al. (2012) e Botelho et al. (2013) enfatizam a efetividade desta técnica, ao demonstrarem que a inoculação do agente do mofo branco em sementes de soja e feijão promove uma boa colonização destas, interna e externamente, possibilitando a reprodução da doença, semelhante ao que ocorre em condições naturais. Este mesmo procedimento utilizado para outro patossistema, antracnose em soja, revelou-se eficaz para o estudo de controle da doença, via tratamento de sementes, em relação a diferentes potenciais de inóculo do patógeno nas sementes (MENDES, 2014).

Pelos resultados deste estudo, observa-se que a doença foi mais drástica na temperatura de 20 °C, que corresponde a uma condição favorável

para o desenvolvimento da mesma. Sob essas condições, os efeitos dos diferentes níveis de potencial de inóculo foram variáveis, porém bastante drásticos nos níveis mais elevados. Vale ressaltar que uma alta pressão de inóculo e hospedeiro susceptível, fatores que foram predominantes neste trabalho, predisõem com maior intensidade a ação do *S. Sclerotiorum* em soja (SAHARAN; MEHTA, 2008).

No potencial de inóculo mais baixo utilizado neste estudo, P24, os efeitos do tratamento sanitário das sementes no controle de *S. sclerotiorum* foram mais acentuados e variáveis, ao contrário do que ocorreu em potenciais de inóculo superiores. Tendo em vista que em potenciais de inóculo mais elevados o fungo atinge tecidos mais internos das sementes, conforme demonstrado por Botelho et al. (2013), estima-se que a ação do tratamento sanitário das sementes seja dificultada em relação a atingir o inóculo nesta localização. Desta forma percebe-se que a eficácia do tratamento sanitário de sementes, como no presente caso, torna-se dependente não só do potencial de inóculo como da localização deste nas sementes.

Sobre o tratamento das sementes inoculadas com *S. sclerotiorum*, a utilização da mistura tiofanato metílico + fluazinam proporcionou uma redução mais significativa do inóculo da doença em relação ao tratamento das sementes com as duas espécies de *Trichoderma* e com o controle.

Com base nos valores de Índice de Doença, a eficácia maior coube ao tratamento das sementes com os fungicidas químicos, o que corrobora com os resultados de trabalho realizado por Prado (2014) que observou o controle do mofo branco com diversos fungicidas, isolados e em misturas (inclusive o tiofanato metílico + fluazinam), utilizando-se apenas um potencial de inóculo, correspondente a P48, em sementes de soja infectadas e com incidência de 20% do total de sementes utilizadas.

Ressalta-se que outros trabalhos nesta linha de estudo para este patossistema e outros, demonstram a efetividade do tratamento químico das sementes de soja, incluindo a mistura de tiofanato metílico (fungicida

sistêmico) e fluazinam (protetor) no controle das doenças. Exemplos com sementes naturalmente infectadas ou trabalhos que incluem avaliações *in vitro* e *in vivo* (ZANCAN, 2011; ZANCAN et al., 2012) atestam esta efetividade variável em função do potencial de inóculo. Mendes (2014) trabalhando com diferentes potenciais de inóculo de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja, tratadas e não tratadas, com alguns fungicidas comerciais observou também que o efeito dos fungicidas utilizados decresce quando o potencial de inóculo aumenta.

Especificamente para as variáveis germinação em laboratório e estande em substrato de solo na temperatura de 20 °C, observou-se que o tratamento com fungicidas químicos foi mais eficaz em ambas as circunstâncias, comprovando a superioridade deste tipo de tratamento para o controle do mofo branco a partir da semeadura. Embora em outros estudos não se tenha utilizada a mesma metodologia empregada neste trabalho, percebe-se que o tratamento químico com a mistura tiofanato metílico + fluazinam e outros produtos comerciais, como, por exemplo, o carbendazin e thiram, tem se mostrado eficaz para o controle da doença em foco (MENDES, 2014; ZANCAN, 2011).

