



**Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos,
visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**

JULIANA APARECIDA BORELLI PEREIRA LEITE

Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto Biológico
Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no
Agronegócio

**Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos,
visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**

Juliana Aparecida Borelli Pereira Leite

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios,
para obtenção do título de Mestre em Sanidade,
Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Campinas
2021

Juliana Aparecida Borelli Pereira Leite

**Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos,
visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico,
da Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios, para obtenção do título de Mestre
em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental
no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e
Sanidade no Agroecossistema.

Orientador: Dr. César Júnior Bueno
Co-orientadora: Dra. Silvânia Helena Furlan

Campinas
2021

Eu **Juliana Aparecida Borelli Pereira Leite**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: _____ Data ___/___/___

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

Leite, Juliana Aparecida Borelli Pereira.

Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos, visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja. / Juliana Aparecida Borelli Pereira Leite. - São Paulo, 2021.

136 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2021D.JL005

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: César Júnior Bueno.

Versão do título para o inglês: Evaluation and compatibility methodologies for chemical and biological products aimed at controlling *Sclerotinia sclerotiorum* in soy.

1. *Glycine max* 2. Mofo-branco 3. Fungicida 4. Biocontrole 5. Sensibilidade
I. Leite, Juliana Aparecida Borelli Pereira II. Júnior Bueno, César III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2021/005

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Juliana Aparecida Borelli Pereira Leite

Título: Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos, visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Dr. (a) _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dr. (a) _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dr. (a) _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao Senhor Deus, por estar sempre presente em minha vida, por ter me fortalecido e sustentado em toda caminhada.

Aos meus pais, Maria Rosemeide e Jose Carlos pelo apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao meu esposo Glauber Leite, que com muito carinho e paciência em todos esses anos, ensinou-me a lutar e a não esmorecer diante dos desafios da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para a execução desse trabalho, direta ou indiretamente e que estiveram ao meu lado nessa conquista, em particular:

Ao Dr. César Júnior Bueno, pelo exemplo de pessoa e profissional, por toda dedicação e carinho, por todos os ensinamentos, pela parceria e confiança, em todos esses anos.

Aos membros da banca de qualificação e defesa: Dr. Luís Garrigós Leite e Dra. Margarida Fumiko Ito, por todas as sugestões e observações valiosas que enriqueceram o trabalho.

À Dra. Silvânia Helena Furlan, pela paciência, grandes ensinamentos, oportunidade e pela amizade.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelo apoio e fornecimento de material para a realização do projeto, em especial ao Dr. Maurício C. Meyer.

Ao Instituto Agris, pelo apoio e fornecimento de material para a realização do projeto, em especial ao Engenheiro Agrônomo Mateus Zanatta.

As empresas Koppert e a Biovalens, pelo apoio e fornecimento dos produtos biológicos para a realização do projeto.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação

Ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico de São Paulo, pela oportunidade, em especial ao coordenador do programa Dr. Marcelo Eiras.

Aos meus amigos do mestrado, por todos os aprendizados e contribuição para tornar esse trabalho possível: Thaís Sinico, Luciana Soares, Ester Marques, Emanuel Torres, Alexsine Vanzela, Alexandre Lopes e Uiara Souza, por toda parceria e momentos de descontração no alojamento; Flávio Contento, pela ajuda com a medição do pH das caldas.

À minha amiga Luiza Rodenas, que o mestrado me presenteou e levarei para sempre. Grata pela parceria e por me inspirar diariamente, pelos trabalhos e disciplinas realizados em conjunto e, principalmente, pela preocupação e apoio constantes.

À minha querida amiga de infância Franciani Favoretti, por todos os momentos e carinho. Agradeço muito a sua amizade, parceria e por toda a ajuda com os experimentos,

tenho toda admiração pela pessoa que você é, muito obrigada!

Às minhas amigas Rafaela, Cintia, Maria, Natalia, Lilian e Amanda, pela amizade, por todos os conselhos e por serem pessoas tão maravilhosas.

Aos meus irmãos Fábio e Karina, grata pela paciência, amor, apoio e incentivo, por todas as brincadeiras, parceria, momentos bons e ruins que me fizeram crescer e me ensinaram a ser uma pessoa melhor. Por toda a união que temos e vamos ter ao longo de nossas vidas. Amo vocês de uma maneira inexplicável!

Aos meus sobrinhos Lucas, Miguel, Pedro, Théó, Luis Felipe, Issac e Davi, por tonar a vida mais leve, nas brincadeiras, pelo amor e alegrias.

Ao meu marido, companheiro de todas as horas, que contribuiu decisivamente para que esta dissertação pudesse ser concluída, obrigada por seu apoio e incentivo durante todos esses anos. Por acreditar sempre que eu sou capaz, me levantando e inspirando a não desistir e correr atrás dos meus sonhos. Amo você.

Aos meus pais, por todas as oportunidades, educação, carinho e amor. Vocês são e sempre serão o meu porto seguro, aqueles que querem me ver e ajudar a crescer, admiro e me espelho sempre.

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

O tamanho dos seus sonhos deve sempre exceder a sua capacidade de alcançá-los. Se os seus sonhos não te assustam, eles não são grandes o suficiente.

” Ellen Johnson-Sirleaf ”

PEREIRA LEITE, Juliana Aparecida Borelli. **Metodologias de avaliação e compatibilidade de produtos químicos e biológicos, visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.** 2021. 136 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2021.

RESUMO

A doença mofo-branco, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, pode reduzir a produtividade da soja de 30% até 70%. O manejo dessa doença consiste de controles químico e biológico. Objetivou-se no presente estudo avaliar a compatibilidade de produtos químicos e biológicos no controle *in vitro*, *in vivo* e na germinação carpogênica de isolados de *S. sclerotiorum* de soja e aprimorar metodologias de avaliação. Foram testados três isolados do fungo. Os fungicidas testados foram: Tiofanato metílico; Procimidona; Boscalida + Dimoxistrobina; Fluazinam e Fluazinam + Tiofanato metílico, em cinco concentrações (0; 0,1; 1,0; 10, 100 e 1000 ppm do i.a.). Os produtos de controle biológico foram: Trichordemil® (*Trichoderma harzianum*); Tricho-turbo® (*T. Asperellum*); Serenade® (*Bacillus subtilis*) e Bio-Imune® (*B. subtilis*), na concentração de 1000 ppm do p.c., bem como as misturas dos fungicidas + produtos de controle biológico. O teste de patogenicidade dos isolados foi feito em folhas destacadas de soja, seguido de inoculação de disco de BDA com os isolados. Avaliou-se a severidade da doença com escala diagramática e contou-se o número de escleródios produzidos. O pH das caldas dos fungicidas, dos produtos de controle biológico e das misturas foi medido bem como avaliada a compatibilidade. O efeito *in vitro* dos fungicidas sobre os produtos de controle biológico foi avaliado por cultura pareada. No ensaio *in vitro*, incorporou-se os fungicidas, os produtos de controle biológico e as misturas em BDA, seguido de inoculação dos isolados do fungo. Mediu-se o diâmetro da colônia e contaram-se os escleródios produzidos. Calculou-se a equação da performance de cada produto e misturas por isolado, o R^2 e as concentrações letais CL_{50} e CL_{95} . No ensaio *in vivo*, os fungicidas, os produtos de controle biológico e suas misturas foram aplicados nas folhas destacadas de soja, seguido de inoculação dos isolados do fungo. A avaliação foi idêntica ao do teste de patogenicidade. As equações, R^2 e CL_{50} e CL_{95} por produto e por isolado também foram calculadas. O teste de germinação carpogênica dos isolados foi feita em caixas gerbox com solo autoclado, infestado com escleródios de cada isolado e regado com fungicidas, produtos de controle biológico e suas misutras. Avaliou-se a germinação dos

escleródios. Calculou-se a equação da performance, o R^2 e as concentrações letais CL_{50} e CL_{95} . Todos os isolados de *S. sclerotiorum* foram patogênicos em folhas de soja destacadas, com diferenças de agressividade entre eles. Os valores de pH dos fungicidas e, principalmente, da mistura fungicidas + produtos de controle biológico ficaram dentro da normalidade para aplicação no campo. Não há incompatibilidade física na calda dos fungicidas com produtos de controle biológico, quando a mesma ficou em água em constante agitação. Os fungicidas interferiram mais efetiva e negativamente sobre o crescimento do antagonista *Bacillus* do que do *Trichoderma*. Os fungicidas associados aos antagonistas *Trichoderma* e *Bacillus* proporcionaram maiores porcentagens de inibição de *S. sclerotiorum*, quando comparados ao uso isolado dos fungicidas, bem como inibiram nova produção de escleródios e impediram a germinação carpogênica das estruturas. Dentre as metodologias testadas, o método de inoculação com disco de BDA em folhas destacadas de soja reproduziu de forma eficiente os sintomas da doença e pode demonstrar melhor o que pode acontecer no campo com a aplicação, principalmente, das misturas nas plantas de soja visando o controle do mofo branco. Todos os isolados de *S. sclerotiorum* mostraram-se altamente sensíveis aos fungicidas quanto ao crescimento micelial, com exceção dos isolados de Jaciara – MT e Muitos Capões – RS que enquadraram-se como moderadamente sensíveis especificamente ao tiofanato-metilico. Os isolados mostraram-se moderadamente sensíveis aos fungicidas quando testados para o controle da severidade da doença, com exceção dos isolados de Pilar do Sul – SP e de Muitos Capões – RS que foram pouco sensíveis ao fluazinam e tiofanato-metilico. Na germinação carpogênica, os isolados comportaram-se desde altamente sensíveis a pouco sensíveis aos fungicidas, em especial o de Muitos Capões-RS que foi pouco sensível aos fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metilico.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max.* Mofo-branco. Fungicida. Biocontrole. Sensibilidade.

PEREIRA LEITE, Juliana Aparecida Borelli. **Evaluation and compatibility methodologies for chemical and biological products aimed at controlling *Sclerotinia sclerotiorum* in soy.** 2021. 136 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2020.

ABSTRACT

White mold disease, caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, can reduce soybean yields by 30% to 70%. The management of this disease consists of chemical and biological controls. The objective of this study was to evaluate the compatibility of chemical and biological products in the control *in vitro*, *in vivo* and in the carpogenic germination of isolates of *S. sclerotiorum* of soybean and to improve methodologies of evaluation. Three isolates of the fungus were tested. The fungicides tested were: Methyl Thiophanate; Procymidone; Boscalid + Dimoxystrobin; Fluazinam and Fluazinam + Methyl Thiophanate, in five concentrations (0; 0.1; 1.0; 10, 100 and 1000 ppm of a.i.). The biological control products were: Trichodemil® (*Trichoderma harzianum*); Trichoturbo® (*T. Asperellum*); Serenade® (*Bacillus subtilis*) and Bio-Imune® (*B. subtilis*), at 1000 ppm c.p. concentration, as well as mixtures of fungicides + biological control products. The pathogenicity test of the isolates was performed on detached soybean leaves, followed by inoculation of BDA discs with the isolates. The severity of the disease was evaluated with a diagrammatic scale and the number of sclerotia produced was counted. The pH of the fungicides, biological control products and mixtures was measured and the compatibility was evaluated. The *in vitro* effect of fungicides on biological control products was evaluated by paired culture. In the *in vitro* assay, fungicides, biological control products and mixtures were incorporated into BDA, followed by inoculation of the fungal isolates. Colony diameter was measured and sclerotia produced were counted. The equation of the performance of each product and mixture per isolate, the R^2 and the lethal concentrations CL_{50} and CL_{95} were calculated. In the *in vivo* test, fungicides, biological control products and their mixtures were applied to detached soybean leaves, followed by inoculation of the fungal isolates. The evaluation was identical to that of the pathogenicity test. The equations, R^2 and CL_{50} and CL_{95} per product and per isolate were also calculated. The carpogenic germination test of the isolates was performed in gerboxes with self-cleaned soil, infested with sclerotia of each isolate and irrigated with fungicides, biological control products and their mixtures. Germination of the sclerotia was evaluated. The performance equation, R^2 and the lethal

concentrations CL₅₀ and CL₉₅ were calculated. All isolates of *S. sclerotiorum* were pathogenic on detached soybean leaves, with differences in aggressiveness among them. The pH values of the fungicides and, mainly, of the mixture fungicides + biological control products were within the normality for field application. There was no physical incompatibility in the syrup of fungicides with biological control products, when it remained in water with constant agitation. The fungicides interfered more effectively and negatively on the growth of *Bacillus* antagonist than *Trichoderma*. The fungicides associated with the antagonists *Trichoderma* and *Bacillus* provided higher percentages of inhibition of *S. sclerotiorum*, when compared to the isolated use of fungicides, as well as inhibited new production of sclerotia and impeded the carpogenic germination of the structures. Among the tested methodologies, the inoculation method with BDA disk on detached soybean leaves efficiently reproduced the symptoms of the disease and can better demonstrate what can happen in the field with the application, especially, of the mixtures on soybean plants aiming to control white mold. All isolates of *S. sclerotiorum* were highly sensitive to fungicides in terms of mycelial growth, with the exception of isolates from Jaciara - MT and Muitos Capões - RS, which were found to be moderately sensitive specifically to thiophanate-methylum. The isolates were moderately sensitive to fungicides when tested to control disease severity, with the exception of isolates from Pilar do Sul - SP and Muitos Capões - RS, which were not very sensitive to fluazinam and thiophanate-methyl. In carpogenic germination, the isolates ranged from highly sensitive to little sensitive to fungicides, especially the isolate from Muitos Capões-RS, which was little sensitive to fluazinam, procymidone and thiophanate-methyl.

KEYWORDS: *Glycine max.* white mold. Fungicide. Biocontrol. Sensitivity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo do mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.....28
- Figura 2.** Colônia pura do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no meio de cultura batata dextrose ágar com sete dias de crescimento.....38
- Figura 3.** Escala diagramática (GARCIA; JULIATTI, 2012) modificada para avaliar a agrecividade dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folhas de plantas de soja.....39
- Figura 4.** Medição do pH da calda nas diferentes concentrações.....41
- Figura 5.** Evolução do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em placa de Petri contendo o meio de cultura Batata Dextrose Ágar.....43
- Figura 6.** Plantas de soja cv. BMX Potência RR cultivadas em vasos.....45
- Figura 7.** Inoculação com discos de batata dextrose ágar, contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folíolos destacados de soja.....46
- Figura 8.** Germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, em caixa gerbox contendo solo de barranco autoclavado e tratado ou não com fungicidas, biológicos e associações.....47
- Figura 9.** Patogenicidade dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de soja cv. BMX potência. A) Pilar do Sul – SP; B) Muitos Capões – RS; C) Jaciara – MT; D) Pinhões – PR.....49
- Figura 10.** Incompatibilidade físico-química, calda em repouso por duas horas. A) Espuma; B) Floculação e separação de óleo; C) Separação de fases e D) Sedimentação.....54
- Figura 11.** Efeitos dos fungicidas com *Trichoderma*, nas doses recomendadas pelo fabricante. A) BDA, B) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, C) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, D) Dimoxistrobina; Boscalida, E) Procimidona, F) Tiofanato-Metílico, G) *T. harzianum*, H) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *T. harzianum*, I) Fluazinam + *T. harzianum*, J) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. harzianum*, K) Procimidona + *T.*

harzianum, L) Tiofanato-Metílico + *T. harzianum*, M) *T. asperellum*, N) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *T. asperellum*, O) Fluazinam + *T. asperellum*, P) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. asperellum*, Q) Procimidona + *T. asperellum*, R) Tiofanato-Metílico + *T. Asperellum*.....56

Figura 12. Efeito de fungicidas em *Bacillus* nas doses recomendadas pelo fabricante.

A) BDA, B) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, C) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, D) Dimoxistrobina; Boscalida, E) Procimidona, F) Tiofanato-Metílico, G) *B. subtilis*¹, H) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *B. subtilis*¹, I) Fluazinam + *B. subtilis*¹, J) Dimoxistrobina; Boscalida *B. subtilis*¹, K) Procimidona + *B. subtilis*¹, L) Tiofanato-Metílico *B. subtilis*¹, M) + *B. subtilis*², N) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + + *B. subtilis*², O) Fluazinam + + *B. subtilis*², P) Dimoxistrobina; Boscalida + + *B. subtilis*², Q) Procimidona + + *B. subtilis*², R) Tiofanato-Metílico + + *B. subtilis*².....57

Figura 13. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios, do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Procimidona. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*.....61

Figura 14. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara – MT nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Dimoxistrobina + Boscalida. B) Procimidona + *Trichoderma asperellum*. C) Procimidona + *Bacillus subtilis*. D) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*.....63

Figura 15. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios, do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões-MT, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Tiofanato-metílico. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma asperellum*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*.....64

Figura 16. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP em folhas de soja destacadas, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Tiofanato-Metílico; Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida + *T.*

harzianum. C) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. Subtilis*.....83

Figura 17. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara – MT em folhas de soja descadas, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Fluazinam. B) Tiofanato-metilico. C) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *B. subtilis*. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*.....86

Figura 18. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões-MT, em folhas de soja destacadas, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida. C) Fluazinam + *T. asperellum*. D) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*.....89

Figura 19. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Procimidona. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*..... 106

Figura 20. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara - MT, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Procimidona. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*..... 109

Figura 21. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de muitos Capões - RS, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Procimidona. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*..... 111

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Fungicidas e produtos biológicos nas diferentes concentrações, a partir da dose comercial utilizada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*.....40
- Tabela 2.** Transformação da porcentagem de inibição do patógeno para o Probit.....44
- Tabela 3.** Severidade do mofo-branco em folhas de soja, cv. BMX Potência RR, causada por diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e número de escleródios formados sobre a lesão50
- Tabela 4.** Potencial hidrogeniônico das caldas com fungicidas e suas misturas com produtos de controle biológico em meio de cultura (BDA) nas suas diferentes concentrações.....51
- Tabela 5.** Potencial hidrogeniônico das caldas com fungicidas e suas misturas com produtos de controle biológico em água destilada e autoclavada, nas suas diferentes concentrações.....52
- Tabela 6.** Efeito de fungicidas em *Trichoderma* e *Bacillus* nas doses recomendadas pelo fabricante, em condições de estufa tipo BOD regulada para $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$55
- Tabela 7.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....59
- Tabela 8.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT em meio de cultura incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....62
- Tabela 9.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões – RS em meio de cultura incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....65

Tabela 10. Número de escleródios formados pelo isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Pilar do Sul - SP nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....	68
Tabela 11. Número de escleródios formados pelo isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Jaciara- MT nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....	70
Tabela 12. Número de escleródios formados pelo isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Muitos Capões - RS nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....	72
Tabela 13. Equação do crescimento micelial do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Pilar do Sul – SP, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95}	75
Tabela 14. Equação do crescimento micelial do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Jaciara – MT, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95}	76
Tabela 15. Equação do crescimento micelial do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Muitos Capões – RS, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CL_{50} e CL_{95}	78
Tabela 16. Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , de Pilar do Sul – SP em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....	81
Tabela 17. Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , de Jaciara – MT em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....	86

- Tabela 18.** Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muitos Capões - RS em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de destacadas, fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....88
- Tabela 19.** Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul - SP em folhas destacadas contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....93
- Tabela 20.** Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara- MT em folhas destacadas contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....94
- Tabela 21.** Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões - RS em folhas destacadas fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.....96
- Tabela 22.** Equação da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em folhas de soja destacadas contendo diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95}99
- Tabela 23.** Equação da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara – MT, em folhas de soja destacadas contendo diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95}100
- Tabela 24.** Equação da severidade da doença isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões – RS, em folhas de soja destacadas contendo diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CL_{50} e CL_{95}102
- Tabela 25.** Porcentagem de inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP em caixa gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....105

Tabela 26. Porcentagem de inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara - MT em caixa gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....107

Tabela 27. Porcentagem de inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muitos Capões - RS em caixa gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.....110

Tabela 28. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em caixas gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95}114

Tabela 29. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara - MT, em caixas gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95}115

Tabela 30. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões - MT, em caixas gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95}116

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	graus Celsius
Cl	Concentração letal
ATM	Pressão atmosférica
B.	<i>Bacillus</i>
BDA	Batata Dextrose ágar
B.O.D	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CONAB	Companhia Nacional de abastecimento
cm	centímetro
cv.	Cultivar
EMBRAPA	Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria
g	gramas
ha	hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografica e Estatistica
L	litro
pH	Potencial hidrogeniônico
PIC	Porcentagem de inibição do crescimento da colônia
PIE	Porcentagem de inibição dos escleródios
ppm	partes por milhão
mL	mililitro
Min	minuto
T.	<i>Trichoderma</i>
S.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1. Soja	24
2.2. O fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (LIB.) de Bary	25
2.3. Manejo da doença mofo-branco	28
2.4. Controle químico da doença mofo-branco	30
2.5. Controle biológico da doença mofo-branco	31
2.6. Compatibilidade de produtos químicos e de controle biológicos no controle do mofo-branco	34
3. OBJETIVOS	36
3.1. Objetivo Geral	36
3.2. Objetivos Específicos	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1. Isolados e produção de inóculo de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	37
4.2. Teste de patogenicidade em folhas destacadas de soja	38
4.3. Produtos utilizados e compatibilidade física e química das caldas	40
4.4. <i>In vitro</i> – Avaliar o efeito dos fungicidas e suas concentrações sobre o desenvolvimento do <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i>	41
4.5. <i>In vitro</i> – Efeito dos produtos e suas misturas na inibição do crescimento micelial dos isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e na produção de escleródios	42
4.6. <i>In vivo</i> – Efeito dos produtos e suas misturas na severidade da doença, causada pelos isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas de soja	44
4.7. Germinação carpogênica – avaliação da inibição da germinação dos escleródios dos isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1. Teste de Patogenicidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas de soja	49
5.2. Compatibilidade física e química da calda dos fungicidas e suas associações com produtos biológicos	50
5.3. <i>In vitro</i> – Efeito dos fungicidas sobre desenvolvimento do <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i>	54
5.4. <i>In vitro</i> – Efeito dos produtos e suas misturas na inibição do crescimento micelial, na produção de escleródios e avaliação da sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	59
5.4.1. <i>In vitro</i> - Crescimento micelial de isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultura com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico	59
5.4.2. <i>In vitro</i> – Produção de escleródios de isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultura BDA com fungicida e misturas com produtos de controle biológicos	68
5.4.3. <i>In vitro</i> – Sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultura com fungicidas e misturas com produtos de controle biológicos	74

5.5. <i>In vivo</i> – Efeito dos produtos e suas misturas na severidade da doença, na produção de escleródios e avaliação da sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , em folha destacadas de soja.....	80
5.5.1. <i>In vivo</i> – Inibição da severidade da doença causada pelos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas de soja.....	80
5.5.2. <i>In vivo</i> – Produção de escleródios de isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas de soja.....	91
5.5.3. <i>In vivo</i> – Sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas de soja.....	98
5.6. Efeito dos produtos e suas mituras na germinação carpogênica e na avaliação da sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , em caixa gerbox com solo de barranco.....	103
5.6.1. Germinação carpogênica dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , em caixas gerbox com solo de barranco regado com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico.....	103
5.6.2. Sensibilidade dos isolados do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , na germinação carpogênica em caixas gerbox com solo de barranco regado com fungicida e misturas com produtos de controle biológicos.....	113
6. CONCLUSÕES	119
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120

1. INTRODUÇÃO

Na safra 2019/2020, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial de soja. Na safra 2020/2021 teve um novo recorde, a cultura ocupou uma área de 38.502,7 milhões de hectares, produzindo 135,861 milhões de toneladas com uma produtividade média de 3.528 kg por ha (CONAB, 2021).

As doenças causadas por fungos estão entre os fatores que mais afetam o rendimento da soja, de uma safra para outra, e contribuem para o aumento dos custos de produção (ES-SOUFI et al., 2020). Dentre essas doenças, destaca-se o mofo-branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Esse fungo é necrotrófico, sobrevive em restos culturais e infecta e causa perdas em ampla gama de plantas hospedeiras (BOLAND; HALL, 1994; BOLTON et al., 2006), como a soja, feijão, algodão, girassol, milho, batata e dentre outras (GRAU, 1988). As condições que predisõem o desenvolvimento da doença são alta umidade relativa do ar, regiões chuvosas, excesso de irrigação, temperaturas amenas (15 a 25°C) e pouca incidência de luz (MEYER et al., 2017).

Os sintomas e sinais da doença são a presença de lesões encharcadas nas folhas, ou qualquer outro tecido da parte aérea da planta, de coloração parda e consistência mole. Nos tecidos infectados aparece uma eflorescência branca que lembra algodão, constituindo-se o micélio do fungo. Em poucos dias, o micélio transforma-se em uma massa negra e rígida, o escleródio (LEITE, 2005).

Os escleródios, estruturas de resistência do fungo, podem permanecer viáveis no solo por 8 anos ou mais (ALMEIDA et al., 2005). Na germinação miceliogênica do escleródio, há produção de hifas que infectam diretamente a planta, causando podridão de raiz. Na germinação carpogênica há formação de apotécio e produção de ascósporos. A maioria dos ascósporos deposita-se nas plantas no campo onde foi produzido (WEGULO et al., 2000) e alguns são dispersos pelo vento, podendo alcançar longas distâncias e infectando ainda outras plantas hospedeiras (LI et al., 1994).

O controle do mofo-branco é considerado difícil devido à sobrevivência do fungo no solo, a grande gama de plantas hospedeiras, a ausência de cultivares resistentes e a elevada produção de ascósporos e escleródios. Além disso, o fungo pode sobreviver em sementes na forma de micélio dormente, ou com escleródios aderidos nas mesmas (GARCIA, 2008). O controle químico está entre os métodos mais antigos e usuais no

controle do fungo *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary (NATTI, 1971; STEADMAN, 1979).

No controle químico do mofo-branco deve-se levar em considerações os seguintes aspectos: a época de aplicação, o fungicida e as técnicas de aplicação como vazão, pressão e ponta de pulverização escolhida.

O uso conjunto do controle químico e biológico mostra interação positiva, quando comparado aos métodos isolados (SRINIVAS; RAMAKRISHNAN, 2002). A combinação torna-se promissora no manejo de doenças de plantas, devido ao acréscimo de mecanismos de ação, proporcionado pelo componente biológico, além de redução de impacto causado ao ambiente.

As informações sobre a compatibilidade de agentes de controle biológico com produtos químicos, na literatura, são restritas. Em virtude da crescente demanda dos produtos biológicos, torna-se imprescindível o conhecimento do resultado dessa interação, observando-se os efeitos sobre as plantas e o controle das doenças, dando suporte às recomendações agronômicas e ao posicionamento de produtos no campo.

Nos dias de hoje e nos estudos realizados nas culturas, a busca por métodos alternativos de controle de doenças vem tendo grande importância. O controle biológico de *S. sclerotiorum* é considerado como mais uma ferramenta no manejo integrado da doença (FERNANDO et al., 2005).

Alguns exemplos de microrganismos com efeito antagônico a *S. Sclerotiorum* encontrados na literatura são *Coniothyrium minitans* (CAMPBELL, 1947), *Trichoderma* spp. (WHIPPS, 1987), *Gliocladium* spp. (BUDGE et al., 1995), *Sporidesmium sclerotivorum* (DEL RIO et al., 2002), *Bacillus subtilis* (ZHANG et al., 2011) e *Bacillus amyloliquefaciens* (ALVAREZ et al., 2012). Dentre todos esses microrganismos, no Brasil já existem produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp., que são recomendados para o controle do mofo-branco.

Muitas espécies de *Trichoderma*, um dos agentes de controle biológico mais utilizado, possuem resistência total ou parcial a muitos fungicidas. Porém, essa informação ainda não está bem clara e pode variar de acordo com o fungicida, bem como com a formulação e a espécie do antagonista envolvido (KHAN; SHAHZAD, 2007).

Trichoderma spp. é um fungo de solo encontrado especialmente em solos orgânicos, podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (KUBICEK et al., 2001; ETHUR, CEMBRANEL & SILVA, 2001).

Espécies de *Trichoderma* são apontadas como agentes supressores de *Rhizoctonia solani* (Kuhn), em experimentos realizados em laboratório (HOWELL et al., 2000) e no

controle de duas importantes doenças, a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. Et Mag.)) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e o mofo-branco da soja (FREEMAN et al., 2004; DE LA CRUZ-QUEIROZ et al., 2018).

Bactérias do gênero *Bacillus* possuem propriedades antagonistas contra fitopatógenos e apresetam três principais mecanismos de controle: competição por substrato, produção de produtos químicos inibitórios e indução de resistência sistêmica na planta (DORIGHELLO et al., 2020). A bactéria *B. subtilis* produz várias classes de antibióticos lipopeptídicos, de largo espectro, que são supressores de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria* e *Verticillium* (ONGENA; JACQUES, 2008).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a compatibilidade de produtos químicos e biológicos no controle *in vitro*, *in vivo* e na germinação carpogênica de três isolados *S. sclerotiorum* de soja e aprimorar metodologias de avaliação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa que pertence ao reino *Plantae*, divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida*, ordem *Fabales*, família *Fabaceae* (Leguminosae), subfamília *Faboideae* (Papilionoideae), gênero *Glycine* e espécie *Glycine max* (L.) Merrill (SEDIYAMA, 2009).

A cultura da soja tem complexa estrutura de produção, armazenamento, processamento e comercialização, devido ao seu alto teor de proteína, emprego na extração de óleo para alimentação humana, manufaturação de muitos produtos processados e semiprocessados, bem como na produção de biodiesel. Possui também outras utilidades como adubo verde, forragem, silagem, feno e pastagem (SEDIYAMA et al, 2009).

A exploração comercial da soja foi iniciada nos Estados Unidos (EUA), primeiramente como forrageira na segunda metade do século XX, e posteriormente como grão. A partir de 1941, a área cultivada para grãos superou a cultivada para forragem.

No ano de 1882, a soja chegou no Brasil através dos Estados Unidos e com auxílio de Gustavo Dutra, professor da Escola de Agronomia da Bahia. Esse professor realizou os primeiros estudos de avaliação de cultivares introduzidas no País. Em seguida, a cultura foi levada por imigrantes japoneses para São Paulo. Porém, em 1914 foi para o Rio Grande do Sul, em Santa Rosa, para o cultivo. Somente na década de 40, a cultura ganhou importância nacional, com a expansão do seu cultivo. A partir da década de 1960, a soja firmou-se como cultura de importância econômica para a região do sul do Brasil. (BONATO; BONATO, 1987; DALL'AGNOL et al., 2007).

No cenário atual, Brasil, EUA e Argentina destacam-se como maiores produtores e exportadores mundiais de soja. Segundo dados da USDA (2019) referentes à safra de 2018/2019, os três países são responsáveis por 81,75% da produção mundial. Desse total, os EUA respondeu por 34,08%, o Brasil por 32,24% e a Argentina por 15,43%. Os números da exportação também ratificam esse protagonismo. Ainda, com dados referentes à safra de 2018/2019, Brasil, EUA e Argentina responderam por 88,33% das

exportações mundiais. Desse total, o Brasil se destacou com 51,85% do volume mundial exportado. Os EUA respondeu por 31,22% e a Argentina por 5,26%.

A cultura da soja tem adaptação em diferentes regiões do país é considerada uma das principais “commodities” agrícolas do Brasil e a mais importante cultura oleaginosa, possuindo componentes alimentícios e outras propriedades valiosas para a dieta humana. O estado do Mato Grosso é o maior produtor do grão, seguido pelo Paraná e Rio Grande do Sul, com produção de 35.885, 21,598 e 11,444 milhões de toneladas na última safra (2019/2020), respectivamente (CONAB, 2020).

Para Juliatti (2005), as características e a adaptabilidade a diferentes altitudes, solos e condições climáticas facilitou a expansão da cultura para o mundo. Segundo Ferraz e Felício (2010), o Brasil possui condições ambientais e climáticas favoráveis para o cultivo da soja, contribuindo para a expansão agrícola da cultura.

Na safra 2019/2020, o Brasil colheu sua maior safra, estabelecendo marco histórico na produção, produzindo 124.844,5 milhões de toneladas, com aumento de 4,2% comparado à safra anterior e uma área plantada de 36.949,8 milhões de hectares (CONAB, 2020). Nessa safra 2020/2021 teve um novo recorde, a cultura ocupou uma área de 38.502,7 milhões de hectares, produzindo 135,861 milhões de toneladas com uma produtividade média de 3.528 kg por ha (CONAB, 2021).

2.2. O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Sclerotinia sclerotiorum foi descrito por Antony de Bary em 1884 e o primeiro registro de ocorrência deste patógeno no Brasil foi em 1921, na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) (CHAVES, 1964). Em seguida, o patógeno foi detectado no ano de 1954, no estado do Rio Grande do Sul, na cultura do feijoeiro. Nos anos de 1976 e 1977 foi detectado no estado do Paraná, na cultura da soja e, posteriormente, nos anos de 1983 o mofo-branco atacou a soja na região do Alto Paranaíba (MG) e em 1985 no Distrito Federal disseminou-se nos cultivos de verão (soja) e de inverno (feijão). (EMBRAPA, 2019).

O fungo *S. sclerotiorum* é o agente etiológico causador do mofo-branco na soja. A doença recebe diferentes nomes (BERUSKI, 2013), dentre os quais se destacam podridão branca da haste da soja, podridão da haste de esclerotinia ou podridão branca de esclerotinia (PURDY, 1979). Esses nomes decorrem dos sintomas e sinais que o patógeno

causa na planta (LEITE, 2005).

Esse fungo é classificado taxonomicamente no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, Ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae e Gênero Sclerotinia (AGRIOS, 1997; HAWKSWORTH et al., 1995). Pertence ao grupo dos fungos mitospóricos, subgrupo dos Hifomycetos (AGRIOS, 1997).

O mofo-branco apresenta distribuição nas diversas regiões do Brasil, mas principalmente naquelas em que ocorrem temperaturas médias noturnas abaixo de 20°C e com elevada frequência de chuvas, no período entre o final da fase reprodutiva e início de formação de grãos da soja (FERRAZ et al., 2003; MEYER et al., 2010). Atualmente, esta é uma das principais doenças da cultura da soja nas últimas safras, decorrente da dificuldade de controle, podendo ocasionar perdas em produtividade na ordem de 30%, chegando a 100% quando medidas de manejo não são tomadas (FURLAN, 2009).

No Brasil, estima-se que cerca de 23% ou 7,7 milhões de hectares da área plantada com soja esteja infestada pelo patógeno, sendo os estados mais afetados Goiás, Bahia, Mato Grosso e Paraná (MEYER et al., 2017).

O fungo *S. sclerotiorum* é um patógeno que possui hábito necrotrófico, ou seja, sobrevive em restos de culturas e possui estrutura de resistência (escleródio) que sobrevive no solo por até oito anos (STEADMAN, 1983; VENNETT, 1998).

Segundo Ferraz et al. (2003), *S. sclerotiorum* é um fungo inespecífico e considerado como um dos patógeno de plantas mais bem sucedido, devido a sua ampla gama de hospedeiros, dificultando assim o seu controle por rotação de culturas, visando reduzir o potencial de inóculo no solo. Com relação à gama de hospedeiros do fungo, *S. sclerotiorum* é patogênico a 78 famílias, 278 gêneros e 408 espécies de plantas, incluindo algumas de maior interesse econômico, como soja, feijão, algodão, girassol, tomate, batata e fumo, e plantas daninhas como picão, carrapicho, caruru, mentrasto e vassoura (BOLLAND; HALL, 1994).

Bueno et al. (2006) relataram a ocorrência de *S. sclerotiorum* em *Aster ericoides* L. da família Asteraceae, planta ornamental perene originária da América do Norte, muito cultivada em jardins, vasos ou como flores de corte. Homechin (1983) relatou plantas daninhas como hospedeiras de *S. sclerotiorum*, como erva-mate (*Borreria alata* Aubl), corda de viola (*Ipomoea nil* (L.) Roth), amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.) e caruru (*Amaranthus deflexus* L.).

Segundo Bianchini et al. (2005), os sintomas da doença se caracterizam por murcha, necrose e podridão aquosa coberta por micélio branco na superfície do tecido.

Esse micélio branco pode ocorrer também na superfície do solo. Tanto no solo e em algumas partes da planta como haste e vagem, o micélio transforma-se em estruturas de sobrevivência do patógeno, denominadas de escleródios.

A disseminação do patógeno se dá principalmente pelas sementes, que podem estar infestadas com o micélio do fungo ou por meio da presença de escleródios. Outra forma de disseminação é através dos ascósporos, que são levados pelo vento (FURLAN, 2010).

A germinação do escleródio, por sua vez, pode ser carpogênica ou miceliogênica, desencadeando novo ciclo da doença. A germinação carpogênica ocorre através dos escleródios, que germinam e formam estruturas de reprodução chamadas de apotécio com ascas que produzem com grande quantidade de ascósporos. A germinação miceliogênica é caracterizada pelo crescimento de hifas hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas, com origem a partir de microsporos do escleródio.

A formação dos escleródios ocorre em três estágios de desenvolvimento. No início, primeiro há agregação das hifas para formar uma massa branca, que inicialmente pode ser chamada de micélio. Em seguida, ocorre o crescimento e o desenvolvimento das hifas, havendo a agregação adicional de hifas, que visa aumentar seu tamanho. Estágio final, ocorre a deposição de melanina nas células da casca e também a consolidação interna. Nesta fase ocorre a delimitação e a maturação da superfície do escleródio (TOWNSEND; WILLETTS, 1954) (Figura 1).

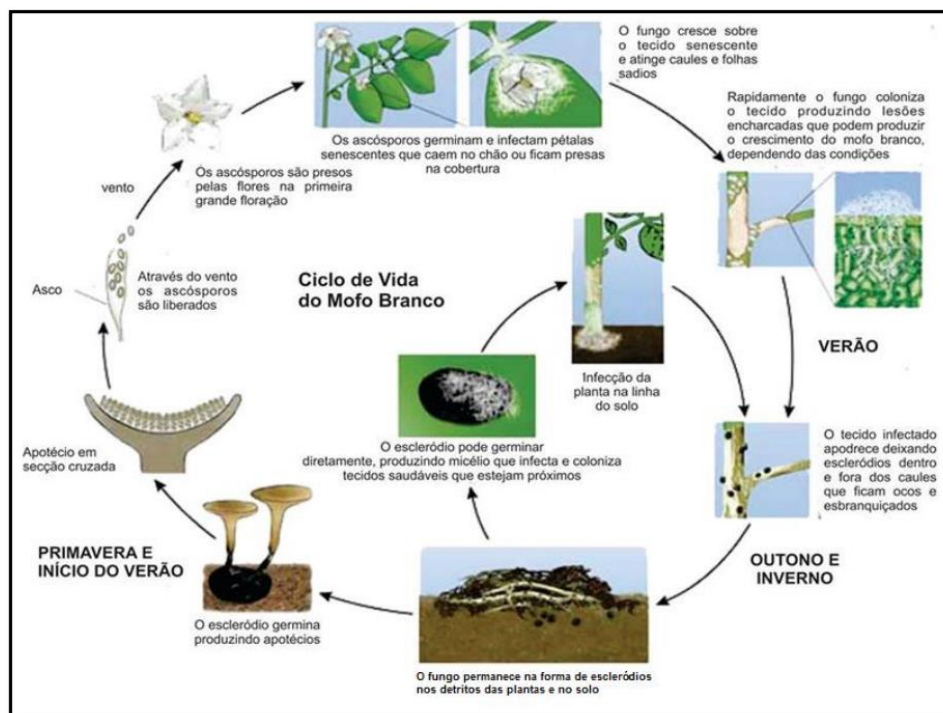


Figura 1- Ciclo do mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.

Fonte: Santos Marques (2014).

De acordo com Paula Júnior et al. (2010), cada escleródio é capaz de dar origem a mais de 20 apotécios, nos quais são formados milhares de ascos e, a partir destes, são liberados os ascósporos no ar. Os escleródios permanecem no solo em estado de dormência até que as condições se encontrem favoráveis, para que ocorra tanto a germinação miceliogênica, quanto à germinação carpogênica, com formações de estipes e apotécios (BARDIN; HUANG, 2007; HUANG, 1980).

2.3. Manejo da doença mofo-branco

O controle do mofo branco é considerado difícil devido à sobrevivência do fungo no solo, a grande gama de plantas hospedeiras, a ausência de cultivares resistentes e a elevada produção de ascósporos, que são disseminados por longas distâncias através da ação do vento. E também pode sobreviver em sementes na forma de micélio dormente, ou com contaminação esclerodios (GARCIA, 2008).

Dentre as práticas de manejo pode-se citar o uso de sementes saudáveis, plantio precoce, bom preparo do solo, rotação de cultura, formação e manutenção de palhada, plantio direto, controle químico e biológico e espaçamento adequado entre linhas e de

densidade de plantas. Essas práticas contribuem para redução da severidade da doença e na redução do potencial de inóculo do patógeno. (FURLAN, 2009). Especificamente para rotação de culturas em plantio de soja, recomenda-se milho, aveia branca ou trigo. O controle de plantas daninhas hospedeiras do patógeno também se faz necessário (ALMEIDA et al., 2005). Homechin (1983) relatou plantas daninhas como hospedeiras de *S. sclerotiorum*, como erva-mate (*Borreria alata* Aubl), corda de viola (*Ipomoea nil* (L.) Roth), amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.) e caruru (*Amaranthus deflexus* L.).

A eficiência do controle químico e biológico do mofo-branco depende principalmente da época e modo de aplicação. As pulverizações devem ser realizadas uniformemente, com boa distribuição nos tecidos da planta e, se possível, alcançando a superfície do solo, onde surgem os apotécios. Além disso, a qualidade da aplicação do produto químico ou biológico é tão importante quanto a época, porque é preciso atingir as partes inferiores da planta e a superfície do solo, além de proteger as flores para uma maior eficiência (FURLAN, 2009).

Também é importante fazer a limpeza minuciosa de equipamentos agrícolas, principalmente se foram utilizados em áreas contaminadas, a fim de se evitar a introdução do patógeno em novas áreas, sem a presença do patógeno (PEREIRA et al., 2013).

A utilização de sementes certificadas diminuem os riscos de introdução do patógeno na área, assim como a realização do tratamento das sementes com fungicidas (HENNING et al., 2009).

No entanto, essas medidas bem como a permanência de escleródios viáveis por longo período de tempo no solo, as faltas de cultivares resistentes e controle químico eficaz, juntamente com a suscetibilidade dos hospedeiros, torna difícil o manejo da doença (BOTELHO, 2011; SOUZA FILHO, 2012).

Diante disso, a principal medida de controle é a prevenção, a fim de se evitar a entrada do patógeno em áreas onde não há histórico de ocorrência da doença, pois uma vez presente, é impossível erradicá-lo (ALMEIDA et al., 2005; PAULA JÚNIOR et al., 2010; PEREIRA et al., 2013).

2.4. Controle químico da doença mofo-branco

Segundo Bardin e Huang (2001), devido à falta de cultivares resistentes à doença, a utilização do controle químico por meio da aplicação de fungicidas tem sido um método eficiente, para redução da severidade da doença do mofo-branco.

No entanto, a redução da incidência proporcionada pela utilização de fungicidas varia de 0 a 60%, ou seja, não é possível o controle absoluto da doença (ESKER et al., 2011). Sendo assim, o controle químico não deve ser utilizado como único método de controle, e sim em conjunto com outras ferramentas de controle, visando um manejo integrado.

A severidade do mofo-branco em geral é proporcional à densidade de inóculo do patógeno no solo. Portanto, a redução do número da população de escleródios no solo é essencial para o controle efetivo do mofo-branco, em especial para o controle preventivo da doença na parte aérea das plantas, bloqueando a formação de apotécios e a ejeção de ascósporos, que reduz a produção de novos escleródios (GORGEN et al., 2010). Somente para a cultura da soja há o registro de 47 produtos comerciais para o controle químico do mofo-branco, tendo como ingredientes ativos fluazinam, carbendazim, tiofanato metílico, cloreto benzalcônico e procimidona (AGROFIT, 2021).

Além das características de cada ingrediente ativo em uso, a eficiência deles dependerá das características da cultivar utilizada, do nível de infestação do solo, do ambiente para o desenvolvimento do fungo, da tecnologia de aplicação empregada e do número de aplicações (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

O controle químico do mofo-branco na cultura da soja pode ser também ineficiente devido à dificuldade de se obter cobertura total do produto na planta (MUELLER et al., 2002), especialmente nas cultivares de ciclo mais longo. Alguns fatores colaboram para essa limitação, tais como dificuldades de ajuste do momento da aplicação com a liberação de ascósporos, bem como dificuldades em atingir o terço inferior da planta, onde normalmente o patógeno está localizado. Da mesma forma, o controle curativo quase sempre produz resultados muito aquém do desejável, em comparação ao controle preventivo (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Cassetari Neto et al. (2010) encontraram resultados satisfatórios a nível experimental dos ingredientes ativos procimidona, iprodiona, fluazinam e fluopyram.

Mueller et al. (2002) desenvolveram um trabalho sobre a eficiência de fungicidas sobre *S. sclerotiorum* em várias cultivares de soja. Foram testados os fungicidas benomil,

tebuconazole, tiofanato metílico e vinclozolina, *in vitro* e em campos experimentais. Nas cultivares onde a incidência da doença em campo foi alta, não foi observado controle consistente da doença. No entanto, em baixa incidência da doença as aplicações controlaram até 50%.

Nunes Junior et al. (2011) avaliaram a eficácia de fungicidas no controle de mofo-branco na cultura da soja no Estado de Goiás e relataram a redução da doença, quando aplicado os fungicidas procimidona, fluzinam, fluopyram, dimoxystrobina+boscalid e picoxystrobina + nimbus.

O tratamento de sementes tem se destacado como uma eficiente técnica para a obtenção de lavouras de alta qualidade. Vrisman et al. (2011) relataram o controle de 95% do patógeno por meio de tratamento de sementes com fungicidas. Desta forma, o uso de produtos capazes de erradicar os patógenos presentes nas sementes e que, além disto, não sejam tóxicos às plantas, ao homem e ao meio ambiente, que possuam características de alta estabilidade, aderência e cobertura, de baixo custo, fácil aquisição e de boa compatibilidade com outros produtos é de grande importância (LUCCA FILHO, 2006).