É importante salientar que em lotes de sementes de soja comercializadas dentro de padrões de certificação existente no país, os níveis de infecção de sementes por *S. sclerotiorum* não se situam em valores superiores aos correspondentes do potencial P24 (BOTELHO et al., 2013).

Com respeito aos produtos à base de *T. harzianum* *T. asperelum*, estes promoveram um considerável acréscimo na fitomassa das plantas em P0 e P24 (Tabela 2B e C) e controle significativo do mofo branco no potencial P24 em relação à testemunha. Resende (2003) descreve que houve também um acréscimo na fitomassa em plântulas de milho provenientes de sementes previamente tratadas com *T. harzianum*. Neste mesmo sentido, Zancan (2011) descreve que o controle do mofo branco em sementes de soja inoculadas artificialmente e tratadas com *T. harzianum*. Braúna (2011) também descreve que o tratamento de sementes de feijão com *T. harzianum*

para o controle de mofo branco foi eficaz, possibilitando o aumento da fitomassa destas plantas.

Como já referenciado anteriormente, a presença de *S. sclerotiorum* em sementes de soja com potencial de inóculo a partir de P48 os valores referentes ao tratamento biológico situaram-se abaixo dos valores da testemunha. Neste sentido, França et al. (2014) atestam que em trabalho de controle biológico em campo, utilizando sementes de arroz inoculadas *Rhizoctonia solani* e tratadas com *T. asperelum*, quando os potenciais do patógeno aumentavam o tratamento biológico se comportava com resultados inferiores aos descritos para a testemunha.

Ressalte-se que, pelo teste de sanidade (Neon), somente o tratamento químico propiciou a erradicação completa de *S. sclerotiorum* em sementes infectadas nos potenciais de inóculo P24 e P48. Pelos resultados dos testes de germinação e de emergência em bandejas, infere-se que nenhum dos tratamentos foi capaz de erradicar o inóculo do patógeno nas sementes de soja inoculadas com o fungo em questão. As condições diferenciadas destes testes podem explicar estas diferenças.

É interessante notar que embora todas as sementes dos potenciais de inóculo tenham sido inoculadas pelo método de restrição hídrica, algumas plantas emergidas mostraram-se assintomáticas e livres da presença do patógeno em seus tecidos, conforme revelado pelo plaqueamento dos fragmentos no meio Neon.

Com base na comparação dos valores observados entre os estandes (inicial e final), percebe-se que a *S. sclerotiorum* apresentou uma ação contínua pela redução destes valores ao longo do período de avaliação, o que foi também observado em outros estudos (BOTELHO, 2011; SAHARAN; MEHTA, 2008; ZANCAN, 2011; ZANCAN et al., 2012; ZANCAN et al., 2015).

Pelos resultados das Figuras 2, 4A e 4B, referentes ao vigor das sementes e plântulas, medido pelos testes de condutividade elétrica e índice de velocidade de emergência, além dos valores referentes à altura média,

pesos fresco e secos de plantas emergidas, fica evidenciado que esta característica pode ser extremamente influenciada pelo nível de potencial de inóculo, pela temperatura e pelos produtos sanitários utilizados neste estudo.

Percebe-se que a associação de *S. sclerotiorum* com sementes de soja em graus variados de potencial de inóculo pode ser influenciada pelo uso de diferentes produtos, com reduções do nível da doença, ainda tolerável do ponto de vista sanitário. Vale salientar que o desempenho das sementes pode ser debilitado pela ação do fungo, além de outros fatores, tornando-as menos vigorosas e com potencial de germinação comprometido. Danos diversos, como os de origem mecânica, são também exemplos de fatores importantes que afetam o vigor das sementes de soja.

Com respeito às variáveis peso fresco radicular, peso fresco de parte aérea, peso fresco total, peso seco radicular, peso seco de parte aérea e peso seco total (Figuras 9 -14; Tabelas 2B e 2C), percebe-se que estas variáveis apresentaram padrões de desempenho semelhantes ao que foi observado para as variáveis descritas anteriormente. Salienta-se uma maior influência do tratamento químico em relação aos tratamentos biológicos, principalmente nos potenciais de inóculo mais baixos.