2.5. Controle biológico da doença mofo-branco

O controle biológico, ou o chamado biocontrole, pode ser de grande valia no manejo de doenças das lavouras comerciais, pois atua em algumas situações, onde outros métodos de controle não atuam, ou tem resultados muito limitados (BETTIOL, 2009).

O uso de biodefensivos agrícolas, como estratégia de controle biológico de pragas e doenças, tem potencial de crescimento anual de 20%, segundo a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBio). Esses dados mostram que, de 2017 para 2018, a indústria brasileira registrou 77% de expansão na comercialização dos insumos biológicos. A indústria brasileira atuante no controle biológico soma 76 fábricas produtoras destes agentes, movimentando mais de 930 milhões de reais em 2020.

Ainda, de acordo com o MAPA, calcula-se que o Brasil tenha cerca de 370 produtos biológicos registrados e a crescente demanda para estes produtos formulados vem aumentando desde 2015. A maior demanda por defensivos biológicos está atualmente concentrada nas culturas de soja (59% do mercado total), cana-de-açúcar (27%) e algodão (6%). (BRASIL, 2019).

De acordo com Cook e Baker (1983), o controle biológico é definido como a capacidade de reduzir a densidade do inóculo, ou das atividades determinantes da doença provocada por um determinado patógeno, por um ou mais organismos, de forma natural ou através da manipulação do ambiente ou do hospedeiro, ou pela introdução massal de um ou mais antagonistas.

O uso de microrganismos antagonistas a fitopatógenos é uma saída sustentável para o manejo de doenças na agricultura (RIBEIRO, 2012). Dentro do manejo integrado do mofo-branco da soja, essa prática vem ganhando espaço com a utilização de microrganismos antagonistas (ZANCAN et al., 2012), que reduzem o potencial de inóculo, parasitando escleródios e apotécios de *S. sclerotiorum*

Conforme Pomella e Ribeiro (2009), o controle biológico implica na redução do número de aplicações de fungicidas, podendo até mesmo eliminar essa prática, dependendo das condições ambientais, da severidade da doença e do manejo integrado.

Fungos do gênero *Trichoderma* também podem ser utilizados como agentes de biocontrole, sendo uma alternativa para a redução do uso de defensivos. O uso de *Trichoderma* foi viabilizado após décadas de pesquisas, para o desenvolvimento de formulações estáveis (JOSHI et al., 2010). Esses fungos possuem rápido crescimento sobre a matéria orgânica presente no solo, competindo com o fitopatógeno por espaço para se desenvolver, além de produzir compostos como quitinases, proteases, celulasas, entre outros (TAVARES, 2009).

O gênero *Trichoderma* foi descrito por Persoon há mais de 200 anos (1794) (RIFAI, 1969). Isolados desse fungo podem ser facilmente identificados em nível de gênero, por algumas de suas características culturais, como crescimento rápido, micélio aéreo esparso, pústulas conidiogênicas verdes ou brancas (RAMIREZ, 1995). A espécie *Trichoderma harzianum* é um biorregulador e antagonista natural dos fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. roseum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp., *Alternaria* spp., *Armillaria mellea* e *Rosellinia* spp., entre outros. Atua como agente no controle biológico, diminuindo ou eliminando a necessidade do uso de fungicidas químicos, sendo considerado o mais efetivo agente biocontrolador para patógenos de solo (HARMAN, 2000).

Experimentos têm revelado alto potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento de *S. sclerotiorum*, relatando o parasitismo de hifas do patógeno pelo antagonista. Este processo resulta na degradação parcial da parede celular do patógeno, em estágio mais avançado de parasitismo (ETHUR, 2006). Além do

parasitismo, o antagonista atua na competição e produção de substâncias fungitóxicas, tais como antibióticos, e enzimas, que podem atuar isolada ou conjuntamente, afetando a integridade das células do patógeno (DENNIS; WEBSTER, 1971).

Muitos estudos estão sendo realizados visando o uso de *Bacillus subtilis*, uma bactéria habitante do solo (LANNA FILHO et al., 2010). Essa bactéria é gram-positiva, aeróbia facultativa, não fotossintetizante e sua maior atividade acontece em temperaturas médias de 25 a 35 °C. Além disso, possui grande capacidade de produzir esporos em condições adversas (POTER, 1976).

A bactéria *B. subtilis* tem sido utilizado comercialmente no controle de doenças de plantas, por aumentar a produtividade e promover o crescimento das plantas (LEELASUPHAKUL; HEMMANEE; CHUENCHITT, 2008). O antagonismo direto exercido contra fitopatógenos envolve a antibiose, como a síntese de substâncias antimicrobiana, a competição por espaço e nutrientes e a síntese de compostos voláteis (ANDREWS, 1984).

Microrganismos que agem por antibiose, geralmente tem amplo espectro de ação, de forma que na inibição dos fungos, a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (LEELASUPHAKUL; HEMMANEE; CHUENCHITT, 2008).

Isolados de *B. subtilis* produzem uma grande variedade de metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina. Iturinas e fengicinas exibem uma forte atividade antifúngica e são inibitórias para o crescimento de uma ampla gama de fitopatógenos. Referente à surfactinas, as mesmas não são fungitóxicas, mas exercem algum efeito sinérgico antifúngico (BAIS; FALL; VIVANCO, 2004).

Existem poucos relatos na literatura sobre o efeito de *B. subtilis* contra *S. sclerotiorum*. Contudo, Godoy et al. (1990) observaram efeitos positivos do uso de bactérias antagonistas contra *S. sclerotiorum* na cultura do feijoeiro. Chen et al. (2008) observaram antagonismo de *B. subtilis* contra *Botrytis cinerea*, em condições de ensaio *in vitro*. Gupta et al. (2000) verificaram menor incidência de murcha de *Fusarium* em tomateiro com o uso de *B. subtilis*.

Contudo, a utilização de antagonistas exige vários cuidados para que se atinja o sucesso no controle, como aplicações em condições ambientais favoráveis, alta umidade relativa e clima ameno, além da utilização de cepas fúngicas com alta competitividade e da aplicação de esporos nas concentrações suficientes. No controle de *S. Sclerotiorum*, a

aplicação de antagonistas deve ser feita antes da germinação dos escleródios, ou seja, quando se encontra em repouso no solo, sendo recomendada a aplicação em 100% da área infestada com o patógeno (AGUIAR, 2011).

2.6. Compatibilidade de produto químico e biológico no controle da doença mofo-branco

O conhecimento sobre possíveis misturas em tanque com produtos fitossanitários, de diferentes classes e formulações, é necessário a fim de evitar possíveis danos à cultura e baixa eficiência no controle da praga alvo (PETTER et al., 2012).

Mattos et al. (2002) enfatizaram a necessidade de realizar estudos relacionados à administração de agrotóxicos em conjunto. As misturas podem apresentar vantagens em comparação à aplicação de um único composto, devido ao aumento da eficiência contra os organismos alvo e à otimização de quantidades aplicadas e dos recursos financeiros.

Um das maneiras de se reduzir o uso de agrotóxicos é a utilização de várias medidas de controle ao mesmo tempo, ou seja, um manejo integrado. Meyer et al. (2013) citam o uso de diversos meios para se controlar o mofo-branco na cultura da soja, como a escolha de cultivares com arquitetura de plantas que favoreça boa aeração entre plantas e com período de florescimento mais curto, emprego de controle biológico através da infestação do solo com agentes antagonistas e limpeza de máquinas e equipamentos após utilização em área infestada, para evitar a disseminação de escleródios, associados ao controle químico com pulverizações na época e volumes adequados.

A associação de produtos químicos e biológicos tem sido uma alternativa para os agricultores, principalmente porque fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos como fortes supressores de fitopatógenos de solo como *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia rolfsii*, entre outros (VYAS, 1994; MALATHI et al., 2002; BAGWAN et al., 2010; ARUNASRI et al., 2011; ISHIZUKA, 2016). A possibilidade desta associação foi observada por Meyer et al. (2017), onde em um dos seus ensaios de controle do mofo-branco em soja, o tratamento com *Trichoderma harzianum* + fluazinam não diferiu estatisticamente do tratamento com fluazinam isolado.

Formulações químicas podem afetar a germinação de conídios, o crescimento vegetativo e a esporulação de agentes microbianos de controle biológico, em diferentes níveis, da mesma forma que nos fungos fitopatogênicos. Ghini e Kimati (2000)

descreveram bloqueios metabólicos em fungos fitopatogênicos, devido ao acúmulo de íons na superfície da membrana celular, sendo este, portanto, um dos mecanismos de ação de tais produtos químicos.

Além disso, o uso inadequado e extensivo do controle químico na cultura da soja pode acarretar sérios problemas a médio e longo prazos, como o risco de selecionar populações do patógeno cada vez mais resistentes às moléculas dos produtos químicos, destacando a necessidade da adoção de métodos alternativos para o controle. Neste contexto, considera-se o uso de microrganismos e substâncias naturais, que apresentam potencial para atuar em conjunto, ou em substituição aos fungicidas químicos (BOLTON et. al., 2006).

O uso de controle biológico, através de fungos antagonistas, associado ao controle químico, vem sendo empregado, porém, ainda há poucas informações sobre os microrganismos, produtos e concentrações a serem utilizadas e por isso não se consegue a eficiência desejada.

A exploração dessa associação é de extrema importância, visto que os produtos químicos podem inibir o crescimento do antagonista, ou modificar sua forma de ação, dificultando o biocontrole dos fitopatógenos. Sarkar et al. (2010) observaram que alguns fungicidas inibiram o crescimento do antagonista *Trichoderma* spp. mesmo nas menores concentrações, porém, outros não afetaram o antagonista em determinadas concentrações, constatando, também, que os fungicidas de contato foram menos tóxicos aos antagonistas do que os sistêmicos.

O principal objetivo da associação do controle químico com biopesticidas é reduzir a quantidade utilizada de defensivo agrícola, sem afetar a eficácia no controle do fitopatógeno. O sucesso do controle integrado pode ser observado por Conway (1997), que conseguiu controlar *Rhizoctonia solani*, reduzindo pela metade a aplicação de defensivo agrícola, associando-o com o antagonista *Laetisaria arvalis*. A fim de aperfeiçoar a utilização do método de associação, a compatibilidade entre fungicidas e antagonistas deve ser estudada com maior complexidade.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Avaliar a compatibilidade de produtos químicos e biológicos no controle *in vitro*, *in vivo* e na germinação carpogênica de três isolados de *S. Sclerotiorum*, de soja, procedentes de Pilar do Sul – SP, Jaciara – MT e Muitos Capões – RS e aprimorar metodologias de avaliação.

3.2. Objetivos Específicos

- Verificar a patogenicidade de isolados de *S. sclerotiorum* em folhas de soja e sua agressividade;
- Verificar as alterações física e química das caldas dos produtos e suas misturas;
- *In vitro*: avaliar o efeito dos fungicidas e suas concentrações sobre o desenvolvimento do *Trichoderma* e *Bacillus*;
- *In vitro*: avaliar o efeito dos produtos e suas misturas na inibição do crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum* e na produção de escleródios;
- *In vivo*: avaliar o efeito dos produtos e suas misturas na severidade da doença, causada pelos isolados de *S. sclerotiorum*, em folhas destacadas de soja;
- Germinação carpogênica: avaliar a inibição das estruturas de resistência dos isolados de *S. sclerotiorum*, em solo tratado com os produtos e suas misturas;
- Sensibilidade dos isolados do fungo *S. sclerotiorum* a fungicidas e suas misturas com produtos biológicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Biológico-CAPSA/APTA, localizado no município de Campinas - São Paulo.

4.1. Isolados e produção de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum*

Foram obtidos no total quatro isolados de *S. sclerotiorum*. Um deles foi isolado de soja cultivada em Pilar do Sul – SP e pertence à Coleção Micológica do Laboratório de Fitopatologia do Instituto Biológico-CAPSA, sob os cuidados da pesquisadora Dra. Silvânia Helena Furlan. Outro isolado foi obtido de soja cultivada em Muitos Capões – RS e pertence à Coleção do Instituto Agris, sendo fornecido pelo Engenheiro Agrônomo Mateus Zanatta. Os demais são de soja cultivada em Jaciara – MT (CMES 1461) e Pinhão – PR (CMES 2131) e pertencem à Coleção de Microorganismos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) de Soja, sendo fornecido pelo pesquisador Dr. Maurício Conrado Meyer.

Para produção de inóculo, os escleródios dos isolados foram desinfestados superficialmente com solução de álcool a 70% (trinta segundos), em seguida imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1% (um minuto) e lavados por três vezes em água destilada autoclavada. Após, um escleródio de cada isolado foi depositado no centro de placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo cerca de 20 mL de meio BDA (batata-dextrose-ágar). As placas foram vedadas com plástico tipo parafilme e mantidas em estufa tipo BOD, nas condições de $21^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, por 7 dias e com fotoperíodo de 12 h. Após este período e com auxílio de um furador metálico de 0,5 cm de diâmetro, foram retirados discos de meio contendo micélio da margem das colônias e transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro), contendo meio BDA para obtenção de colônias puras (Figura 2). As colônias puras dos isolados com sete dias constituíram o inóculo padrão para a montagem dos ensaios.



Figura 2 – Colônia pura do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no meio de cultura batata dextrose ágar com sete dias de crescimento.

4.2. Teste de Patogenicidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de soja

Para o teste de patogenicidade com os isolados de *S. sclerotiorum*, folíolos (unifolioladas) de soja da cv. BMX Potência RR foram coletados de plantas cultivadas em vasos, em condições de estufa, no estágio vegetativo V1. Na inoculação, foram retirados da margem de cada placa de Petri, discos de 0,5 cm de diâmetro de meio BDA contendo micélio de cada isolado de *S. sclerotiorum*, (item 4.1), depositando-os cada um na parte abaxial de quatro folíolos (unifolioladas) mantidos em placas de Petri estéreis (12 cm de diâmetro), contendo dois discos de papel de filtro estéreis umedecidos com água destilada autoclavada. Foram estabelecidas três placas (repetição) por isolado.

O tratamento controle consistiu-se de folíolos de soja inoculados com disco de BDA sem estar colonizado com o fungo. Após a inoculação, as placas foram incubadas em estufa BOD regulada para temperatura de $21^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas.

Após sete dias, avaliou-se o percentual de lesão aquosa provocada pelo isolado nos folíolos, bem como a formação ou não de escleródios. A severidade da doença nos folíolos foi avaliada calculando-se a porcentagem de podridão aquosa, causada pelo isolado do fungo, com auxílio de uma escala diagramática (Figura 3) descrita por GARCIA; JULIATTI (2012), que foi modificada para descrever melhor a agressividade dos isolados do fungo, na metodologia de folha destacada. Os números de escleródios foram contados por isolado, por repetição.

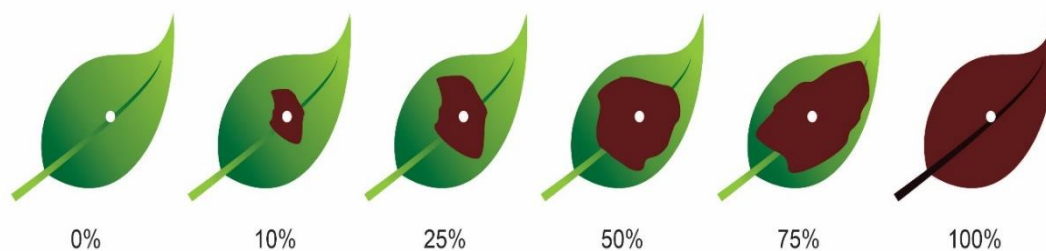


Figura 3 - Escala diagramática (GARCIA; JULIATTI, 2012) modificada para avaliar a agressividade dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folhas destacadas de plantas de soja.

O reisolamento indireto dos isolados a partir de tecidos dos folíolos de cada repetição foi efetuado em meio de cultura BDA, procurando-se cumprir os postulados de Kock. Foram utilizados fragmentos dos tecidos das bordas das lesões, abrangendo a zona de transição entre o tecido doente e o sadio. Foi realizada uma desinfestação superficial dos fragmentos com solução de álcool a 70% por trinta segundos, em seguida, imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1% durante um minuto e lavados por três vezes em água destilada autoclavada. Os fragmentos foram depositados em placas de Petri, contendo 20 mL de meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e que foram incubados em câmara tipo BOD a $21^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias. Após esse período, procedeu-se a repicagem das colônias típicas do fungo para obtenção de cultura pura. Foram estabelecidas quatro placas contendo quatro fragmentos por repetição. Colônias típicas do fungo desenvolvidas a partir de cada fragmento foram consideradas positivas e contadas em cada placa.

O percentual da severidade da doença, causada por cada isolado do fungo na folha de soja (X), foi transformado em arcoseno $\sqrt{x}/100$ e depois analisado estatisticamente aplicando-se o teste de Tukey com 5% de significância. O número de escleródios produzido por isolado de *S. sclerotiorum* (X) foi transformado em $\sqrt{x} + 0,5$ e depois analisado estatisticamente aplicando-se o teste de Tukey com 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi Sisvar® da UFLA-MG.

O experimento foi repetido integralmente, totalizando seis repetições por isolado do fungo.

4.3. Produtos utilizados e compatibilidade física e química das caldas

Os produtos utilizados nos ensaios *in vitro*, *in vivo* e na germinação carpogênica

com *Sclerotinia sclerotiorum*, bem como as concentrações e doses utilizadas constam na Tabela 1.

Tabela 1. Fungicidas e produtos biológicos nas diferentes concentrações, a partir da dose comercial utilizada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Concentração (ppm)	Concentração (ppm)
Approve® WG	Tiofanato-Metílico; Fluazinam	0,1; 1; 10; 100; 1000	-
Frowncide 500 SC	Fluazinam	0,1; 1; 10; 100; 1000	-
Spot® SC	Dimoxistrobina; Boscalida	0,1; 1; 10; 100; 1000	-
Sumilex 500 WP	Procimidona	0,1; 1; 10; 100; 1000	-
Cercobin 700 WP	Tiofanato-Metílico	0,1; 1; 10; 100; 1000	-
Trichordemil® SC	<i>Trichoderma harzianum</i>	-	1000
Tricho-turbo EC	<i>Trichoderma asperellum</i>	-	1000
Serenade® SC	<i>Bacillus subtilis</i>	-	1000
Bio-Imune SC	<i>Bacillus subtilis</i>	-	1000

Para os produtos e suas misturas utilizados nas diferentes metodologias de avaliação foi medido o potencial hidrogeniônico (pH), com auxílio de pHmetro de bancada, devidamente calibrado e aferido para a faixa de caldas ácidas e básicas, nas diversas concentrações (Figura 4).

Foram realizadas duas avaliações do pH das caldas. A primeira foi em meio de cultura BDA, com os produtos nas diferentes concentrações ainda em fase líquida, enquanto que a segunda foi em água, com os produtos nas diferentes concentrações sob agitação e após duas horas de repouso foram observados os possíveis efeitos das interações entre os produtos quanto à homogeneidade/heterogeneidade: floculação, sedimentação, separação de fases, suspensão de óleo e as formações grumos, cristais e creme ou espuma.

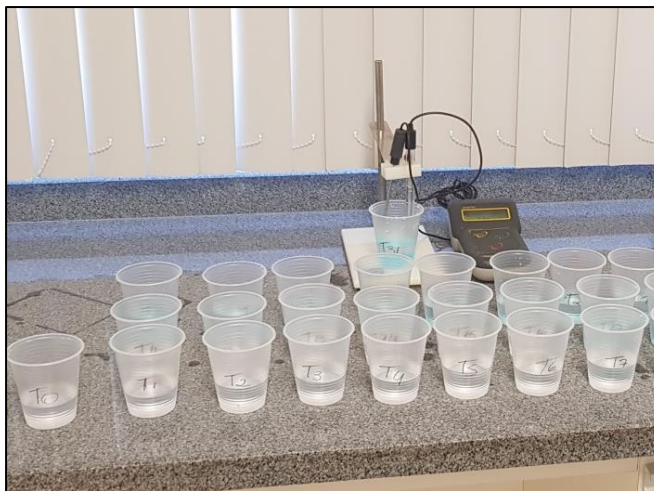


Figura 4 – Medição do pH da calda dos produtos e suas misturas nas diferentes concentrações.

4.4. *In vitro* – Avaliar o efeito dos fungicidas e suas concentrações sobre o desenvolvimento do *Trichoderma* e *Bacillus*

O efeito *in vitro* dos fungicidas sobre os produtos de controle biológico contendo *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e *Bacillus subtilis* foi avaliado pelo método de cultura pareada (DENNIS & WEBSTER, 1971).

Em placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA, foram adicionados 100 μ L dos produtos de controle biológicos e espalhados com o auxílio da alça de Drigalsky. Com o auxílio de pinça, discos de papel de filtro estéreis de 1 cm de diâmetro foram mergulhados na calda de cada fungicida e colocados em contato com a superfície do meio de cultura já inoculado com o respectivo agente de biocontrole.

Os tratamentos foram compostos de quatro produtos de controle biológico, cinco fungicidas, e as doses recomendadas pelos fabricantes dos respectivos produtos comerciais (Tabela 1). Foram estabelecidas cinco placas de Petri para cada tratamento, sendo que três placas receberam discos de papel de filtro embebido com os fungicidas, uma placa permaneceu como testemunha contendo apenas o produto biológico e uma placa somente com meio de cultura BDA.

As placas foram colocadas em câmara de crescimento BOD na temperatura de 26° \pm 2 °C, com 12 horas de luz e 12 horas com ausência de luz. Para os produtos à base de *Bacillus*, as avaliações de compatibilidade foram realizadas após 48 horas de incubação e para os produtos à base de *Trichoderma*, sete dias após a incubação. Como parâmetro

de avaliação foi considerado presença ou não do halo de inibição no crescimento das colônias ao redor dos discos de papel de filtro impregnados com fungicidas. Cada disco foi avaliado individualmente, sendo o disco com formação de halo considerado incompatível por (--); halo com unidade formadora de colônia, parcialmente compatível e ou parcialmente incompatível e representado por (+-) e a não formação de halo, compatível e representado por (++) (SILVA et al., 2008).

4.5. *In vitro* – Efeito dos produtos e suas misturas na inibição do crescimento micelial dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e na produção de escleródios

A incorporação da calda dos produtos e suas misturas nas diferentes concentrações no meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) foi realizada em fase líquida e com temperatura próxima a 45°C, após autoclavagem (Tabela 1). Foram vertidos 20 mL do meio homogeneizado (BDA + produtos e misturas) em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e após sua solidificação, foi efetuada a repicagem de um disco de 0,5 cm de diâmetro de meio, contendo micélio de cada isolado de *S. sclerotiorum* (item 4.4), no centro da superfície do meio de cultura, com os respectivos tratamentos.

O tratamento controle consistiu-se da repicagem de um disco de meio BDA colonizado com os isolados do fungo (item 4.1), no centro da superfície do meio de cultura BDA, sem incorporação da calda dos produtos e suas misturas. As placas de Petri foram vedadas com filme de parafina plástica (Parafilm M) e incubadas em estufa BOD à temperatura de $21^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 29, sendo cinco concentrações e 29 produtos e suas misturas (Tabela 1) e com três repetições por tratamento.