Em uma análise global destes resultados descritos anteriormente, é possível assumir que o tratamento de sementes de soja com produtos químicos para o controle do mofo branco pode ser eficaz em baixos níveis de associação do fungo com as sementes com efeitos em curto prazo, o que não é o caso do controle biológico com as espécies de *Trichoderma*, cuja eficácia deve ser considerada em médio e longo prazo. Estima-se que o inóculo destes agentes antagonistas levado ao campo junto às sementes de soja poderão exercer uma ação controladora de *S. sclerotiorum*.

6 CONCLUSÕES

- 1- Em condições favoráveis para o desenvolvimento do mofo branco em soja, o tratamento de sementes com produtos químicos, no caso o tiofanato metílico + fluazinam, é eficaz e superior ao tratamento biológico com espécies de *Trichoderma* para o potencial de inóculo do patógeno mais baixo (exposição das sementes ao fungo por 24h).
- 2- Para a associação de *S. sclerotiorum* e sementes de soja com potenciais de inóculo mais elevados, o desempenho do tratamento sanitário das sementes revelou-se ineficaz do ponto de vista epidemiológico.
- 3- Em nenhum dos tratamentos sanitários utilizados neste trabalho houve a erradicação do inóculo de *S. sclerotiorum* em sementes de soja, exceto no menor potencial de inóculo em uma das avaliações *in vitro*.
- 4- A temperatura de 20 °C é mais favorável ao patógeno e desfavorável aos agentes biológicos e à cultura da soja.

REFERÊNCIAS

- AGRIUS, G. N. **Plant pathology**. New York: Academic Press, 2005. 635 p.
- AGROFIT: **sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 06 jul. 2015.
- ALMEIDA, A. M. R. et al. Doenças da soja (Glycinemax). In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas: volume 2**. 4. ed. São Paulo: Agronomical Ceres, 2005. 550 p.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotiniasclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v. 16, n. 2, p. 93-108, Mar./Apr. 1994.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) deBary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 1-16, Jan./Mar. 2006.
- BORKERI, C. M. et al. Seja seu doutor em soja. **Informações Agronômicas**, São Paulo, n. 66, p. 1-20, jun. 1994.
- BOTELHO, L. S. **Deteção, transmissão e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja**. 2011. 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- BOTELHO, L. S. et al. Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 153-160, 2013.
- BRASIL. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: volume 1**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2015. 109 p.
- BRAÚNA, L. M. **Controle biológico do mofo-branco por isolados de *Trichoderma* nas culturas de soja e feijão comum**. 2011. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- CAMPOS, H. D. et al. Eficácia do fungicida fluazinam + tiofanato metílico no controle de patógenos em sementes de soja. In: REUNIÃO DE

- PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 32., 2011, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 220-225.
- CANÇADO, R. A. **Avaliação microbiológica e micotoxicológica de grãos de milho (*Zea mays*) e de soja (*Glycyne max*) provenientes de cultivo convencional das sementes geneticamente modificadas.** 2004. 124 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.
- CARVALHO FILHO, M. R. **Relações filogenéticas, identificação e potencial de uso de isolados de *Trichoderma* no controle do mofo-branco em feijoeiro.** 2013. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- CARVALHO, D. D. C. et al. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, p. 20-35, 2011.
- CASTILLO, F. D. H. et al. *In vitro* antagonist action of *trichoderma* strains against *sclerotinia sclerotiorum* and *sclerotinia cepivorum*. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New York, v. 6, n. 6, p. 410-417, July 2011.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTAECIMENTO DO BRASIL. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos:** volume. Brasília: Gráfica Nacional, 2014.
- CUNHA, W. G. **Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene da oxalato-descarboxilase de *Flammulina velutipes*.** 2010. 96 p. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- DIAS, A. R. et al. Controle químico de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em algodão adensado cultivado na safrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 8., 2011, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 2011.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologia de produção de soja região central do Brasil.** Londrina: Embrapa Soja, 2010. 255 p.
- ETHUR, L. Z. et al. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 30, p. 127-133, Jan. 2005.