As avaliações foram realizadas a cada 48 horas, perdurando até o momento em que a colônia do fungo do tratamento testemunha atingisse 100% da superfície do meio de cultura (Figura 5). Com auxílio de uma régua milimétrica foram medidos os diâmetros ortogonais da colônia e em seguida calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento da colônia (PIC) através da fórmula: $\text{PIC} = [(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) / \text{diâmetro da testemunha}] \times 100$, para cada tratamento em relação a testemunha/controlado (CELOTO et al., 2008).

Após dez dias de crescimento, quantificou-se o número de escleródios nas

repetições de cada tratamento. Além disso, as placas que tiveram 100% de controle ficaram armazenadas em BOD por mais 30 dias para o monitoramento de eventual crescimento micelial e formação de escleródios.

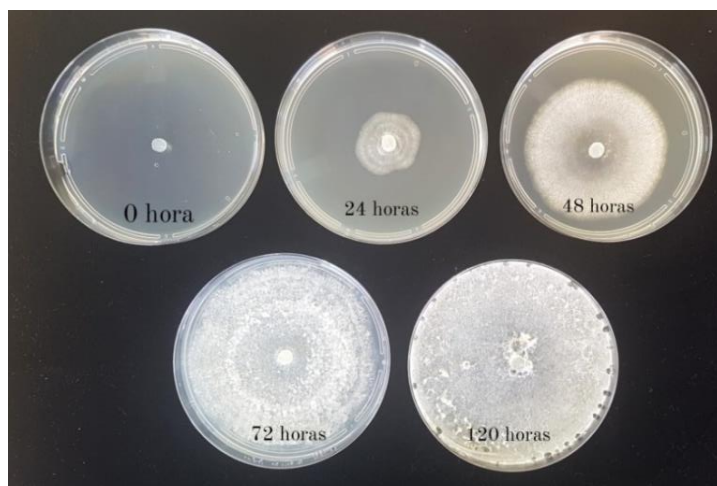


Figura 5 – Evolução do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em placa de Petri, contendo o meio de cultura Batata Dextrose Ágar.

Os dados de PIC (X) foram transformados em $\arcseno \sqrt{x}/100$ e depois analisados estatisticamente aplicando o teste de Scott-Knott a 5% de significância. Os dados do número de escleródios (X) foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$ e depois analisados estatisticamente aplicando-se teste de Scott-Knott a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi Sisvar® da UFLA-MG.

A estimativa das concentrações letais CL_{50} e CL_{95} de cada tratamento foi calculada por meio da análise de regressão correlacionando a inibição micelial com o logaritmo da concentração dos produtos - PROBIT (Tabela 2). As médias da percentagem de inibição foram transformadas em Probit (FINNEY, 1971) conforme consta na Tabela 2. Utilizando-se o programa Excel do Windows® versão 2007, determinou-se, para cada produto químico, a respectiva regressão, isto é, a relação existente entre logaritmo das concentrações na base 10 e as percentagens de inibição obtidas. Para cada regressão foi determinado o coeficiente de determinação (r^2), a equação de regressão e o valor da Cl_{50} e Cl_{95} (concentração efetiva mediana), ou seja, a concentração do produto químico necessária para inibir em 50% e 95% o crescimento micelial do fungo. Para saber a concentração que mata 50% e 95% dos indivíduos (Cl_{50} e Cl_{95}), substitui-se o “y” da equação da reta pelo valor 5 e 6.28 e obtêm-se o valor “x”, que será o log da Cl_{50} , obtendo assim o valor da Cl_{50} e Cl_{95} . O coeficiente de determinação é uma medida de ajustamento

de um modelo estatístico linear generalizado, como a regressão linear, em relação aos valores observados. O R^2 pode variar de 0 a 1, indicando, em percentagem, o quanto o modelo consegue explicar os valores observados. Quanto mais próximo de 1 mais confiável fica a equação.

Foram testados modelos lineares e obtidos ajustes em função do logaritmo da concentração. Segundo dados da literatura, a sensibilidade de patógenos frente a fungicidas é classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm). Apesar de antiga, esta escala é usada na atualidade e de forma geral para fungicidas, com diferentes modos de ação (REIS et al., 2016). Esse critério de sensibilidade do isolado do fungo aos fungicidas também foi empregado para os produtos biológicos e misturas de fungicidas mais produtos biológicos.

Tabela 2 - Transformação da porcentagem de inibição do patógeno para o Probit.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

O experimento foi repetido integralmente, totalizando seis repetições por isolado do fungo.

4.6. *In vivo* - Efeito dos produtos e suas misturas na severidade da doença, causada pelos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folhas destacadas de soja

O método de avaliação da folha destacada é uma técnica simples e rápida para testar a reação de plantas a patógenos em condições de laboratório (MORAES; SALGADO, 1982), uma alternativa para testes preliminares de eficácia de produto. A

vantagem deste método é a economia de espaço, menor risco de contaminação e possibilidade de manipulação do ambiente (TWIZEYIMANA et al., 2007) visto que as placas de Petri são armazenadas em câmara tipo BOD com temperatura e fotoperíodo controlado. Esse método já foi utilizado em experimentos para estudos de resistência em culturas ao fungo *S. sclerotiorum*, exemplos encontrados são na cultura da soja (KIM et al., 2000; MUELLER et al., 2002) e feijão (KULL et al., 2003).

No teste *in vivo*, os folíolos (unifolioladas) de soja da cv. BMX Potência RR (Figura 6) foram coletados de plantas cultivadas em vasos, em condições de estufa, no estágio vegetativo V1.



Figura 6 - Plantas de soja cv. BMX Potência RR cultivadas em vasos.

Em seguida, os folíolos de soja foram imersos durante 3 segundos em soluções de fungicidas, biológicos e suas misturas no laboratório, nas concentrações indicadas na Tabela 1 e descritas (item 4.4), e distribuídas com a face abaxial voltada para cima, em placas de Petri de plástico estéreis de 15 cm de diâmetro, contendo dois papéis filtro estéreis saturados com água esterilizada autoclavada. Após 24 horas, um disco de BDA de 0,5 cm de diâmetro com a colônia de cada isolado de *S. sclerotiorum* (item 4.1) foi depositado no centro dos folíolos (Figura 7). Foram utilizados quatro folíolos por repetição, dispostos em cada placa, totalizando três placas (repetição) por tratamento. O tratamento controle consistiu-se de folíolos de soja contendo no centro a deposição de um disco de BDA sem estar colonizado com os isolados do fungo. As placas foram incubadas em estufa tipo BOD à temperatura de $21^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas.

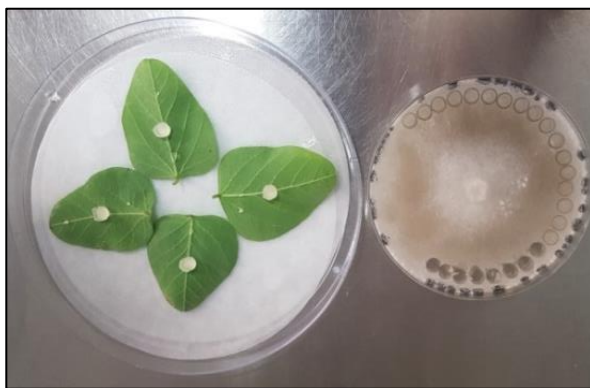


Figura 7 - Inoculação com discos de batata dextrose ágar contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folíolos destacados de plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 29, contendo cinco concentrações e 29 produtos e suas misturas (Tabela 1) e com três repetições por tratamento.

Os sintomas da severidade da doença nos folíolos foram avaliados, após sete dias de incubação, calculando-se a porcentagem de podridão aquosa causada pelo isolado do fungo, com auxílio da escala diagramática (Figura 3), descrita no item 4.2. Após sete dias de crescimento, quantificou-se o número de escleródios nas repetições de cada tratamento.

Os dados do percentual de severidade da doença de todos os tratamentos (X) foram transformados em $\arcseno \sqrt{x}/100$ e analisados aplicando-se o teste de Scott-Knott a 5% de significância. Os dados do número de escleródios (X) foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$ e analisados aplicando-se o teste de Scott-Knott a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi Sisvar® da UFLA-MG.

A estimativa das concentrações letais CL_{50} e CL_{95} , a equação e o R^2 de cada tratamento foram calculados da mesma forma descrita no item 4.4.

O experimento foi repetido integralmente, totalizando seis repetições por isolado do fungo.

4.7. Germinação Carpogênica – avaliação da inibição da germinação dos escleródios dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*

Para a produção dos escleródios, 500 gramas de cenoura cortadas em rodela foram colocadas em Erlenmeyer de vidro com capacidade de 1 litro e autoclavados por 20 min a 120 °C/1 atm. Após o resfriamento, em câmara de fluxo laminar, dez discos de meio BDA de 0,9 cm de diâmetro, colonizados com micélio de cada isolado de

S. sclerotiorum (item 4.1), foram colocados nas cenouras e incubadas em BOD a $21 \pm 2^\circ\text{C}$, sob escuro contínuo por três semanas.

Os escleródios produzidos foram transferidos para uma peneira de 1 mm de abertura de sua malha e separados do substrato cenoura, por meio de lavagem em água corrente e secos à temperatura ambiente e armazenados em tubo estéril tipo falcon de 50 mL.

O teste de germinação carpogênica foi realizado em caixas tipo gerbox (11 x11 x 3,0 cm), contendo aproximadamente 200 g de solo de barranco, autoclavado duas vezes por 1 hora a $120^\circ\text{C}/1\text{ atm}$, com intervalo de 24 horas. Para cada tratamento foram estabelecidas três repetições (Tabela 1) e foram regados no solo, após a infestação com escleródios, 50 mL de produto e suas misturas (item 4.4) e para testemunha 50 mL de água destilada autoclavada. O solo de cada caixa gerbox foi infestado com 20 escleródios, totalizando 120 escleródios por tratamento, distribuídos de maneira equidistantes um do outro (Figura 8). Em seguida, as caixas foram incubadas em estufa tipo BOD à temperatura de $21^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h.

A avaliação constituiu-se em monitorar as caixas gerbox, a cada cinco dias, verificando-se a germinação dos escleródios e considerados vivos aqueles que apresentaram a formação de estipes e apotécio, igual ao tratamento testemunha.

O monitoramento das caixas foi encerrado quando estabilizou-se a germinação dos escleródios na testemunha. A porcentagem de inibição dos escleródios (PIE) foi calculada pela fórmula: $\text{PIE} = [(\text{quantidade de escleródios germinados da testemunha} - \text{quantidade de escleródios germinados no tratamento}) / \text{quantidade de escleródios germinados da testemunha}] \times 100$, para cada tratamento em relação à testemunha (CELOTO et al., 2008).



Figura 8. Germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, em caixa gerbox contendo solo de barranco autoclavado e tratado ou não com fungicidas, biológicos e associações.

Os dados de PIE (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$ e analisados estatisticamente aplicando-se o teste de Scott-Knott a 5% de significância. O programa estatístico a ser utilizado foi o Sisvar® da UFLA-MG.

A estimativa das concentrações letais CL_{50} e CL_{95} , a equação e o R^2 de cada tratamento foram calculados da mesma forma descrita no item 4.4.

O experimento foi repetido integralmente, totalizando seis repetições por isolado do fungo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Teste de Patogenicidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de soja

Todos os isolados de *S. sclerotiorum* causaram lesões nos folíolos de soja do cultivar BMX Potência RR e produziram micélio e escleródios sobre as lesões (Figuras 9A e 9B). A lesão consistiu-se em uma podridão aquosa.

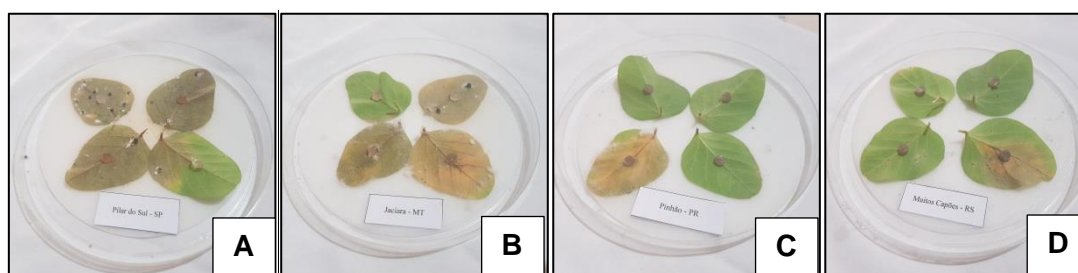


Figura 9. Patogenicidade dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, em folhas destacadas de soja, cv. BMX potência. A) Pilar do Sul – SP; B) Jacira – MT; C) Pinhão – PR e D) Muitos Capões – RS.

Diferenças significativas foram observadas entre as médias da porcentagem da severidade da doença nos isolados inoculados nos folíolos de soja. Os isolados que apresentaram menor severidade da doença e que não diferiram entre si foram Muitos Capões – RS (severidade média de 29,3%) e Pinhão – PR (24,8%). Os isolados mais agressivos e que não diferiram entre si foram Jacira – MT (74,3%) e Pilar do Sul – SP (74,3%), mas ambos diferiram dos isolados menos agressivos (Tabela 3).

De acordo com Wegulo et al., (1998), a uniformidade do tamanho da folha, local e umidade adequada durante a inoculação do fungo são fatores importantes para o sucesso do método de patogenicidade em folhas destacadas. Essas condições foram contempladas no presente estudo, pois as folhas do cv. BMX Potência estavam uniformes e as folhas sob o papel de filtro umedecido, com água destilada autoclavada, permaneceram sob câmara úmida, além disso as placas com as folhas inoculadas foram incubadas em temperatura e luminosidade adequadas para o desenvolvimento do fungo *S. sclerotiorum*.

Na avaliação do número de escleródios formados por isolado sob as folhas de soja, observou-se que o isolado de Muitos Capões - RS e Pinhão - PR produziram menos escleródios (média de 1,8 e 1,00 por placa, respectivamente) e esse número foi significativamente diferente entre esses isolados. Pilar do Sul – SP produziu

significativamente a maior quantidade de escleródios (média 5,8 por placa) seguido por Jaciara – MT (média de 2,7 por placa).

Tabela 3. Severidade do mofo-branco em folhas de soja, cv. BMX Potência RR, causada por diferentes isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e número de escleródios formados sobre a lesão.

Isolados	Severidade da doença (%)	Números de escleródios
Muitos Capões - RS	29,3 b*	1,8 c**
Pinhão- PR	24,8 b	1,0 d
Jaciara – MT	74,3 a	2,7 b
Pilar do Sul - SP	74,3 a	5,8 a

Escala de notas modificada (GARCIA; JULIATTI, 2012): 0% (folhas saudias); 10% (folhas com podridão aquosa); 25%; 50%; 75% e 100% (folhas com podridão aquosa, abundante produção de micélio e formação de escleródios).

O percentual da severidade da doença (X) foi transformado em $\arcseno \sqrt{x}/100$, enquanto que o número de escleródios produzido por isolado de *S. sclerotiorum* (X) foi transformado em $\sqrt{x} + 0,5$.

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Kruskal-Wallis, complementado com o teste de múltiplas comparações de Dunn a 5% de significância.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

Os isolados inoculados apresentaram 100% de incidência no re-isolamento em meio de cultura, confirmando a patogenicidade e serem os agentes causais da doença.

Os diferentes níveis de agressividade dos isolados observados no teste de folha destacada podem estar relacionados com a capacidade de cada isolado de produzir ácido oxálico ou com a quantidade de enzimas que degradam a parede celular do hospedeiro (LUMSDEN, 1979; BOLTON, 2006).

A partir do teste de patogenicidade, três isolados foram selecionados para os estudos seguintes, o de Pilar do Sul – SP, Jaciara – MT e Muitos Capões – RS.

5.2. Compatibilidade física e química da calda dos fungicidas e suas associações com produtos biológicos

Na determinação do potencial hidrogeniônico, não ocorreram alterações nos valores de pH das caldas dos tratamentos preparados com fungicidas e suas combinações

com produtos de controle biológico, e somente no meio de cultura BDA. No controle (somente BDA), o valor de pH foi 5,3. Nos tratamentos, o valor mínimo de pH foi de 4,8 para os tratamentos com tiofanato-metílico e fluazinam + *Bacillus subtilis* (Bio-Imune) (0,1 ppm) e o valor máximo observado foi de 5,7 para os tratamentos com tiofanato-tetílico e fluazinam + *Trichoderma asperellum* (1000 ppm) (Tabela 4).

Tabela 4. Potencial hidrogeniônico das caldas com fungicidas e suas misturas com produtos de controle biológico em meio de cultura (BDA) nas suas diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm)					
	0	0,1	1	10	100	1000
Controle (BDA)	5,4	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam		5,1	5,4	5,3	5,4	5,4
Fluazinam		5,2	5,2	5,3	5,2	5,3
Dimoxistrobina; Boscalida		5,2	5,2	5,2	5,3	5,2
Procimidona		5,1	5,2	5,1	5,1	5,2
Tiofanato-Metílico		5,0	5,0	5,1	5,1	5,2
<i>Trichoderma harzianum</i>		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
<i>Trichoderma asperellum</i>		5,1	5,2	5,2	5,2	5,2
<i>Bacillus subtilis</i> ¹		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
<i>Bacillus subtilis</i> ²		5,1	5,1	5,1	5,1	5,1
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,2	5,2	5,1	5,2
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,3	5,2	5,3	5,2
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,2	5,2	5,2	5,2
Procimidona + <i>T. harzianum</i>		5,2	5,2	5,2	5,2	5,3
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>		5,5	5,5	5,6	5,6	5,6
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>		5,2	5,3	5,2	5,6	5,7
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>		5,5	5,5	5,1	5,5	5,5
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>		5,6	5,5	5,6	5,5	5,6
Procimidona + <i>T. asperellum</i>		5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>		5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,2	5,3	5,2	5,3
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹		5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹		5,0	5,0	5,4	5,0	5,0
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,0	5,0	5,0	5,0
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,0	5,0	5,0	5,0
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²		4,8	4,9	4,9	4,9	5,0
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²		4,9	4,9	5,0	5,0	5,0
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²		5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²		4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²		5,0	4,9	5,0	5,0	5,0

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Quanto à determinação do potencial hidrogeniônico em água destilada e autoclavada, não ocorreram alterações nos valores de pH das caldas dos tratamentos

preparados com fungicidas e suas combinações com produtos de controle biológico. A medição da calda foi realizada imediatamente e após duas horas de repouso. Os valores de pH não sofreram alterações. No controle (somente água), o valor de pH foi 6,7. Nos tratamentos, o valor mínimo de pH foi de 4,9 para o tratamento dimoxistrobina; boscalida + *Bacillus subtilis* (Serenade) (0,1 ppm) e o valor máximo foi de 5,9 para o tratamento tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (Bio-Imune) (1000 ppm) (Tabela 5).

Tabela 5. Potencial hidrogeniônico das caldas com fungicidas e suas misturas com produtos de controle biológico, em água destilada e autoclavada, nas suas diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm)					
	0	0,1	1	10	100	1000
Controle (BDA)	6,7	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam		5,6	5,6	5,4	5,5	5,6
Fluazinam		5,6	5,2	5,3	5,2	5,3
Dimoxistrobina; Boscalida		5,3	5,2	5,2	5,3	5,2
Procimidona		5,6	5,2	5,1	5,1	5,2
Tiofanato-Metílico		5,4	5,0	5,1	5,0	5,2
<i>Trichoderma harzianum</i>		5,6	5,3	5,3	5,2	5,3
<i>Trichoderma asperellum</i>		5,6	5,2	5,2	5,2	5,2
<i>Bacillus subtilis</i> ¹		5,5	5,3	5,3	5,3	5,3
<i>Bacillus subtilis</i> ²		5,4	5,1	5,4	5,2	5,1
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,2	5,2	5,1	5,2
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,3	5,2	5,3	5,2
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>		5,3	5,2	5,2	5,2	5,2
Procimidona + <i>T. harzianum</i>		5,2	5,2	5,2	5,3	5,3
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>		5,5	5,5	5,6	5,4	5,6
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>		5,2	5,3	5,2	5,6	5,5
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>		5,5	5,5	5,3	5,5	5,5
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>		5,6	5,5	5,5	5,5	5,6
Procimidona + <i>T. asperellum</i>		5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>		5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,2	5,3	5,2	5,3
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,0	5,2	5,0	5,1
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹		4,9	5,0	5,2	5,0	5,2
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,0	5,0	5,0	5,2
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹		5,3	5,2	5,0	5,0	5,4
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²		5,6	5,6	5,6	5,8	5,9
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²		5,3	5,3	5,0	5,0	5,2
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²		5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²		5,5	5,4	5,4	5,4	5,6
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²		5,3	5,2	5,1	5,3	5,3

¹ Serenade; ² Bio-Imune

O pH das caldas dos fungicidas, dos produtos de controle biológico e das misturas

de fungicidas com produtos de controle biológicos não influenciará no controle da doença e nem causará fitotoxidez nas plantas. Essa afirmação é verdadeira porque o pH ideal para preparação de caldas de produtos fitossanitários, de forma geral, deve ser levemente ácido a neutro, na faixa de 4,5 a 7,0. Recomenda-se verificar, antes da formulação das caldas, o pH ideal para cada produto fitossanitário e o pH da água que se pretende utilizar. Se for necessário, realizar-se-á correção do pH (MACIEL et al., 2020).

Para o aumento da eficiência da mistura, a utilização de redutores de pH tem sido uma prática comum nas pulverizações agrícolas, sendo mais comumente utilizados produtos de natureza ácida, tais como ácido fosfórico e ácido bórico (PETTER et al., 2013). A taxa de hidrólise é retardada em pH mais baixo, contribuindo para manter a folha úmida por maior tempo, pois a superfície das folhas apresenta pH neutro, interagindo com o pH da calda (QUEIROZ et al., 2008).

Os níveis de pH de suspensões de produtos, à base de *Trichoderma*, podem influenciar no parasitismo do antagonista. No geral, o fungo é favorecido por valores mais baixos, ou seja, pH ácido (CHET & BAKER, 1981; PAPAVIDAS, 1985). Desta forma, é esperado que os valores de pH mensurados nas caldas dos fungicidas associados com produtos à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* não causem interferência no mecanismo de controle destes antagonistas, visando controlar o agente causal do mofo-branco em soja.

As caldas dos fungicidas, dos produtos de controle biológico e das misturas (fungicida + produto de controle biológico) em meio BDA apresentaram compatibilidade físico-química, ou seja, não foram detectados problemas como floculação, sedimentação, separação de fases, grumos, separação de óleo, formação de cristais, creme e espuma. Já as caldas dos fungicidas, dos produtos de controle biológico e das misturas, em água destilada e autoclavada em agitação intermitente, apresentaram compatibilidade físico-química. Quando em repouso de duas horas, somente as caldas dos fungicidas em mistura com *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum* apresentaram problemas como floculação, sedimentação, separação de fases, separação de óleo e espuma (Figura 10).