FISCHER, I. H. et al. Efeito da temperatura e reação de genótipos de quiabeiro ao mofo-branco. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 40, n. 1, p. 49-53, jan./fev. 2014.

FREEMAN, J. et al. A polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 96, p. 877-886, Mar. 2002.

GARCIA, R. A. et al. Grupo de compatibilidade micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010, Brasília. **Anais...** Brasília: [s.n.], 2010. p. 215-216.

GÖRGEN, C. A. et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 52-48, dez. 2009.

GRABICOSKI, E. M. G. **Caracterização morfológica e patogênica de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e detecção em sementes de soja**. 2012. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species - opportunist, symbionte virulent plant. **Mature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 25, p. 43-56, Mar. 2004.

HENNENBERG, L. et al. Importância da detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja. **Informativo Abrantes**, Londrina, v. 21, n. 3, p. 1-39, 2011.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. 3. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 58 p.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 35, p. 4-10, June 2003.

JULIATTI, F. C. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade de *mofo-branco* em soja. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 676-680, maio/jun. 2013.

JULIATTI, F. C. et al. Fungicida fluazinam+ tiofanato metílico (Certeza) no controle de patógenos de sementes desoja e efeito fisiológico no desenvolvimento inicial da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 32., 2011, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 220-222.

- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 250 p.
- LITHOLDO JÚNIOR, C. G. et al. Genetic diversity and mycelial compatibility groups of the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Amsterdam, v. 10, n. 2, p. 868-877, jun./jul. 2011.
- LOBO JÚNIOR, M.; ABREU, M. S. Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em diferentes temperaturas e pH's. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 3, p. 521-526, jun./jul. 2000.
- MACHADO, J. C. et al. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 95-101, set./dez. 2001.
- MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS, 2000. 74 p.
- MACHADO, J. C.; MACHADO, C. F. Fatores interferentes no tratamento sanitário de sementes. In: NEFIT ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA (Ed.). **Inovações tecnológicas em sanidade de sementes e materiais de propagação vegetativa**. Lavras: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2011. 165 p.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madson, v. 2, n. 75, p. 22-34, mar. 1961.
- MCKINNEY, H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 3, p. 195-217, jan. 1923.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, 1998. 350 p.
- MELO, I. S. *Trichoderma Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia Plantas**, Passo Fundo, v. 4, n. 1, p. 261-295, 1996.
- MENDES, M. **Relação entre potencial de inoculo de *Colletotrichum truncatum* desempenho de sementes de soja tratadas e não tratadas com fungicidas**. 2014. 66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

- MENTEN, J. O.; MORAES, M. D. H. Tratamento de sementes: históricos, tipos, características e benefícios. **Informativo Abrantes**, Londrina, v. 20, n. 3, p. 1-93, 2010.
- MICHEL, B. E.; RADCLIFFE, D. A. computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 3, p. 126-30, jan. 1995.
- MONSOY. **Portifólio de variedades Monsoy INTACTA RR2 PRO: a semente que faz sua lavoura produzir mais**. São Paulo: Monsoy, 2015.
- MOURA, P. C. S. **Efeitos fisiológicos da aplicação de triazol e estrobilurina em soja**. 2013. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2013.
- NAGARAJKUMAR, M.; BHASKARAN, R.; VELAZHAHAN, R. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctoniasolani*, the rice sheath blight pathogen. **Microbiological Research**, Jena, v. 2, n. 3, p. 34-54, Mar./Apr. 2004.
- NAPOLEÃO, R. et al. Effect of plant spacing and bean cultivar on white mold and seed sanity. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 32, n. 1, p. 63-66, Jan. 2006.
- OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do *mofo-branco*. **Revista DBO Agrotecnica**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 1-58, maio/jun. 2005.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. Comercialização de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas e pragas no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 116-123, jan. 2009.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. Limitações do controle do mofo-branco do feijoeiro com *Trichoderma* spp. no cultivo de outono-inverno. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 38, n. 4, p. 337-340, jan./fev. 2012.
- PEREIRA, F. S. et al. Estratégias de controle do mofo-branco do feijoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 34-52, mar. 2013.
- PRADO, M. B. **Efeito do tratamento químico na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja infectadas por *Sclerotinia sclerotiorum***. 2014. 320 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. São Paulo: Springer Science, 2008. 640 p.

SHORESH M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Ann. Rev. Phytopathology**, Saint Paul, v. 48, n. 3, p. 21–43, Apr. 2010.

USDA AGRICULTURAL PROJECTIONS TO 2023. **Office of the chief economist, world agricultural outlook board**. Washington: U.S. Department of Agriculture, 2014. 97 p.

VINALE, F. et al. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Sol, Bióloga & Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 1-10, Jan. 2008.

XIMENES, L. R. **Importância e manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* (Mofo-branco) nos cultivos de feijão e soja**. 2013. 92 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

ZANCAN, W. L. A. et al. Crescimento micelial, produção e germinação de Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 782-789, ago./set. 2012.

ZANCAN, W. L. A. et al. Relationship between mycelial inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* and performance of sunflower seeds under controlled conditions. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 3, p. 775-784, maio/jun. 2015.

ZANCAN, W. L. A. **Mofo-branco em algodão, girassol e feijão: potencial de transmissão e efeitos na qualidade de sementes e variabilidade do patógeno**. 2013. 150 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2013.

ZANCAN, W. L. A. **Sensibilidade de fungicidas e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijoeiro**. 2011. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

ZEIGER, E.; TAIZ, L. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 550 p.

8. ANEXOS

Tabela 1A. Análise de variância (*P* valores: <0.05) para testes *in vitro* com cinco potenciais de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja, tratadas ou não com diferentes produtos.61

Tabela 1B. Teste de médias (Skott-knot) das variáveis avaliadas *in vitro* para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.61

Tabela 1C. Teste de média (Skott-knot) das variáveis *in vitro* Neon e Condutividade elétrica, em sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.62

Tabela 2A. Análise de variância (*P* valores: <0.05) das variáveis avaliadas em câmara de crescimento [20 (dados transformado em $\sqrt{x+1}$) e 25°C], para cinco potenciais de inóculo em sementes de soja, tratadas ou não com diferentes produtos.63

Tabela 2B. Teste de média (Skott-knot) das variáveis avaliadas para as temperaturas de 20 (valores transformados em $\sqrt{x+1}$) e 25° C, em câmara de crescimento para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.64

Tabela 2C. Teste de média (Skott-knot) para o desdobramento (Produto em função de potenciais) das variáveis avaliadas em função dos produtos para as diferentes potenciais, em câmara de crescimento [20 (valores transformados em $\sqrt{x+1}$) e 25° C] para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.65

Tabela 1A. Análise de variância (*P* valores: <0.05) para testes *in vitro* com cinco potenciais de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja, tratadas ou não com diferentes produtos.

Fatores de Variação	<i>P</i> valores		
	GERM ^a	NEON ^b	CE ^c
Potenciais (hs)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Tratamentos	0.0789	<0.0001	0.0002
Potenciais x produtos	0.8383	<0.0001	<0.0001
CV (%)	39.31	25.45	15.34

a) Germinação; b) NEON: Azul de Bromofenol+BDA; c) Condutividade elétrica.

Tabela 1B. Teste de médias (Skott-knot) das variáveis avaliadas *in vitro* para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.

Tratamentos	Variáveis (médias*)		
	GERM ^a	NEON ^b	CE ^c
Controle	32,40a	48.70 d	123,26 a
Tiofanato metílico + Fluazinam	35,00a	5.70 a	143,00 b
<i>T. harzianum</i>	26,60a	42.50 c	123,12 a
<i>T. asperelum</i>	39,75a	28.40 b	147,60 b

a) Germinação; b) NEON: Azul de Bromofenol+BDA; c) Condutividade elétrica.*As letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si

Tabela 1C. Teste de média (Skott-knot) das variáveis *in vitro* Neon e Condutividade elétrica, em sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.