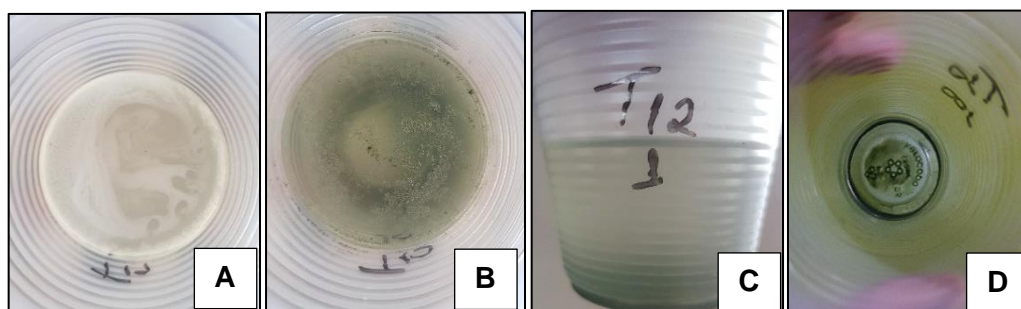


Figura 10. Incompatibilidade físico-química, nas caldas em repouso por duas horas. A) Espuma; B) Floculação e separação de óleo; C) Separação de fases e D) Sedimentação.

As características físicas das caldas influenciam na pulverização, tais como vazão, formação, distribuição de gotas e padrão de distribuição volumétrico. Se os parâmetros apontados estiverem adequados, isto resultará em tratamentos com maior eficiência e menores riscos de deriva e contaminações ambientais (MILLER; BUTLER ELLIS, 2000; PETTER et al., 2013).

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, não há incompatibilidade físico-químico das caldas dos fungicidas, dos produtos de controle biológico e das misturas de fungicida + produto de controle biológico, quando a calda fica em constante agitação. Sendo assim, haverá efeito positivo no controle do mofo-branco, desde que respeitadas as condições técnicas de pulverização dos produtos.

5.3. *In vitro* – Efeito dos fungicidas sobre o desenvolvimento do *Trichoderma* e *Bacillus*

De acordo com a técnica de disco de papel filtro descrito no item 4.4, a maioria dos fungicidas foi compatível com os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* do que com *Bacillus*. As misturas de fungicidas compatíveis com os produtos à base de *Trichoderma* foram tiofanato-metílico; fluazinam + *T. harzianum*; procimidona + *T. harzianum*; tiofanato-metílico + *T. harzianum*; tiofanato-metílico; fluazinam + *T. asperellum* e tiofanato-tetílico + *T. asperellum* (Tabela 6 e Figuras 11). A concentração dos produtos utilizada foi a recomendada pelo fabricante (Tabela 1). As misturas de fungicidas classificadas como parcialmente compatíveis com os produtos à base de *Trichoderma* foram fluazinam + *T. harzianum* (80%); fluazinam + *T. asperellum* (26,6%) e procimidona + *T. asperellum* (60%) (Tabela 6 e Figuras 11).

Os únicos fungicidas que apresentaram 100% de halo de inibição nos *Trichodermas* foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum*, classificados como incompatíveis ao antagonista (Tabela 6 e Figuras 11).

A maioria dos fungicidas foi incompatível com os produtos à base de *Bacillus*. Para o produto Serenade, incompatibilidade foi detectada para os fungicidas fluazinam e tiofanato-Metílico. Já para o produto Bio-Imune, a incompatibilidade foi observada para tiofanato-metílico; fluazinam, fluazinam e tiofanato-metílico (Tabela 6 e Figuras

Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

++ = compatível
 +- = parcialmente compatível (presença de halo de inibição com algumas colônias)
 -- = incompatível
¹ Serenade; ² Bio-Imune

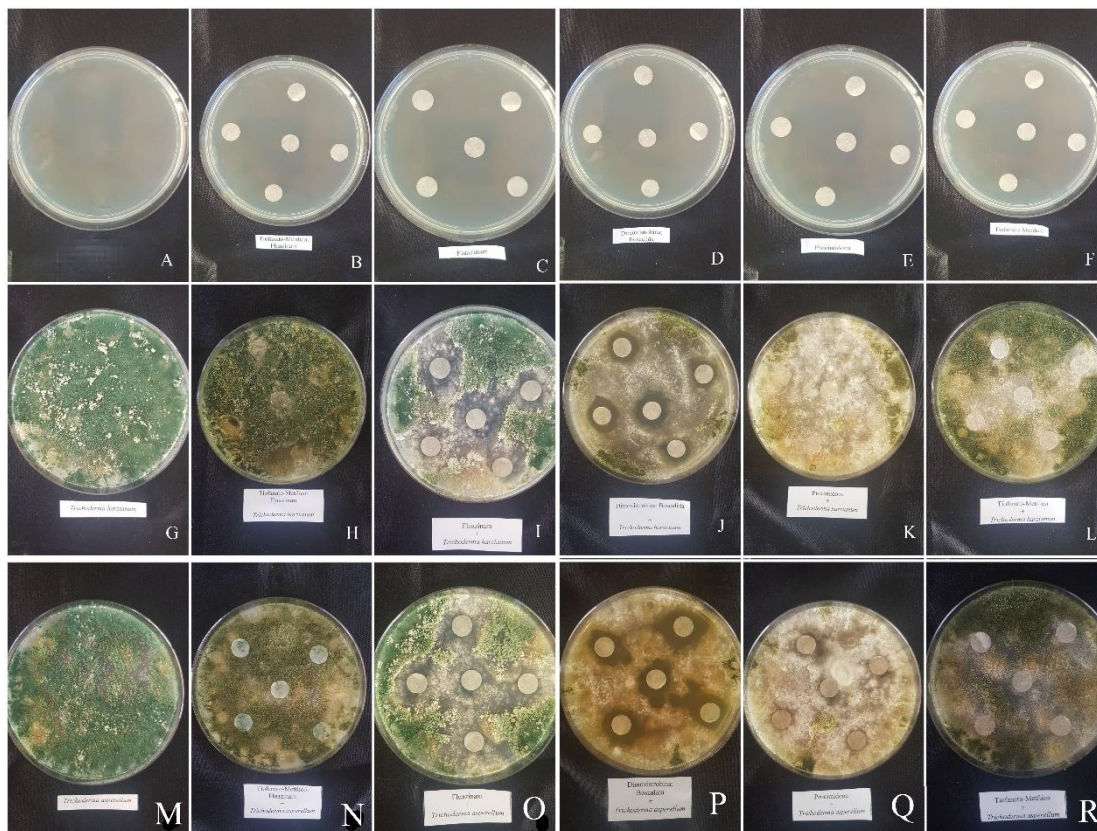


Figura 11. Efeitos dos fungicidas sobre *Trichoderma*, nas doses recomendadas pelo fabricante. A) BDA, B) Tiofanato-Metfílico; Fluazinam, C) Tiofanato-Metfílico; Fluazinam, D) Dimoxistrobina; Boscalida, E) Procimidona, F) Tiofanato-Metfílico, G) *T. harzianum*, H) Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + *T. harzianum*, I) Fluazinam + *T. harzianum*, J) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. harzianum*, K) Procimidona + *T. harzianum*, L) Tiofanato-Metfílico + *T. harzianum*, M) *T. asperellum*, N) Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + *T. asperellum*, O) Fluazinam + *T. asperellum*, P) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. asperellum*, Q) Procimidona + *T. asperellum*, e R) Tiofanato-Metfílico + *T. asperellum*.

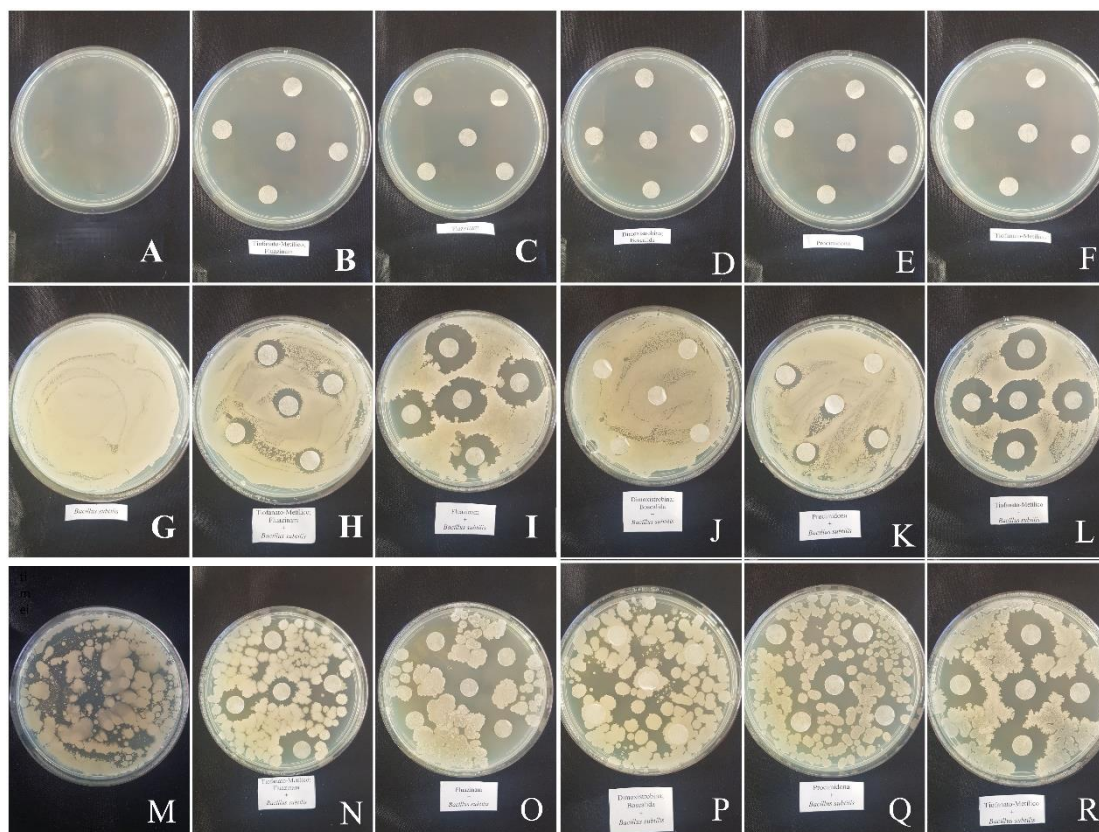


Figura 12. Efeito de fungicidas sobre *Bacillus* nas doses recomendadas pelo fabricante. A) BDA, B) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, C) Tiofanato-Metílico; Fluazinam, D) Dimoxistrobina; Boscalida, E) Procimidona, F) Tiofanato-Metílico, G) *B. subtilis*¹, H) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *B. subtilis*¹, I) Fluazinam + *B. subtilis*¹, J) Dimoxistrobina; Boscalida *B. subtilis*¹, K) Procimidona + *B. subtilis*¹, L) Tiofanato-Metílico *B. subtilis*¹, M) + *B. subtilis*², N) Tiofanato-Metílico; Fluazinam ++ *B. subtilis*², O) Fluazinam ++ *B. subtilis*², P) Dimoxistrobina; Boscalida ++ *B. subtilis*², Q) Procimidona ++ *B. subtilis*², e R) Tiofanato-Metílico ++ *B. subtilis*².

¹ Serenade; ² Bio-Imune.

A maioria dos trabalhos referentes à compatibilidade entre produtos fitossanitários e de controle biológico é desenvolvida sob condição *in vitro*, cuja vantagem é o fato de propiciar a máxima exposição dos antagonistas aos produtos avaliados. Assim, a aplicação do fungicida ou da mistura em campo é praticamente garantida com relação ao efeito sobre o antagonista. Contudo, o nível de toxicidade observada em condições de laboratório pode não ser a mesma em condições de campo (Alves et al. 1998).

O desenvolvimento e a utilização da técnica de avaliação por meio de discos de papel impregnados com substâncias se deram na década de 1940, com a finalidade de se obter maior praticidade na avaliação dos efeitos de antibióticos sobre os microrganismos. De acordo com Koneman et al. (2001), quando o disco impregnado entra em contato com a superfície úmida do meio de cultura, a água é absorvida para o papel numa velocidade maior do que a difusão da substância no meio circundante.

Assim, a velocidade de extração da substância para fora do papel é maior do que a difusão desta para o meio de cultura, de tal forma que a concentração do produto, imediatamente adjacente ao disco, pode exceder à do próprio disco.

No presente estudo e empregando a técnica de impregnação de produtos nos discos de papel, a maioria dos fungicidas testados foi considerado compatível com os produtos à base de *Trichoderma* (Tabela 6 e Figuras 11). Já para os produtos à base de *Bacillus*, a maioria dos fungicidas testados foram incompatíveis e ou parcialmente compatíveis, sendo que o único que apresentou compatibilidade foi o fungicida dimoxistrobina; boscalida (Tabela 6 e Figuras 12).

Segundo Ávila et al. (2005), os ingredientes ativos dos fungicidas podem apresentar interferências diferentes no desenvolvimento e nos mecanismos de ação dos agentes de biocontrole. Por este motivo, a compatibilidade dos fungicidas com os fungos antagonistas deve ser avaliada, garantindo, assim, o sucesso do uso destes dois métodos de controle em conjunto.

DOUGHERTY (1971) em testes de compatibilidade de inseticidas e herbicidas sob o antagonista *Bacillus thuringiensis* (Bt) não verificou diferença na classificação de compatibilidade com relação às concentrações dos fungicidas, discordando de JIMENEZ et al. (1989), que observaram variação do halo conforme a categoria do produto testado e a concentração utilizada, mas com a metade da concentração recomendada os fungicidas foram compatíveis com Bt.

Segundo Araújo et. al. (2021), produtos à base de *Trichoderma asperellum*, *T. harzianun* e *B. subtilis* mostraram-se compatíveis com o nematicida químico fluopiram, utilizando técnica de impregnação de produtos nos discos de papel.

5.4. *In vitro* - Efeito dos produtos e suas misturas na inibição do crescimento micelial, na produção de escleródios e na avaliação da sensibilidade dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*

5.4.1. *In vitro* - Crescimento micelial de isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico

Os isolados desenvolveram-se adequadamente com 120 horas de incubação no

tratamento controle, corroborando com prévio estudo de Corradini (1989), que avaliou 19 isolados de *S. sclerotiorum* de diferentes culturas e observou que as colônias do fungo atingiram o diâmetro máximo de crescimento com 120 horas de incubação.

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP e na concentração de 0,1 e 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição de crescimento micelial. Na concentração a 0,1 ppm, mistura envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, apenas fluazinam + *T. asperellum* apresentou 86% de inibição. Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, o único que não apresentou 100% de inibição micelial foi com o fungicida fluazinam + *Bacillus subtilis* (36%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, os únicos que não apresentaram 100% de inibição do fungo foram com os fungicidas tiofanato-tetfílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (75%), fluazinam + *Bacillus subtilis* (61%) e tiofanato-metfílico + *Bacillus subtilis* (71%) (Tabela 7 e Figura 13).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm apresentaram 100% de inibição do isolado (Tabela 7).

Nas misturas envolvendo fungicidas na concentração de 1 ppm com produtos de controle biológico, a única que não apresentou 100% de inibição de crescimento micelial do isolado foi fluazinam + Bio-Imune (81%) (Tabela 7 e Figura 13).

Nas concentrações de 10, 100 e 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, inibindo 100% o crescimento micelial do isolado (Tabela 7 e Figura 13).

Tabela 7. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / PIC (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	38 g C	96 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam	62 e C	85 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	27 h C	38 g B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona	41 f C	66 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico	12 i C	63 f B	100 a A	100 a A	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	100 a A

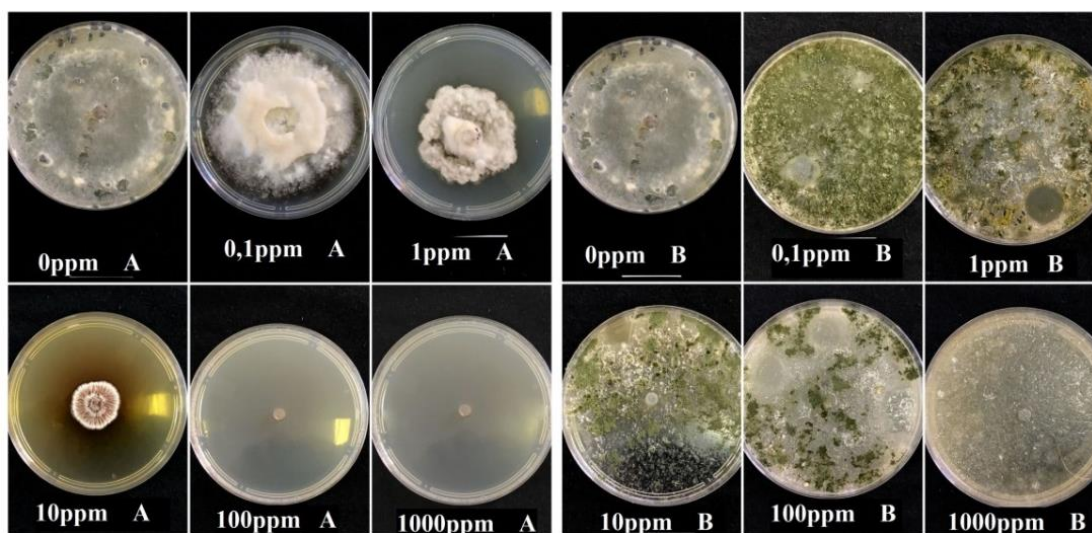
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	86 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	36 g B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	75 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	61 e C	81 d B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	71 d B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A

CV% = 27,91

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune



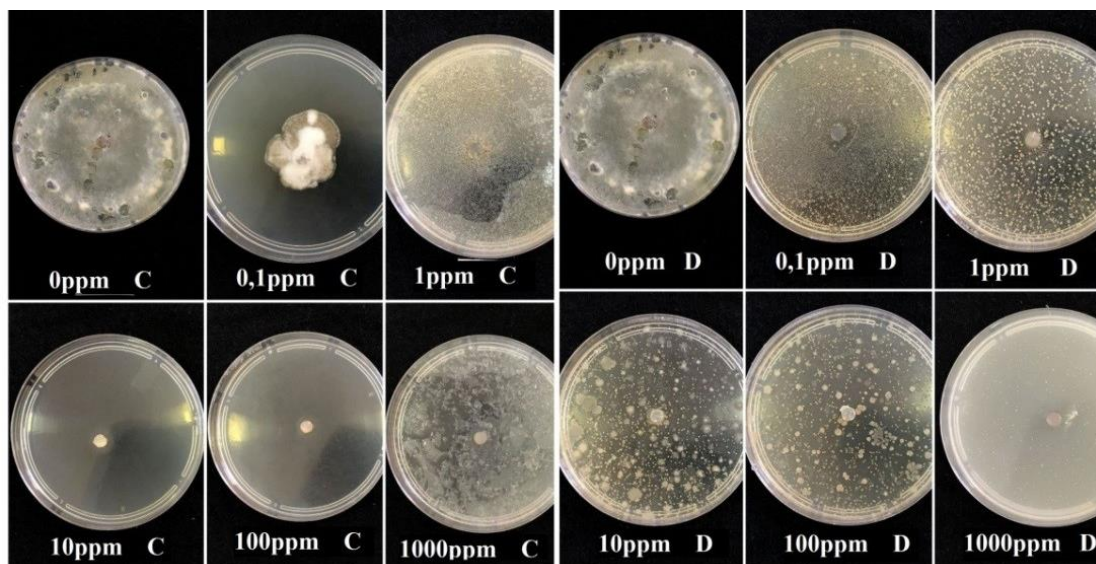


Figura 13. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios, do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Procimidona. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*¹. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*¹.
¹ Serenade; ² Bio-Imune

No isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição de crescimento micelial do fungo. Os fungicidas dimoxistrobina; boscalida, procimidona e tiofanato-metílico não apresentaram nenhuma inibição micelial do isolado (Tabela 8 e Figura 14).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm apresentaram 100% de inibição do crescimento micelial do isolado do fungo (Trichodermil, Tricho-Turbo e Serenade), com exceção apenas do produto Bio-Imune (*Bacillus subtilis*) que não apresentou total inibição do crescimento micelial do isolado (61 %) (Tabela 8 e Figura 14).

Na mistura envolvendo fungicidas na concentração de 0,1 ppm, os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* apresentam 100% de inibição. Por outro lado, as misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, o único que não apresentou 100% de inibição micelial foi fluazinam + *Bacillus subtilis* (75%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, não apresentaram 100% de inibição do fungo foram com os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam + Bio-Imune (*Bacillus subtilis*) (67%), fluazinam + Bio-Imune (*Bacillus subtilis*) (75%), tiofanato metílico + fluazinam + Bio-Imune (67%), dimoxistrobina; boscalida + Bio-Imune (87%), procimidona + Bio-Imune (75%) e tiofanato-metílico + Bio-Imune (87%)

(Tabela 8 e Figura 14).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição. Nas misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico, que não apresentaram 100% de inibição de crescimento micelial do isolado para o produto Bio-Imune foram os tiofanato-Metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (75%), fluazinam + *Bacillus subtilis* (87%) e procimidona + *Bacillus subtilis* (87,5%) (Tabela 8 e Figura 14).

Na concentração de 10 ppm, apenas o fungicida fluazinam (87%) apresentou o menor percentual de inibição. As misturas de fungicidas com produtos de controle biológico apresentaram 100% de inibição de crescimento micelial do isolado (Tabela 8 e Figura 14).

Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, inibindo 100% do crescimento micelial do isolado (Tabela 8 e Figura 14).