Tratamentos	VARIÁVEIS*							
	NEON (%) ^a				CE (μS/mm) ^b			
	P24	P48	P72	P96	P24	P48	P72	P96
Controle	17.00 a	71.00 d	73.00 c	73.00 c	63.77 a	71.93 a	126.52 a	202.57 a
Tiofanato metílico + Fluazinam	0.00 a	1.50 a	5.50 a	21.50 a	98.31 b	104.70 b	159.13 b	183.41 a
<i>T. harzianum</i>	0.00 a	69.00c	67.50 c	76.00 b	50.66 a	73.60a	117.87 a	197.60 a
<i>T. asperelum</i>	5.50 a	30.00 b	36.00 b	70.50 b	77.34b	97.34 b	223.21 c	177.91 a
CV (%)	25.45				10.29			

a) NEON: Azul de Bromofenol+BDA; b)Condutividade elétrica.*As letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si

Tabela 2A. Análise de variância (*P* valores: <0.05) das variáveis avaliadas em câmara de crescimento [20 (dados transformado em $\sqrt{x+1}$) e 25°C], para cinco potenciais de inóculo em sementes de soja, tratadas ou não com diferentes produtos.

Fonte de variação	<i>P</i> valores (20° C)											
	EI ^a	EF ^b	IVE ^c	IND ^d	ALT ^e	PFR ^f	PFA ^g	PFT ^h	PSR ⁱ	PSA ^j	P	
Potenciais de inóculo	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Tratamentos	0.1550	0.0301	0.6327	0.0004	0.1237	0.2094	0.1701	0.1597	0.2009	0.0646	0.0646	0.0646
PI x Trat	0.4445	0.2959	0.9349	0.0001	0.8670	0.2192	0.6284	0.4316	0.2009	0.6549	0.6549	0.6549
CV (%)	30.80	30.95	20.49	12.11	37.99	7.06	16.01	18.09	1.12	3.09	3.09	3.09
Fonte de variação	<i>P</i> valores (25° C)											
	EI ^a	EF ^b	IVE ^c	IND ^d	ALT ^e	PFR ^f	PFA ^g	PFT ^h	PSR ⁱ	PSA ^j	P	
Potenciais de inóculo	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Tratamentos	0.0024	<0.0001	0.0001	<0.0001	0.2743	0.0149	0.0004	0.0002	0.0149	0.0004	0.0004	0.0004
PI x Trat	0.2760	<0.0001	0.0837	<0.0001	0.0013	0.0028	<0.0001	<0.0001	0.0028	<0.0001	<0.0001	<0.0001
CV (%)	26.66	22.62	27.11	17.64	19.10	40.21	22.46	20.69	40.21	22.46	22.46	22.46

Legenda: a) Estande inicial (%); b) Estande final (%); c) Índice de velocidade de germinação; d) Índice de doença; ; e) Altura total (cm); f) Peso fresco radicular (g/planta); g) Peso fresco aéreo (g/planta); h) Peso fresco total (g/planta); i) Peso seco radicular (g/planta); j) Peso seco aéreo (g/planta); l) Peso seco total (g/planta).

Tabela 2B. Teste de média (Skott-knot) das variáveis avaliadas para as temperaturas de 20 (valores transformados em $\sqrt{x+1}$) e 25° C, em câmara de crescimento para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.