Tabela 8. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT em meio de cultura incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / PIC (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	33 f C	64 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam	53 e D	82 c C	87 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	0 g C	36 g B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona	0 g C	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico	0 g C	39 f B	100 a A	100 a A	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	61 b A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. Harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. Harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. Harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. Harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. Asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. Asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. Asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. Asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	75 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A

Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	67 d C	75 d B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	75 c C	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	75 c C	87,5 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A

CV% = 8,89

Os dados de PIC (X) foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

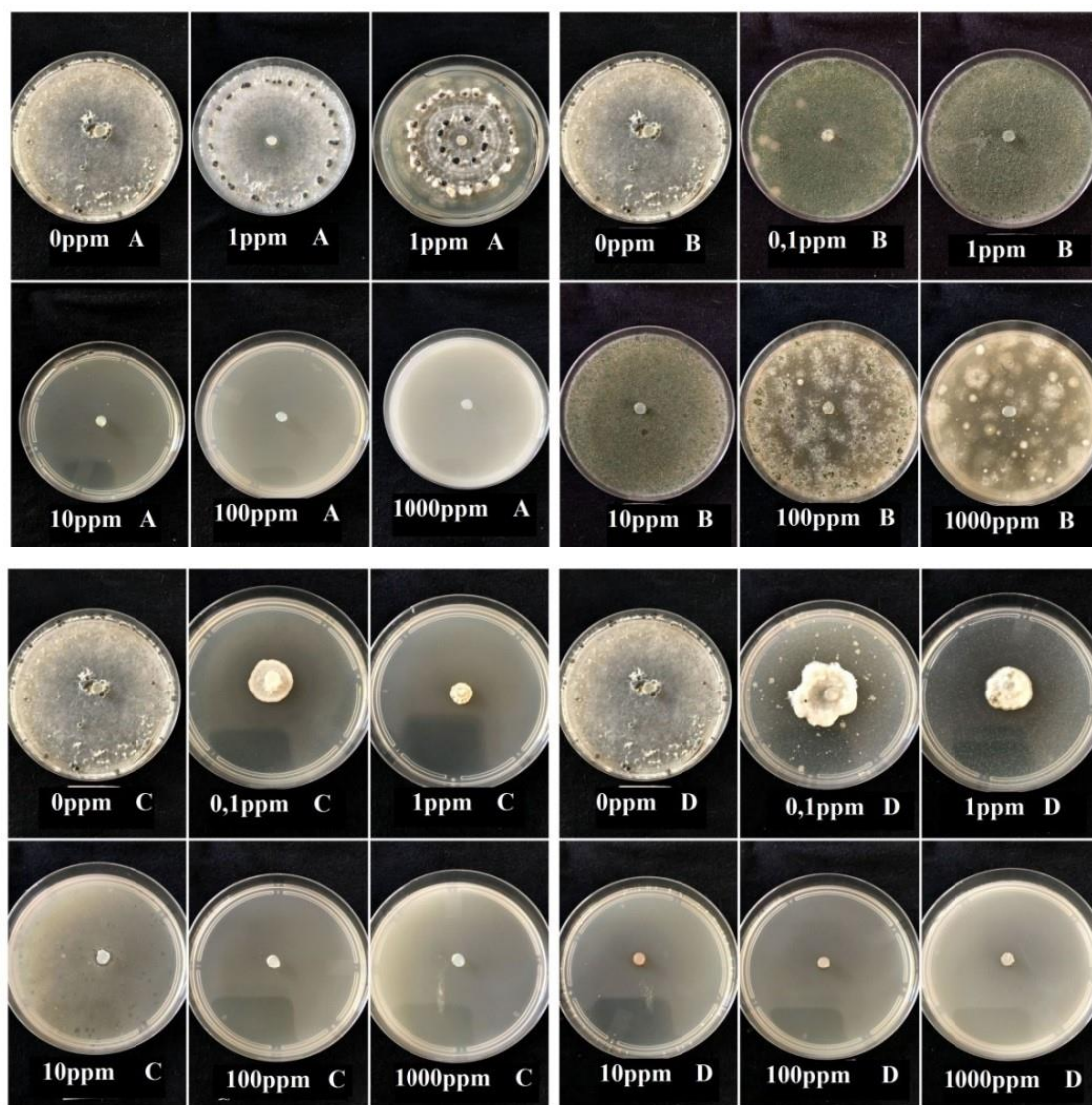


Figura 14. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara – MT nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Dimoxistrobina + Boscalida. B) Procimidona + *Trichoderma asperellum*. C) Procimidona + *Bacillus subtilis*¹. D) Tiofanato-metílico + Fluazinam + *Bacillus subtilis*².

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. Sclerotiorum* de Muitos Capões – RS e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição de crescimento micelial. Os fungicidas dimoxistrobina; boscalida, procimidona e tiofanato-metílico não apresentaram inibição micelial do isolado. Para os fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, todos apresentam 100% de inibição do fungo. Nas misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Bacillus*, que não apresentaram 100% de inibição do crescimento micelial do isolado para o produto Serenade foram tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (72%), dimoxistrobina; boscalida + *Bacillus subtilis* (87%), procimidona + *Bacillus subtilis* (87%) e tiofanato-metílico + *Bacillus subtilis* (87%). Já para as misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune, as que não apresentaram 100% de inibição micelial foram fluazinam + *Bacillus subtilis* (75%), procimidona + *Bacillus subtilis* (62%) e tiofanato-metílico + *Bacillus subtilis* (69%) (Figura 15 e Tabela 9).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm apresentaram 100% de inibição do isolado (Tabela 9).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição. Nas misturas de fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, todas inibiram 100% o micélio do fungo. Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, a única que não apresentou 100% de inibição micelial foi com o fungicida tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (75%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, as únicas que não apresentaram 100% de inibição do fungo foram com os fungicidas fluazinam + *Bacillus subtilis* (80%), procimidona + *Bacillus subtilis* (82%) e tiofanato-metílico + *Bacillus subtilis* (75%) (Figura 15 e Tabela 9).

Na concentração de 10 ppm, apenas o fungicida fluazinam (87%) apresentou o menor percentual de inibição. Nas misturas de fungicidas com produtos de controle biológico com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, a única que não apresentou 100% de inibição micelial foi com o fungicida tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (87%). Já na mistura de fungicida com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, a única que não apresentou 100% de inibição do fungo foi com o fungicida fluazinam + *Bacillus subtilis* (87,5%) (Figura 15 e Tabela 9).

Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, inibindo 100% o crescimento micelial do isolado (Figura 15 e Tabela 9).

Tabela 9. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões – RS em meio de cultura incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e dose

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / PIC (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	41 g C	72 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam	72 d D	81 d C	87 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	0 h C	53 g B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona	0 h C	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico	0 h C	19 g B	100 a A	100 a A	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	100 a A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	72 d D	75 f C	87 b B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	87 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	75 c D	80 d C	87,5 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	62 f C	82 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	69 e C	75 f B	100 a A	100 a A	100 a A

CV% = 7,93

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

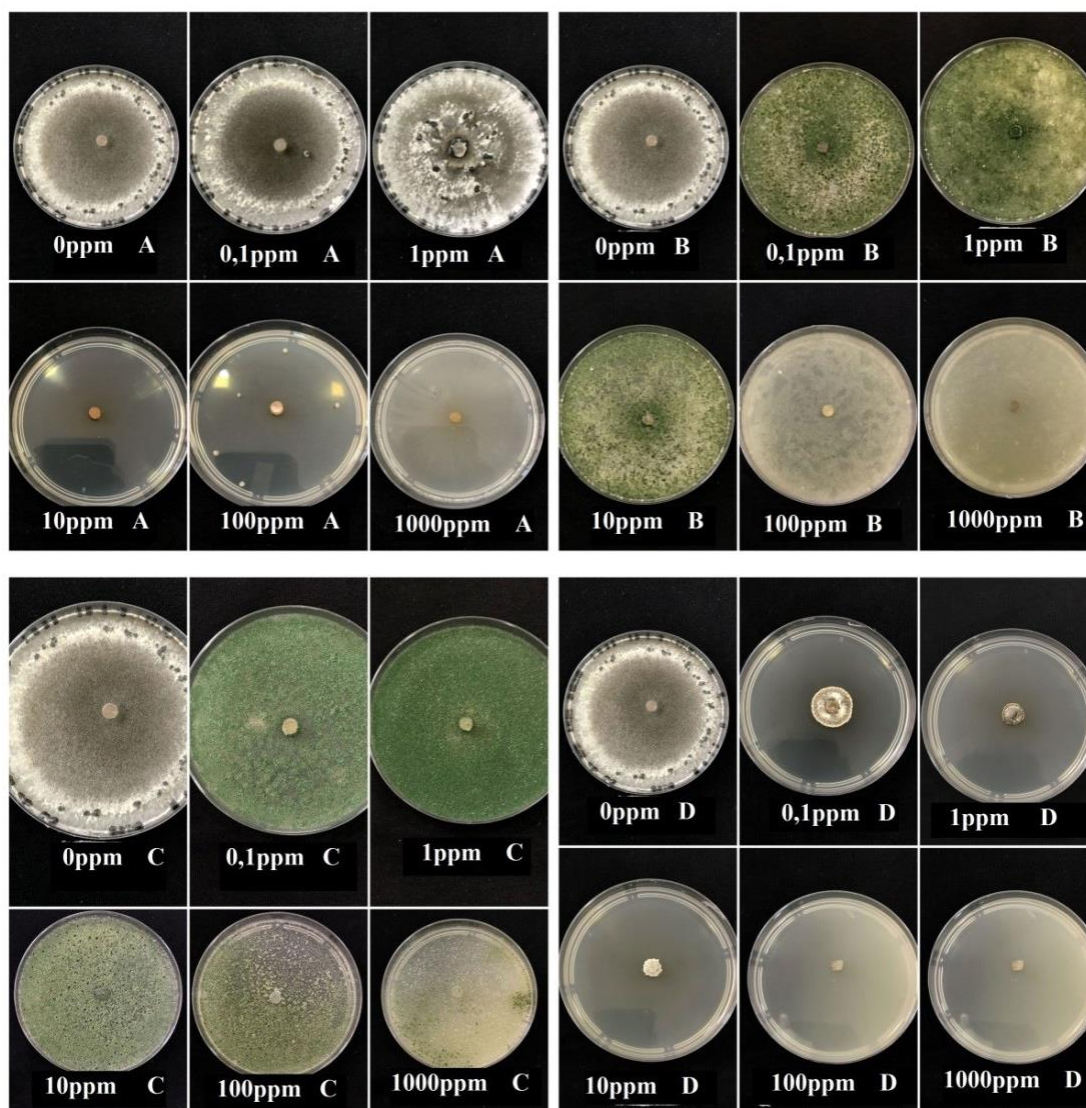


Figura 15. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição do crescimento micelial e produção de escleródios, do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões-MT, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Tiofanato-metílico. B) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma harzianum*. C) Dimoxistrobina + Boscalida + *Trichoderma asperellum*. D) Procimidona + *Bacillus subtilis*¹. ¹ Serenade; ² Bio-Imune

Zancan (2011) verificou que os fungicidas fluazinam e procimidone foram eficazes na inibição total do crescimento micelial de dois isolados do fungo *S. Sclerotiorum*, a partir de $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto que para tiofanato metílico, flunquinconazole e piraclostrobina, os isolados apresentaram crescimento micelial mesmo em alta concentração dos fungicidas ($500 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Ferreira et al. (2009) relataram um bom desempenho dos fungicidas procimidone e fluazinam para reduzir o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* nas concentrações de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

Garcia et al. (2012) observaram inibição do crescimento micelial de *S.*

sclerotiorum utilizando o ingrediente ativo fluazinam em doses a partir de $0,1 \mu\text{g i.a. mL}^{-1}$, enquanto que os fungicidas procimidona e carbendazim inibiram o fungo nas doses a partir de $1,0 \mu\text{g i.a. mL}^{-1}$, e tiofanato metílico na dose a partir de $10 \mu\text{g i.a. mL}^{-1}$. Esse trabalho de Garcia et al. (2012) reforça o estudo de Zancan (2011) quanto ao fato de tiofanato metílico controlar o fungo *S. sclerotiorum* apenas quando empregado em doses mais altas.

No presente estudo, tiofanato metílico e procimidona apresentaram 100% de inibição no crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum* a partir da concentração de 10 ppm. Fluazinam apresentou percentual de inibição dos isolados do fungo $\geq 87\%$ também a partir da concentração de 10 ppm. (Tabela 7).

Segundo Silva et al. (2015), *Trichoderma* spp. é considerado competidor agressivo, pois cresce rapidamente e coloniza vários substratos, além de competir com o patógeno por nutriente. Também pode atuar parasitando estruturas de patógenos. Essas características são interessantes, pois podem ajudar na redução do inóculo inicial da *S. sclerotiorum* parasitando os escleródios no campo. Além disso, os produtos à base de *Trichoderma* do presente estudo (Trichodermil® e Tricho-turbo®) apresentaram 100% de inibição micelial dos isolados de *S. sclerotiorum* nas doses recomendadas (Tabelas 7, 8 e 9). Isso poderá contribuir tanto na redução do inóculo inicial pelo controle dos escleródios quanto na redução da severidade da doença nas plantas adultas, podendo garantir florada adequada e enchimento dos grãos de soja no campo.

Jain et al. (2018) obtiveram inibição do crescimento micelial de *R. solani in vitro* com *B. subtilis*, além de reduzir a incidência do patógeno em 81% na cultura da soja. Observações microscópicas revelaram que *B. subtilis* causou deformidades morfológicas nas hifas de *R. solani*, como vacuolação, vazamento do protoplasto e destruição do micélio.

Chung et al. (2008) e Ayed et al. (2014) relataram sobre a existência de substâncias antibióticas e antifúngicas produzidas por espécies de *Bacillus* contra fungos.

Sun et al. (2017) e Rahman et al. (2016) obtiveram taxa de biocontrole de *S. sclerotiorum* superior a 80% com cepas de *B. subtilis* (LHS11 e FX2) e *Bacillus amyloliquefaciens*.

No presente estudo, o produto Serenade® à base de *Bacillus subtilis* apresentou 100% de inibição micelial de todos os isolados de *S. sclerotiorum* na concentração de 1000 ppm. É possível que o elevado controle do produto Serenade® nos isolados de *S. sclerotiorum*, seja devido às alterações morfológicas sobre os isolados e da atuação de

substâncias antibióticas e antifúngicas, conforme relatos de Chung et al. (2008) e Ayed et al. (2014).

Mueller et al. (2002), por meio da mesma metodologia, testaram os fungicidas benomil, vinclozolin, tebuconazol e tiofanato-metílico sobre *S. sclerotiorum*. O tratamento com fungicida tiofanato-metílico não impediu o desenvolvimento do patógeno, até mesmo nas maiores concentrações, diferindo dos resultados do presente estudo, que nas concentrações de 10 ppm e acima, inibiu 100% o crescimento micelial dos três isolados de *S. Sclerotiorum*.

5.4.2. *In vitro* – Produção de escleródios de isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura BDA com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul - SP, os fungicidas utilizados isoladamente na concentração de 0,1 ppm reduziram o número de escleródios produzidos em relação ao tratamento controle (Tabelas 10).

Nas concentrações de 1; 10; 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente no meio de cultura não propiciaram a produção de escleródios (Tabelas 10).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm inibiram 100% o crescimento micelial do fungo e com isso não houve produção de escleródios (Tabelas 10).

Nas concentrações de 0,1 e 1 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Bacillus*, apesar de não apresentar 100% de inibição micelial do fungo constatou-se 100% de inibição da produção de escleródios (Tabela 10). Nas concentrações de 10; 100 e 1000 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* não propiciaram a produção de escleródios no meio de cultura (Tabelas 10).

Tabela 10. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul - SP nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	40,0 d	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	13,2 c	-	-	-	-
Fluazinam	11,1 a	-	-	-	-

Dimoxistrobina; Boscalida	11,2 a	-	-	-	-
Procimidona	11,1 a	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico	12,6 b	-	-	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T.</i> <i>harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T.</i> <i>asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B.</i> <i>subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B.</i> <i>subtilis</i> ²	-	-	-	-	-

CV % = 5,58

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT, os fungicidas utilizados isoladamente na concentração de 0,1 ppm reduziram a produção de escleródios em relação ao tratamento controle (Tabela 11). Nas concentrações de 1 e 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente reduziram a produção de escleródios em relação ao tratamento controle, com destaque para os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico que chegaram a zerar essa produção (Tabela 11). Nas concentrações 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente inviabilizaram a

produção de escleródios do fungo no meio (Tabelas 11).

Analisando a produção de escleródios do isolado do fungo nos tratamentos com os fungicidas fluazinam e dimoxistrobina; boscalida, observou-se que a produção média diferiu entre si quanto as concentrações de 0,1; 1 e 10 ppm, sendo a menor delas na concentração de 10 ppm.

Quanto aos produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm, somente o produto *Bacillus subtilis* (Bio-Imune) não propiciou 100% de inibição micelial do fungo, porém houve 100% de inviabilização na produção de escleródios (Tabelas 11).

Nas concentrações de 0,1 e 1 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Bacillus*, apesar de não apresentar 100% de inibição micelial do fungo observou-se 100% de inibição da produção de escleródios (Tabela 11).

Nas concentrações de 10, 100 e 1000 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e *Bacillus* não propiciaram produção de escleródios no meio de cultura (Tabelas 11).

Tabela 11. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara- MT nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações e dose.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	38,5 f A	38,5 c A	38,5 b A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	8,6 a B	- A	-	-	-
Fluazinam	10,1 b C	2,0 a B	1,0 a A	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida	19,0 e C	6,8 b B	1,0 a A	-	-
Procimidona	11,6 c B	- A	-	-	-
Tiofanato-Metílico	14,3 d B	- A	-	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-

Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-

CV % = 7,45

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões - RS, os fungicidas utilizados isoladamente na concentração de 0,1 ppm reduziram a produção de escleródios em relação ao tratamento controle, com destaque para o fungicida fluazinam que foi o que mais reduziu em relação aos demais. Para os produtos de controle biológico (à base de *Trichoderma* e de *Bacillus*) e as misturas envolvendo fungicidas + *Trichoderma* inibiram 100% o crescimento micelial do fungo e com isso não apresentou produção de escleródios. Nas misturas envolvendo fungicidas mais produtos de controle biológico à base de *Bacillus*, a única que apresentou 100% de inibição do crescimento micelial do isolado foi fluazinam + Serenade (*Bacillus subtilis*). Para o produto Bio-Imune mais fungicidas, as únicas misturas que inibiram 100% o crescimento micelial do isolado foram tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* e dimoxistrobina; boscalida + *Bacillus subtilis*. Nas demais misturas apesar de não apresentar 100% de inibição do fungo, não se constatou produção de escleródios (Tabelas 12).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm inibiram 100% o crescimento micelial do fungo e com isso não houve produção de escleródios (Tabelas 12).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente reduziram a produção de escleródios em relação ao tratamento controle, com destaque para o fungicida procimidona que foi o que mais reduziu em relação aos demais. A mistura fungicida + Serenade® que não inibiu 100% o fungo foi com o fungicida tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis*. Já nas misturas fungicidas + Bio-Imune®, as

únicas que não inibiram 100% o crescimento micelial do fungo foram fluazinam + *Bacillus subtilis*, procimidona + *Bacillus subtilis* e tiofanato-metílico + *Bacillus subtilis* (Tabelas 9 e 12).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente reduziram a produção de escleródios do isolado em relação ao tratamento controle, com destaque para os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam, dimoxistrobina; boscalida, procimidona e tiofanato-metílico que inviabilizaram totalmente a produção de escleródios no meio. As únicas misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico que não inibiram 100% o crescimento micelial do fungo foram tiofanato-metílico; fluazinam + *Bacillus subtilis* (Serenade®) e fluazinam + *Bacillus subtilis* (Bio-Imune®), mas mesmo assim essas misturas esterilizaram o micélio e com isso não houve produção de escleródios (Tabelas 12).

Analisando a produção de escleródios do isolado do fungo nos tratamentos com os fungicidas, observou-se que a produção média foi diferente para dimoxistrobina; boscalida e tiofanato metílico nas concentrações de 0,1 e 1 ppm e com 10 ppm não se detectou mais produção. Já para o fungicida procimidona, as concentrações de 1 e 10 ppm foram iguais em relação ao número médio de escleródios e ambas as concentrações diferiram de 0,1 ppm (Tabelas 12).

Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas, os produtos de controle biológico e as misturas fungicidas com produtos de controle biológico inibiram 100% o crescimento micelial do fungo e com isso não houve produção de escleródios (Tabelas 12).

Tabela 12. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões - RS nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações e dose.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	39,4 d A	39,4 d A	39,4 b A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	10,5 b C	7,2 c B	- A	-	-
Fluazinam	2,8 a B	1,3 b A	1,0 a A	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida	10,2 b C	1,0 b B	- A	-	-
Procimidona	16,1 c B	0,3 a A	- A	-	-
Tiofanato-Metílico	16,5 c C	7,2 c B	- A	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-

Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-

CV% = 6,9

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x}/100$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Com os resultados obtidos da produção de escleródios em meio de cultura BDA, pode-se dizer que as misturas tornaram o micélio do isolado do fungo estéril, ou seja, sem capacidade de produzir escleródios e isso pode ajudar na redução do inóculo inicial da doença no solo.

No presente trabalho, a média de produção de escleródios foi de 40 para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, de 38,5 para Jaciara – RS e 39,4 para Muitos Capões – RS Capões – RS (Tabelas 10, 11 e 12). Essa média de produção de escleródios por *S. sclerotiorum* em meio de cultura está dentro da média encontrada em outros trabalhos como de Abreu (2011) e de Grabicoski (2012).

Em plantas de feijão (VIEIRA et al., 2001), a aplicação do fungicida procimidone diminuiu a quantidade de escleródios em relação à testemunha. Zancan et al. (2012) avaliaram o efeito *in vitro* dos fungicidas procimidona, fluazinam, fluquinconazol, tiofanato metílico e piraclostrobina e constataram redução na quantidade de escleródios na ordem de 96%, 94%, 93% 79% e 56%, respectivamente, na concentração de 5 mg L⁻¹

¹. Borelli et al. (2012) relataram o bom desempenho dos fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico, nas concentrações a partir de 1 ppm, para isolado de *S. sclerotiorum* do estado de São Paulo, na inibição da produção de escleródios. No presente estudo, os fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico reduziram ou inibiram 100% a produção de escleródios dos isolados de *S. sclerotiorum* no meio de cultura, dependendo da concentração.

Meyer et. al. (2011) e Campos et. al. (2011) observaram redução significativa na incidência do mofo-branco em soja e na produção de escleródios nas plantas, utilizando-se os fungicidas fluopiran e as misturas dimoxystrobina+boscalida e picoxystrobina+pentiopirade, em diferentes áreas experimentais no estado de Goiás. O fungicida dimoxistrobina + boscalida (Spot) nas concentrações de 0,1; 1,0 e 10 ppm estimulou a produção de escleródios *in vitro*. No presente estudo, não se observou estímulo na produção de escleródios para os três isolados de *S. sclerotiorum* testados nos meios contendo fungicidas, produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* e as misturas dos fungicidas com os produtos de controle biológico.

Os produtos de controle biológico à base de *Bacillus* utilizados isoladamente ou em associação com fungicidas reduziram ou inibiram 100% o crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum*, mas inibiram 100% a produção de escleródios nas colônias. Resultados similares foram observados no estudo de Abdullah et al. (2008), que utilizaram *in vitro* os antagonistas *T. harzianum* e *B. amyloliquefaciens* sobre *S. sclerotiorum*, obtido de caules infectados de berinjelas (*Solanum melongena*). Os antagonistas não inibiram totalmente o crescimento micelial do isolado, mas impediram 100% a produção de escleródios.

Outro estudo demonstrando a esterilização do micélio de *S. sclerotiorum* trata-se do uso de filtrados da bactéria *Xenorhabdus szentirmaii* PAM 25, obtidos com 3 e 9 dias de cultivo e diluídos a 33%, bem como os filtrados da bactéria com 6 dias de cultivo e diluídos a 10%. Esses filtrados foram incorporados no meio BDA e observou-se que o isolado de *S. sclerotiorum* de soja não foi 100% inibido o seu crescimento micelial, mas os filtrados esterilizaram o micélio do fungo e com isso não se detectou a produção de escleródios (CHACÓN-OROZCO, 2018). Quando não há esterilização do micélio, a produção de escleródios de *S. sclerotiorum* na presença de antagonista é variável, estando este processo relacionado à agressividade de cada espécie e isolado de *Trichoderma* spp. (BARDIN & HUANG, 2001; DELGADO et al., 2007; ETHUR et al., 2001; KIM & KNUDSEN, 2009).