20° C											
TRATAMENTO S	EI ^a	EF ^b	IVE ^c	IND ^d	ALT ^e	PFR ^f	PFA ^g	PFT ^h	PSR ⁱ	PSA ^j	PST ^l
Controle	4.18 a	3.63 a	3.50 a	7.86 b	2.51 a	1.12 a	1.12 a	1.36 a	1.01 a	1.04 a	1.06 a
Tio.metílico + Fluazinam	4.81 a	4.90 a	4.03 a	6.67 a	3.29 a	1.17 a	1.17 a	1.54 a	1.02 a	1.06 a	1.08 a
<i>T. harzianum</i>	3.87 a	4.38 a	3.46 a	7.58 b	3.17 a	1.01 a	1.18 a	1.42 a	1.02 a	1.05 a	1.08 a
<i>T. asperelum</i>	4.17 a	4.14 a	4.06 a	7.11 a	2.82 a	1.14 a	1.14 a	1.36 a	1.02 a	1.04 a	1.06 a
Erro Padrão	0.29	0.29	0.37	0.19	0.25	0.01 9	0.04 4	0.05 8	0.00 2	0.00 8	0.00 8
25° C											
TRATAMENTO S	EI ^a	EF ^b	IVE ^c	IND ^d	ALT ^e	PFR ^f	PFA ^g	PFT ^h	PSR ⁱ	PSA ^j	PST ^l
Controle	43.2 5 b	32.5 0 a	6.09 b	60.9 0 b	24.50 a	0.24 a	1.11 b	1.35 b	0.05 5 b	0.05 5 b	0.06 7 b
Tio. metílico + Fluazinam	46.2 5 b	51.2 5 b	6.66 b	43.6 5 a	26.91 a	0.31 b	1.04 b	1.35 b	0.05 2 b	0.05 2 b	0.06 7 b
<i>T. harzianum</i>	38.5 0 a	35.0 0 a	5.07 a	59.2 0 a	25.25 a	0.24 a	0.88 a	1.13 a	0.04 4 b	0.04 4 a	0.05 6 a
<i>T. asperelum</i>	33.5 0 a	30.0 0 a	4.53 a	65.5 0 b	24.11 a	0.20 a	0.84 a	1.5 a	0.04 2 b	0.04 2 a	0.05 2 a
Erro Padrão	2.40	1.88	0.33	2.26	1.07	0.02	0.04 0	0.05 2	0.00 1	0.00 2	0.00 2

*As letras diferentes nas colunas são diferentes estatisticamente entre si. Legenda: a) Estande inicial (%); b) Estande final (%); c) Índice de velocidade de germinação; d) Índice de doença; ; e) Altura total (cm); f) Peso fresco radicular (g/planta); g) Peso fresco aéreo (g/planta); h) Peso fresco total (g/planta); i) Peso seco radicular (g/planta); j) Peso seco aéreo (g/planta); l) Peso seco total (g/planta).

Tabela 2C. Teste de média (Skott-knot) para o desdobramento (Produto em função de potenciais) das variáveis avaliadas em função dos produtos para as diferentes potenciais, em câmara de crescimento [20 (valores transformados em $\sqrt{x+1}$) e 25° C] para sementes de soja tratadas ou não com diferentes produtos separadamente.

Tratamento s	20 °C				25° C					
	24 (PI)	24 (P1)			48 (P2)			72 (P3)		
	IND	PFR b	IND ^a	EF ^e	EF ^e	PSR ^f	PSA ^g	PST ^h	PFA _i	PFT _b
Controle	8.40 b	29.20 a	63.2 5 b	23.7 5 a	18.7 5 b	0.02 1 a	0.07 9 c	0.093 c	1.59 c	1.87 c
Quimico	4.17 a	35.40 b	15.2 5 a	76.2 5 c	56.2 5 c	0.03 1 b	0.55 b	0.067 b	1.11 b	1.34 b
<i>T. harzianum</i>	7.38 a	24.32 a	50.5 0 a	45.0 0 b	23.7 5 b	0.03 1 b	0.00 6 a	0.007a	0.13 a	0.14 a
<i>T. asperelum</i>	4.79 a	22.40 a	60.7 5 a	41.2 5 b	6.25 a	0.02 5 a	0.00 6 a	0.008a	0.12 a	0.17 a

*As letras diferentes nas colunas são diferentes estatisticamente entre si. a) Índice de velocidade de germinação; b) Peso fresco total (g/planta); c) Altura total (cm); d) Índice de doença; e) Estande final (%); f) Peso seco radicular (g/planta) Peso fresco radicular (g/planta); g) Peso seco radicular