5.4.3 *In vitro* – Sensibilidade dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura contendo fungicidas e misturas com produtos de controle biológico

Na avaliação da sensibilidade dos isolados, o coeficiente de determinação (R^2) variou de 0,735 a 0,799 para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP; de 0,7549 a 0,9099 para Jaciara – MT e de 0,6665 a 0,8653 para Muitos Capões – RS (item 4.5)

As CI_{50} obtidas para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP demonstraram que esse isolado foi altamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 0,1 a 0,9 ppm. A CI_{90} para o mesmo isolado e verificando os mesmos fungicidas utilizados isoladamente variou de 0,79 a 4,27 ppm. Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* inibiram 100% o crescimento micelial do isolado e com isso não há CI_{50} . Já as misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico inibiram 80-100% o crescimento micelial do fungo quando o fungicida foi incorporado no meio na concentração de 1 ppm e nas maiores concentrações a redução já foi de 100% e assim também não há CI_{50} (Tabelas 7 e 13).

Tabela 13. Equação do crescimento micelial do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R^2	ppm (CL_{50})	ppm (CL_{95})
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	$y = 0,808x + 6,34$	0,7491	0,2	0,79
Fluazinam	$y = 0,761x + 6,363$	0,7971	0,1	1,78
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,074x + 5,602$	0,7674	0,2	4,27
Procimidona	$y = 0,932x + 5,958$	0,7893	0,1	2,21
Tiofanato-Metílico	$y = 1,12x + 5,574$	0,7999	0,9	2,26
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,392x + 7,306$	0,795	-	0,21
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-

Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,68x + 6,73$	0,765	-	0,62
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,484x + 7,122$	0,735	-	0,18
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,787x + 6,291$	0,7902	-	0,97
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,508x + 7,074$	0,755	-	0,68

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI_{50} para o isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara - MT mostraram que esse isolado é também altamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 0,1, 0,09 e 0,23 ppm para os produtos tiofanato-metfílico; fluazinam, fluazinam e procimidona e moderadamente sensível para os produtos dimoxistrobina; boscalida com 1,42 ppm e tiofanato-metfílico com 1,56 ppm. A CI_{95} para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 2,75 (tiofanato-metfílico; fluazinam) a 13,3 (fluazinam) ppm. Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* inibiram completamente o crescimento micelial do isolado e com isso não há CI_{50} . As misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico inibiram 75-100% o crescimento micelial do fungo quando o fungicida foi incorporado ao meio de cultura na concentração de 1 ppm e nas maiores concentrações a redução já foi de 100% e assim também não há CI_{50} (Tabelas 8 e 14).

Tabela 14. Equação do crescimento micelial do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara – MT, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	$y = 0,985x + 5,847$	0,7944	0,1	2,75
Fluazinam	$y = 0,815x + 5,861$	0,9099	0,09	13,27
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,963x + 3,819$	0,8598	1,42	5,32
Procimidona	$y = 1,809x + 4,281$	0,7665	0,23	7,73
Tiofanato-Metfílico	$y = 1,952x + 3,852$	0,7549	1,56	6,53
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-

<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	y = 8,09	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	y = 0,562x + 6,966	0,896	-	2,41
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	y = 8,09	0	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	y = 8,09	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	y = 8,09	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	y = 8,09	0	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	y = 8,09	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	y = 8,09	0	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	y = 8,09	0	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	y = 0,484x + 7,122	0,845	-	1,82
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	y = 8,09	0	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	y = 8,09	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	y = 0,772x + 6,304	0,7702	-	1,43
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	y = 0,675x + 6,549	0,7919	-	1,92
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	y = 0,382x + 7,326	0,896	-	0,27
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	y = 0,675x + 6,549	0,7917	-	1,96
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	y = 0,382x + 7,326	0,849	-	0,29

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis (CI₅₀ < 1 ppm); moderadamente sensíveis (CI₅₀ de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI₅₀ 10-50 ppm) e insensíveis (CI₅₀ > 50 ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI₅₀ para o isolado de *S. sclerotiorum* de Muito Capões - RS demonstraram que esse isolado foi altamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 0,04 a 0,83 ppm e moderadamente sensível para o fungicida tiofanato-metílico com 8,6 ppm. A CI₉₅ para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 3,9 a 19,9 ppm. Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* inibiram completamente o crescimento micelial do isolado e com isso não há CI₅₀. As misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico inibiram 75 a 100% o crescimento micelial do fungo, quando o fungicida foi incorporado no meio nas concentrações de 1 e 10 ppm e nas concentrações de 100 e 1000 ppm a redução foi de 100% e assim também não foi possível obter a CI₅₀ (Tabelas 9 e 15).

Tabela 15. Equação do crescimento micelial do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões – RS, em meio de cultura BDA incorporado com diferentes fungicidas e

produtos de controle biológico, utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, os valores de CL₅₀ e CL₉₅.

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	$y = 0,899x + 6,057$	0,799	0,22	4,77
Fluazinam	$y = 0,723x + 6,041$	0,8653	0,04	12,14
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,919x + 3,951$	0,7385	0,83	16,35
Procimidona	$y = 1,809x + 4,281$	0,6665	0,58	3,89
Tiofanato-Metfílico	$y = 2,015x + 3,663$	0,779	8,61	19,89
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 8,09$	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,744x + 6,36$	0,8585	-	2,54
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,382x + 7,326$	0,7569	-	0,82
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,382x + 7,326$	0,745	-	0,82
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,382x + 7,326$	0,789	-	0,82
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,709x + 6,065$	0,8509	-	11,01
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,769x + 6,335$	0,7921	-	1,36
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,76x + 6,328$	0,7656	-	4,82

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis (CI₅₀ < 1ppm); moderadamente sensíveis (CI₅₀ de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI₅₀ 10-50 ppm) e insensíveis (CI₅₀ > 50 ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

A CI₅₀, isto é, a concentração de ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial constitui um valor particular para cada fungicida, para um determinado fungo. Quanto mais baixa for a CI₅₀, maior será a capacidade fungitóxica do produto (REIS et al., 2007). Com isso, a CI₅₀ também constitui uma referência para monitorar a resistência de patógenos a fungicidas, tendo em vista identificar, ao longo dos anos, se houve a perda da sensibilidade por parte do fungo a um determinado fungicida (DE ROSSI et al., 2015).

De acordo com os dados do presente estudo, o fungicida tiofanato-metfílico deve ser monitorado no campo para o controle do isolado de Jaciara – MT e Muitos Capões –

RS, pois as CI_{50} obtidas indicam que esses isolados estão moderadamente sensíveis aos fungicidas e podem se tornar pouco sensíveis aos mesmos.

Trabalhos envolvendo a sensibilidade de isolados de *S. sclerotiorum* ao fungicida fluazinam comprovam a sua eficiência. A concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ foi capaz de reduzir o crescimento micelial de isolados do patógeno *S. sclerotiorum*, de feijão, em mais de 80% (GARCIA et al., 2012; PAULA JÚNIOR et al., 2009). A inibição do crescimento de *S. minor* e de *S. sclerotiorum* foi superior a 80% com fluazinam na concentração de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ (MATHERON; PORCHAS, 2004). Komyoji et al. (1995) observaram CI_{50} e CI_{90} de fluazinam inferiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para *S. sclerotiorum*, além de verificarem seu efeito fungitóxico a diversas outras espécies de fungos. No presente estudo, o fungicida fluazinam apresentou CI_{50} para os três isolados de *S. sclerotiorum*, variando de 0,1 até no máximo 0,9 ppm. Esse ingrediente foi altamente fungitóxico, demonstrando eficiência no controle do fungo.

Lehner (2015) avaliou 31 isolados de *S. sclerotiorum* de diversas culturas (soja, feijão, girassol, cenoura e couve) e constatou alta sensibilidade ao fungicida tiofanato metílico, com valores de CI_{50} variando de $0,38 \text{ ug / mL}$ a $2,23 \text{ ug / mL}$. FIGUEIREDO et al. (2010) observaram redução do crescimento micelial de *S. Sclerotiorum* na concentração de 1 mg L^{-1} , quando utilizaram o fungicida tiofanato-metílico e inibição completa a 10 mg L^{-1} . Outros estudos mostraram inibição de 50% do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* com a concentração de $2,2 \text{ mg L}^{-1}$ de tiofanato metílico (MUELLER et al., 2002.) No presente estudo, o valor da CI_{50} do tiofanato-metílico foi de 0,9 ppm para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul, de 1,56 ppm para o de Jaciara – MT e de 8,61 ppm para Muito Capões – RS (Tabelas 13, 14 e 15). Diante disto, os isolados de *S. sclerotiorum* testados no presente estudo foram moderadamente sensíveis ao fungicida tiofanato metílico e não demonstraram ser resistentes ao ingrediente ativo, porém os isolados de Jaciara – MT e Muito Capões – RS devem ser monitorados caso esse fungicida seja aplicado continuamente.

Os valores de CI_{50} e CI_{95} obtidos neste estudo demonstram que os fungicidas, os produtos de controle biológico e as misturas (fungicida + produto de controle biológico) foram eficientes no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum*.

5.5. *In vivo* - Efeito dos produtos e suas misturas na severidade da doença, na produção de escleródios e na avaliação da sensibilidade destes sobre os

isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*

5.5.1. *In vivo* - Inibição da severidade da doença, causada pelos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, em folhas destacadas de soja

Os isolados de *S. sclerotiorum* avaliados causaram 100% de severidade da doença nas testemunhas. Nas Tabelas 16, 17 e 18 estão apresentados os resultados das avaliações, após sete dias da inoculação dos discos de BDA contendo micélio de cada isolado do fungo, nas folhas destacadas de soja (Tabela 16 e Figura 16).

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram baixas porcentagens de inibição na severidade da doença, em comparação com os outros tratamentos. Os fungicidas fluazinam, dimoxistrobina; boscalida, procimidona e tiofanato-metílico não apresentaram nenhuma inibição da severidade da doença. Na mistura envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, o produto *T. harzianum* foi melhor que *T. asperellum* no controle da doença. O produto com *T. harzianum* com os fungicidas controlaram 100% a severidade da doença causada pelo isolado, enquanto *T. asperellum* mais fungicidas apresentaram percentuais de severidade de 82% até 100%. Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, a maioria não apresentou 100% de inibição da severidade da doença, destacando-se o fungicida tiofanato-metílico + *B. subtilis* (92%) com a melhor inibição da doença. Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, também a maioria não apresentou 100% de inibição da severidade da doença, destacando-se o fungicida dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (98%) que apresentou a melhor porcentagem de inibição da severidade da doença (Tabela 16 e Figura 16).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não inibiram a severidade do isolado nas folhas (Tabela 16).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram, novamente, baixos percentuais de inibição da doença em comparação com outros tratamentos. Na mistura envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, o produto que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi tiofanato-metílico; fluazinam + *T. asperellum* (89%) e fluazinam + *T. asperellum* (98%). Vale ressaltar que as misturas de fungicidas envolvendo o produto à base de *T. harzianum* controlou 100% a severidade da doença causada pelo isolado do fungo. Já nas

misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, os produtos que não apresentaram 100% de inibição da severidade da doença foram tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis* (80%), dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (36%) e procimidona + *B. subtilis* (46%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, a maioria não apresentou 100% de inibição da severidade da doença, destacando-se o fungicida dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* que apresentou total inibição da severidade da doença nas folhas (Tabela 16 e Figura 16).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram baixos percentuais de inibição em comparação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todas inibiram 100% a severidade da doença causada pelo isolado nas folhas de soja. Vale ressaltar que as misturas envolvendo fungicidas e *Bacillus* até então não tinham inibido completamente a severidade da doença e isso só ocorreu nessa concentração (Tabela 16 e Figura 16).

Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todos inibiram 100% a severidade da doença causada pelo isolado nas folhas (Tabela 16 e Figura 16).

Tabela 16. Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP, em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação, com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	12 i D	84 d C	92 b B	100 a A	100 a A
Fluazinam	0 m D	25 j C	48 f B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	0 m D	28 i C	81 d B	100 a A	100 a A
Procimidona	0 m D	32 h C	89 c B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico	0 m D	18 l C	63 e B	100 a A	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	0 b A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	89 e C	98 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	82 f B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	94 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	98 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A

Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	18 h C	80 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	17 h C	100 a B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	7 j C	36 g B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	5 l C	46 f B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	92 d B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	56 g C	99 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	20 h C	81 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	98 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	55 g C	80 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	18 h C	85 d B	100 a A	100 a A	100 a A

CV% = 6,76

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x}/100$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

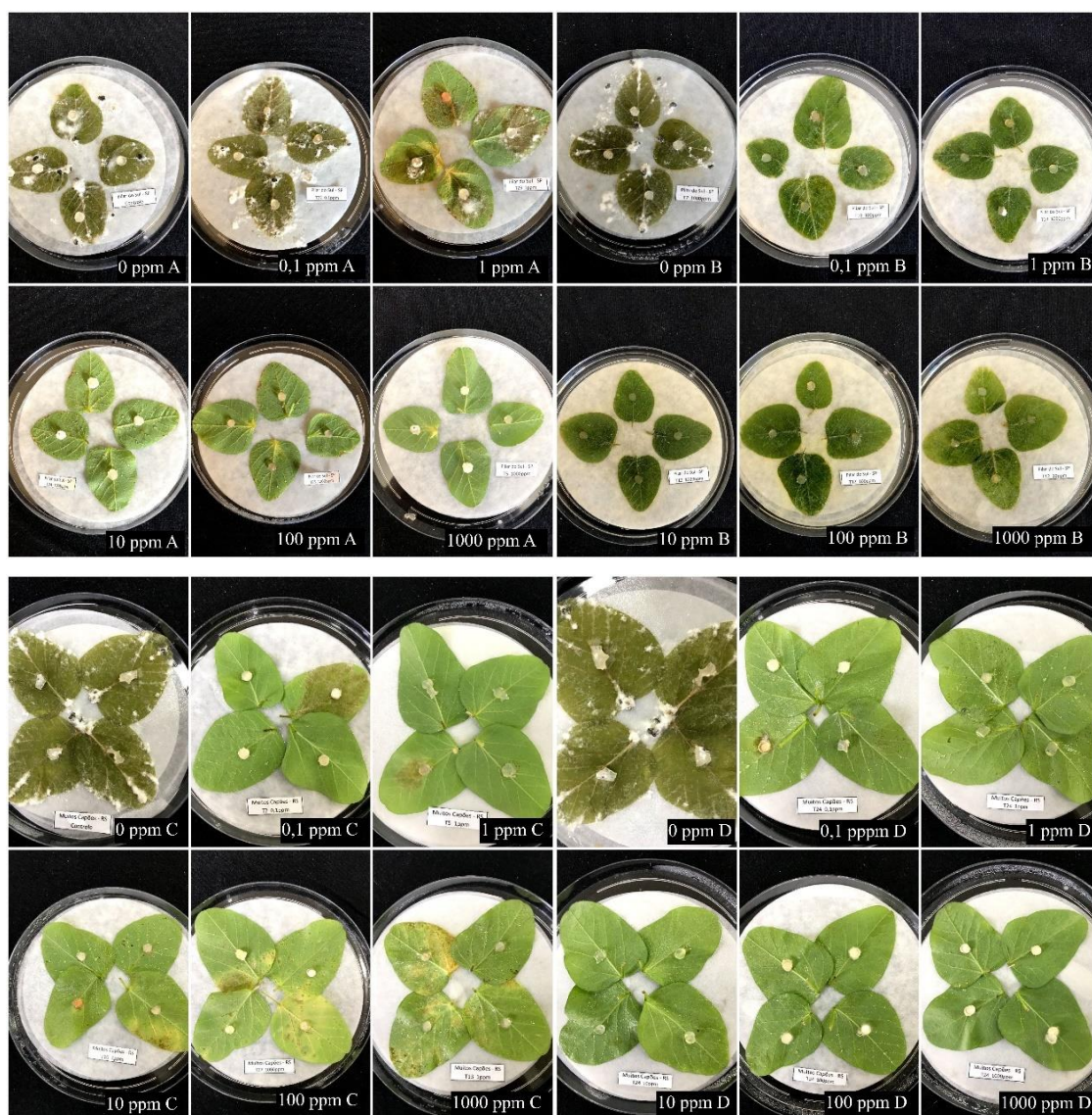


Figura 16. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP em folhas de soja, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Tiofanato-Metílico; Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. harzianum*. C) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*¹. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*¹.
¹ Serenade; ² Bio-Imune

No isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição da severidade da doença em comparação com os demais tratamentos. Os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam, dimoxistrobina; boscalida e procimidona não apresentaram nenhuma inibição da severidade da doença (Tabela 17 e Figura 17).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não foram eficazes e, conseqüentemente, não inibiram a severidade da doença (Tabela 17 e Figura 17).

Na mistura envolvendo fungicidas na concentração de 0,1 ppm com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, somente o produto tiofanato-metílico com a espécie *T. asperellum* (88%) não apresentou 100% de inibição da severidade da doença. Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, a maioria não apresentou 100% de inibição da severidade da doença, destacando-se apenas o fungicida procimidona + *B. subtilis* que apresentou 100% percentagem de inibição da severidade da doença. As misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* apresentaram os menores percentuais de inibição da severidade da doença comparado com as misturas envolvendo fungicidas com outros produtos de controle biológico (Tabela 17 e Figura 17).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram, novamente, baixos percentuais de inibição da doença em comparação com os outros tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* apresentaram 100% de inibição da severidade da doença, ou seja, não houve diferença entre os produtos e, conseqüentemente, entre as espécies de *Trichoderma*. Já as misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, os produtos que não apresentaram 100% de inibição da severidade da doença foram tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis* (95%), fluazinam + *B. subtilis* (88%), dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (87%) e tiofanato-metílico + *B. subtilis* (93%). A maioria das misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* não apresentaram 100% de inibição da severidade da doença, destacando-se apenas o fungicida dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (92%) que apresentou a melhor

porcentagem de inibição da severidade da doença (Tabela 17 e Figura 17).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição em comparação com os demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* apresentaram 100% de inibição da severidade da doença. Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, o produto que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi fluazinam + *B. subtilis* (98%). As misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* não apresentaram total inibição da severidade da doença, com exceção do fungicida dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* que apresentou 100% de inibição da severidade da doença (Tabela 17 e Figura 17).

Na concentração de 100 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todos inibiram 100% a severidade da doença causada pelo isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT. Vale ressaltar que nessa concentração foi a primeira vez que as misturas envolvendo fungicidas + produtos à base de *Bacillus* controlaram a severidade da doença causada pelo isolado do fungo (Tabela 17 e Figura 17).

Nas concentrações de 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todos inibiram 100% da severidade da doença (Tabela 17 e Figura 17).

Tabela 17. Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara – MT, em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação, com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	0 j D	27 j C	55 g B	100 a A	100 a A
Fluazinam	5 i D	48 h C	90 d B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	5 i D	33 i C	95 c B	100 a A	100 a A
Procimidona	0 j D	46 h C	88 d B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico	0 j E	23 l D	60 f C	95 b B	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	0 b A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A

Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	88 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	78 c C	95 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	54 d D	88 c C	98 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	55 d C	87 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	55 d C	93 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	28 f D	67 e C	93 c B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	10 h D	53 g C	88 d B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	55 d D	92 b C	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	20 g D	58 f C	85 e B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	33 e D	74 d C	88 e B	100 a A	100 a A

CV% = 7,11

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

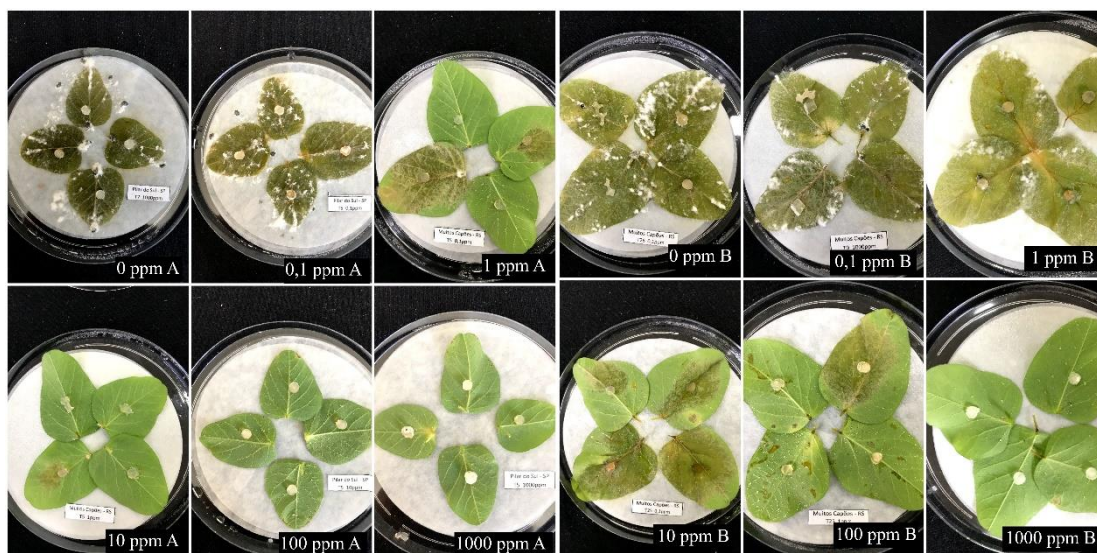




Figura 17. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de escleródios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara – MT, em folhas de soja descascadas, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Fluazinam. B) Tiofanato-metílico. C) Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *B. subtilis*¹. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*¹. ¹ Serenade; ² Bio-Imune.

Na análise do isolado de *S. Sclerotiorum* de Muitos Capões – RS e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição da severidade da doença em comparação com os outros tratamentos. Os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam, dimoxistrobina; boscalida, procimidona e tiofanato-metílico não apresentaram nenhuma inibição da severidade da doença (Tabela 18 e Figura 18).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não impediram a severidade da doença causada pelo isolado do fungo (Tabela 18 e Figura 18).

Na mistura envolvendo fungicidas na concentração de 0,1 ppm com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, os únicos produtos que não apresentaram 100% de inibição da severidade da doença foram tiofanato-metílico; fluazinam + *T. harzianum* (91%) e fluazinam + *T. asperellum* (10%). As misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus* não apresentaram 100% de inibição da severidade da doença. Já as misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* apresentaram os menores percentuais de inibição da severidade da doença comparado com as misturas envolvendo fungicidas com outros produtos de controle biológico. As misturas fluazinam + *B. subtilis* (Bio-Imune®) e tiofanato-metílico + *B. subtilis* (Bio-Imune®) não apresentaram nenhuma inibição da severidade da doença (Tabela 18 e

Figura 18).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram baixos percentuais de inibição em comparação com os outros tratamentos. Na mistura envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, o único que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi fluazinam + *T. asperellum* (53%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, o produto que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi apenas o fluazinam + *B. subtilis* (53%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus*, somente os fungicidas dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* e procimidona + *B. subtilis* que apresentaram 100% de inibição da severidade da doença. Vale ressaltar aqui que a espécie *T. harzianum* e o produto Serenade® se mostram melhores que os outros (Tabela 18 e Figura 18).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram, novamente, os menores percentuais de inibição em comparação com os outros tratamentos. Na mistura envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, o único que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi fluazinam + *T. asperellum* (93%). Já nas misturas de fungicidas com o produto Serenade® à base de *Bacillus*, o produto que não apresentou 100% de inibição da severidade da doença foi fluazinam + *B. subtilis* (82%). A maioria das misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* não apresentou 100% de inibição da severidade da doença, com exceção do fungicida dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* que foi o único que apresentou 100% de inibição da severidade da doença (Tabela 18 e Figura 18).

Na concentração de 100 ppm, os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam (98%) e tiofanato-metílico (94%) apresentaram os menores percentuais de inibição da severidade da doença em comparação com os outros fungicidas e demais tratamentos. As misturas de fungicidas com produtos de controle biológico apresentaram 100% de inibição da severidade da doença (Tabela 18 e Figura 18).

Na concentração de 1000 ppm, os fungicidas e as misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todos inibiram 100% da severidade da doença causada pelo isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões - RS (Tabela 18 e Figura 18).

Tabela 18. Porcentagem de inibição da severidade da doença do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muito Capões – RS, em folhas de soja destacadas, propiciada pela aplicação de fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação, com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / PIC (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	01 E	14 i D	44 f C	98 b B	100 a A
Fluazinam	2 j D	27 h C	88 c B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	01 D	30 g C	93 b B	100 a A	100 a A
Procimidona	01 D	35 e C	67 e B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico	01 E	16 i D	43 f C	94 c B	100 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	0 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	0 b A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	91 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	10 i D	53 d C	93 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	83 d B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	27 f D	53 d C	82 d B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	90 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	52 e C	93 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	90 c B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	21 h D	52 d C	92 b B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	01 D	32 f C	88 c B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	95 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	24 g C	59 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	01 D	29 g C	67 e B	100 a A	100 a A

CV% = 6,51

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

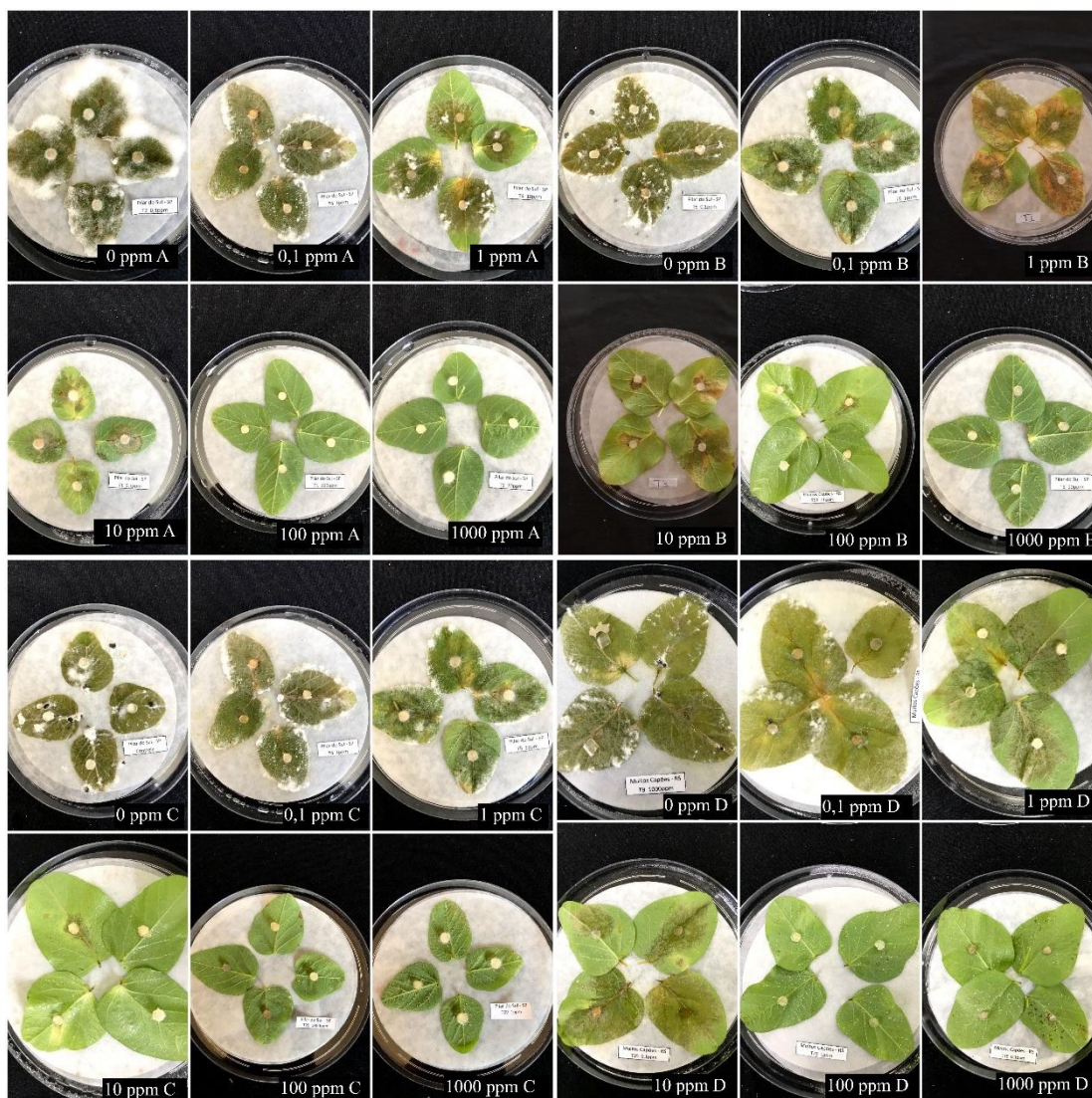


Figura 18. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da severidade da doença e produção de esclerídios do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muitos Capões-MT, em folhas de soja destacadas, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000ppm). A) Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida. C) Fluazinam + *T. Asperellum*¹. D) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*².

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Ensaio com folhas destacadas foi utilizado por Pratt e Rowe (1995) para inocular *S. sclerotiorum* em alfafa, e em folhas de soja por Chun et al. (1987); Kim et al. (2000), Kull et al. (2003), Garcia (2008), e entre outros. Esse método apresenta a vantagem de permitir a avaliação de muitos genótipos rapidamente sem precisar utilizar uma plântula ou planta adulta.

Lehner et al. (2015) compararam o método da folha destacada e da ponteira (processo no qual corta-se plantas a um centímetro acima do nó cotiledonar, e inocula-se e fixa discos de micélio do fungo com auxílio de ponteiras de 200µL na haste seccionada)

na avaliação da agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* provenientes de plantas de feijão, e concluíram que a agressividade do fungo foi igual nos dois métodos.

Wegulo et al. (1998) testaram inúmeros métodos de inoculação do fungo *S. sclerotiorum* em casas-de-vegetação, incluindo inoculação de folhas, caules e folhas destacadas com micélio, e a resposta de caules destacados ao ácido oxálico. Eles demonstraram que a inoculação de folhas destacadas, níveis de pigmentação do caule na solução de ácido oxálico, tem maior correlação com resultados do campo, embora a repetibilidade dos experimentos seja baixa e as correlações de valor intermediário não foram significativas.

Grabicoski (2012) avaliou 57 isolados do fungo *S. sclerotiorum* de soja utilizando o método de inoculação em trifólio e constatou maior diferença significativa entre os isolados e menor variabilidade entre as repetições, sendo, portanto, superior ao método de inoculação na haste. Diante do exposto, concluíram que o método de inoculação de micélio do fungo *S. sclerotiorum* em folha trifólio de soja destacada apresentou a maior correlação entre ambiente controlado e campo.

Cardoso et al. (2015) avaliaram a eficiência de fungicidas no controle do mofo branco na cultura da soja, e obtiveram resultados satisfatórios na redução da severidade da doença com o uso de fungicidas tiofanato-metílico, procimidona e fluazinam, o mesmo resultado obtido por Meyer et al. (2015) na cultura da soja e Aguiar (2011) nas culturas do tomate e feijão com o *S. sclerotiorum* (VENEGAS; SAAD, 2010).

Berger (2015) verificou o uso de diferentes fungicidas no controle de *S. sclerotiorum* na cultura da canola e da soja e constatou que o fungicida procimidona (sistêmico) foi superior ao fluazinam (protetor) e reduziu a produção de escleródios, que seriam adicionados ao solo.

Oliveira et al. (1994), visando selecionar fungicidas potencialmente eficientes no controle de *S. sclerotiorum*, verificaram que os fungicidas vinclozolim, procimidona, carbendazim, benomil e procloraz apresentaram total inibição do crescimento micelial do fungo a partir de 1 ppm de ingrediente ativo. Fluazinam e tebuconazol tiveram o mesmo comportamento dos demais fungicidas a partir de 10 ppm. Trifenil hidróxido de estanho e pririmetamil somente proporcionaram 100% de inibição micelial de *S. sclerotiorum* na concentração de 100 ppm. Fluquinconazol foi o único que propiciou crescimento micelial em todas as doses testadas, porém diferindo da testemunha.

No presente trabalho, os fungicidas tiofanato-metílico, procimidona e fluazinam propiciaram as menores porcentagens de inibição da severidade da doença causada por

isolados de *S. sclerotiorum* de soja. Os fungicidas fluazinam e procimidona apresentaram 100% de inibição no crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum*, a partir da concentração de 100 ppm. Tiofanato-metílico controlou 100% a doença em folhas de soja causada pelos isolados Jaciara – MT e Muitos Capões - RS somente na concentração de 1000 ppm (Tabela 17 e 18). Esses resultados demonstram desacordo com os dados obtidos por Oliveira et al. (1994).

Mehta et al. (2012) obtiveram resultados satisfatórios no controle do mofo branco com o tratamento à base de *Trichoderma harzianum*. Os autores relataram uma redução linear do crescimento micelial e da produção de apotécio de *S. sclerotiorum*, além de reduzir o comprimento da lesão e a incidência da doença quando aplicado simultaneamente ou sete dias antes da inoculação do patógeno sob condições de casa de vegetação.

Gao et al. (2014) avaliaram a aplicação da bactéria *B. subtilis* no controle de *S. sclerotiorum*, e obtiveram redução da podridão do caule na cultura da canola em 50- 70%. Os autores observaram via microscopia de varredura que a estirpe avaliada causou vazamento e inchaço de citoplasma de hifas e subsequente desintegração e colapso da célula do fungo. O mesmo resultado foi relatado por Hu et al. (2014), que aplicaram *B. subtilis* e demonstraram supressão no crescimento do fungo *S. sclerotiorum*, em campos de canola na China.

No presente estudo e em ensaio *in vivo*, produtos biológicos à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* mostraram-se eficientes no controle do mofo branco causado por isolados de *S. sclerotiorum* em folhas destacadas de soja quando associados aos fungicidas, destacando-se *Trichoderma* + fungicidas, que apresentaram as melhores porcentagens de inibição da severidade da doença. Vale destacar que os produtos à base de *Trichoderma* e de *Bacillus*, quando utilizados isoladamente, mostraram-se ineficazes no controle de *S. sclerotiorum* da soja, em folhas destacadas de soja.

5.5.2. *In vivo* – Produção de escleródios em folhas destacadas por isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*

A formação de escleródios ocorreu após 10 dias da inoculação e a avaliação no 15º dia. O número médio de escleródios produzidos em folhas destacadas pelos isolados de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, Jaciara – MT, Muitos Capões – RS no tratamento controle foram de 13,3; 13 e 12,3 respectivamente (Tabela 19, 20 e 21). Dados

semelhantes foram encontrados por Abreu (2011), cuja produção de escleródios variou de 4 a 12 dias para a formação do primeiro escleródio. Os isolados avaliados por Grabicoski (2012) foram mais lentos para formação de escleródios e o tempo médio variou de 12 a 15 dias.

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente, apesar de não inibirem a severidade da doença, reduziram o número de escleródios em relação ao tratamento controle (Tabelas 19).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não impediram a produção de escleródios. As duas espécies *Trichoderma* e *Bacillus subtilis* (Serenade) foram iguais entre si, seguido de *B. subtilis* (Bio-Imune) deferindo da testemunha, propiciou maior produção de escleródios (Tabelas 19).

Na concentração de 0,1 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* causaram 100% de inibição da produção de escleródios, independentemente do produto utilizado, ou seja, ambas as espécies de *Trichoderma* foram eficientes. Nas misturas de fungicidas e o produto Bio-Imune® (*B. subtilis*) constataram-se formações de escleródios, principalmente para tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis* (1,7), fluazinam + *B. subtilis* (1,7), dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (1,8) e procimidona + *B. subtilis* (1,3), que foram iguais entre si, com menor produção de escleródios dentre os tratamentos mas diferenciando-se da testemunha. Para as misturas fungicidas + Serenade® constatou-se alta eficiência em todas as concentrações, ou seja, as misturas impediram totalmente a formação de escleródios do fungo (Tabelas 19).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas aplicados isoladamente como tiofanato-metílico; fluazinam inibiram a produção de escleródios, assim como as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* também propiciaram 100% de inibição da produção de escleródios (Tabelas 19).

Na concentração de 10 ppm, somente o fungicida tiofanato-metílico utilizado isoladamente propiciou-se a produção de escleródios (1,3). Constatou-se 100% de inibição da produção de escleródios nas misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e *Bacillus* (Tabelas 19).

Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente e as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*

e *Bacillus* inibiram totalmente o desenvolvimento da doença e conseqüentemente a produção de escleródios (Tabelas 19).

Tabela 19. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul - SP em folhas destacadas contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	13,3 e A	13,3 c A	13,3 b A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	3,8 b B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Fluazinam	5,2 c C	1,8 a B	0 a A	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	4,0 b C	1,8 a B	0 a A	0 a A	0 a A
Procimidona	3,8 b C	2,2 b B	0 a A	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico	7,5 d D	1,5 a B	1,3 a B	0 a A	0 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	2,7 b A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	2,5 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	2,5 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	5,3 c A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	1,7 a B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	1,7 a B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	1,8 a B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	1,3 a B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-

CV % = 5,58

Os dados de PIC (X) foram transformados em $\arcseno \sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT e nas concentrações 0,1, 1 e 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente reduziram o número de escleródios produzidos em relação ao tratamento controle (Tabelas 20). Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente impediram a produção de escleródios

(Tabelas 20).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm propiciaram produção de escleródios mas diferenciaram-se entre si quanto ao número. Isoladamente, o produto Bio-Imune® à base de *Bacillus* propicionou a maior produção de escleródios (Tabelas 20).

Na concentração de 0,1 ppm, houve 100% de inibição da produção de escleródios nas misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma*, independentemente do produto utilizado. Já para o produto Serenade® (*Bacillus subtilis*), houve formação de escleródios para a mistura envolvendo o fungicida fluazinam (2,5). Para o segundo produto (Bio-Imune®), houve formação de escleródios para as misturas envolvendo o fungicida tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis*² (4,2), fluazinam + *B. subtilis*² (5,8), procimidona + *B. subtilis*² (6,2) e tiofanato-metílico + *B. subtilis*² (5,5) (Tabelas 20).

Na concentração de 1 ppm, houve formação de escleródios para as misturas envolvendo tiofanato-metílico; fluazinam + Bio-Imune® (*B. subtilis*²) (1,3), fluazinam + *B. subtilis*² (2,2), procimidona + *B. subtilis*² (2) e tiofanato-metílico + *B. subtilis*² (1,3) (Tabelas 20).

Nas concentrações de 10, 100 e 1000 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e *Bacillus* inibiram 100% a produção de escleródios. Vale ressaltar que nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente também impediram totalmente a formação de escleródios do fungo. Outro fato é que produto Bio-Imune®+fungicidas só impediu totalmente a formação de escleródios, quando os fungicidas foram aplicados na concentração de 10 ppm (Tabelas 20).

Tabela 20. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara- MT em folhas destacadas contendo fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	13 g A	13 e A	13 d A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	8,7 f D	3,2 c C	1,0 b B	0 a A	0 a A
Fluazinam	9,0 f D	2,3 b C	1,5 c B	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	6,8 e D	3,7 d C	1,3 c B	0 a A	0 a A
Procimidona	5,5 c D	2,5 b C	0,3 a B	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico	6,2 d D	2,3 b C	1,5 c B	0 a A	0 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	7,2 c A

<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	7,5 c A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	6,2 b A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	8,7 d A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	2,5 a B	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	4,2 b C	1,3 a B	0 a A	0 a A	0 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	5,8 c C	2,2 b B	0 a A	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	6,2 d C	2,0 b A	0 a A	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	5,5 c C	1,3 a B	0 a A	0 a A	0 a A

CV % = 8,01

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões – RS e nas concentrações 0,1, 1 e 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente reduziram o número de escleródios em relação ao tratamento controle (Tabelas 18 e 21). Nas concentrações de 100 e 1000 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente bloquearam totalmente a produção de escleródios (Tabelas 21).

Houve produção de escleródios nos tratamentos com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e *Bacillus* na concentração de 1000 ppm, mas diferenciaram-se entre si quanto ao número. Isoladamente, o produto Trichodermil® à base de *T. harzianum* propiciou menor produção de escleródios (Tabelas 21).

Na concentração de 0,1 ppm e verificando *Trichoderma* + fungicidas, houve produção de escleródios somente na mistura envolvendo o produto fluazinam + *T. asperellum* (4,7). Já para a mistura envolvendo fungicidas + Serenade® (*Bacillus subtilis*)¹, houve formação de escleródios nas misturas com fluazinam + *B. subtilis*¹ (3,7) e procimidona + *B. subtilis*¹ (3,7). Na mistura envolvendo fungicidas + Bio-Imune® (*B. subtilis*)² houve formação de escleródios com tiofanato-metílico;fluazinam + *B. subtilis*² (5,3), fluazinam + *B. subtilis*² (6,7), procimidona + *B. subtilis*² (6) e tiofanato-metfílico +

*B. subtilis*² (Tabelas 21).

Na concentração de 1 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* impediram a produção de escleródios. Já para as misturas de fungicidas + Serenade® (*Bacillus subtilis*)¹ houve formação de escleródios somente com o fluazinam + *B. subtilis*¹ (1,3). Na mistura envolvendo fungicidas + Bio-Imune® (*B. subtilis*²) houve formação de escleródios com tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis*² (2), fluazinam + *B. subtilis*² (4), procimidona + *B. subtilis*² (2,9) e tiofanato-metílico + *B. subtilis*² (3,5) (Tabelas 18 e 21).

Na concentração de 10 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + Serenade® (*Bacillus subtilis*¹) permitiram a formação de escleródios somente para fluazinam + *B. subtilis*¹ (0,3). Para as misturas de fungicidas + Bio-Imune® (*B. subtilis*²) houve formação de escleródios somente com os produtos fluazinam + *B. subtilis*² (0,3) e procimidona + *B. subtilis*² (1,0) (Tabelas 21).

Nas concentrações 100 e 1000 ppm, as misturas envolvendo fungicidas + produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e *Bacillus* inibiram 100% a produção de produção de escleródios. Vale ressaltar que na concentração de 100 ppm, observou-se pela primeira vez a total inibição da formação de escleródios do fungos nas misturas envolvendo fungicidas + produtos à base de *Bacillus* (Tabelas 21).

Tabela 21. Número de escleródios formados pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões - RS em folhas destacadas fungicidas, produtos de controle biológico e suas associações, em diferentes concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm) / Média do número de escleródios				
	0,1	1	10	100	1000
Controle	12,3 i A	12,3 g A	12,3 f A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	9,6 g D	6,7 f C	3,0 d B	0 a A	0 a A
Fluazinam	7,5 f D	5,2 e C	1,0 b B	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	10,3 h D	4,2 d C	0 a A	0 a A	0 a A
Procimidona	9,7 g D	4,3 d C	1,3 c B	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico	9,3 g D	6,2 f C	3,8 e B	0 a A	0 a A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	6,5 b A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	7,7 c A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	7,5 c A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	7,3 c A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-

Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	4,7 c D	2,0 b C	0 a A	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	3,7 b D	1,3 a C	0,3 a B	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	2,0 a D	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	-	-	-	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	5,3 d D	2,0 b C	0 a A	0 a A	0 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	6,7 f D	4 d C	0,3 a B	0 a A	0 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	-	-	-	-	-
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	6,0 e D	2,9 c C	1,0 c B	0 a A	0 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	5,8 e D	3,5 c C	0 a A	0 a A	0 a A

CV% = 7,31

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x}/100$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

A utilização do fungicida fluazinam, além de diminuir a incidência do mofo-branco na cultura do feijoeiro, reduziu a quantidade de escleródios produzidos nas plantas (VIEIRA et al., 2001; PAULA JÚNIOR et al., 2009). O mesmo comportamento foi observado quando aplicado o fungicida na cultura da soja (HENNING et al., 2009), sendo que uma única aplicação de procimidone e fluazinam, na parte aérea das plantas de soja, foi capaz de reduzir a produção de escleródios (g/m²), quando comparado com demais fungicidas.

Camargo (2013) avaliou a eficiência de fluazinam, tiabendazol, piraclostribina, metalaxil-M, captana, carbendazim, difenoconazol, fludioxonil, fluquinconazol, flutriafol, tiofanato metílico, tiram e procimidona em *S. sclerotiorum*, e verificou que todos os fungicidas testados foram capazes de reduzir o crescimento micelial, bem como a produção de escleródios, em pelo menos de 45% a 69%.

A atividade de sete fungicidas (benomyl, carbendazim, fluazinam, fludioxonil + cymoxanil, iprodione, procymidone e vinclozolin) foi verificada por Oliveira (1998) contra o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. O autor verificou que fluazinam e fludioxonil + cymoxanil inibiram totalmente a formação de escleródios a partir de 1 ppm, para os isolados de Paracatu-MG e Holambra-SP. No presente estudo, os fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico reduziram a produção de escleródios dos isolados de *S. sclerotiorum* em folhas destacadas, nas concentrações de 0,1, 1 e 10 ppm,

comparadas ao controle, e a partir da concentração 100 ppm erradicou a produção de escleródio.

A redução da produção de escleródios é essencial para o controle efetivo do mofo branco, pois bloqueia a formação de apotécios e a ejeção de ascósporos e minimiza a produção de novos escleródios (GORGEN et al., 2010).

Segundo alguns pesquisadores (BARDIN; HUANG, 2001; ETHUR et al, 2001; DELGADO et al. 2007; KIM; KNUDSEN, 2009), a formação de escleródios por *S. Sclerotiorum*, quando em contato com o antagonista, é variável, estando este processo relacionado com a agressividade de cada espécie e isolado de *Trichoderma* spp. Produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* podem reduzir em 62,5% o número de escleródios viáveis do fungo *S. sclerotiorum* (MENENDEZ; GODEAS, 1998).

No presente estudo, os produtos de controle biológico à base de *T. asperellum* e *T. harzianum* + fungicidas mostraram-se mais eficientes no controle de *S. sclerotiorum* do que *B. subtilis*. A mistura Fluazinam + *T. asperellum* só erradicou a produção de escleródios do isolado de Muitos Capões -RS quando os fungicidas foram empregados na concentração de 10 ppm.

Com os resultados do ensaio em folhas destacadas de soja, pode-se dizer que as misturas de fungicidas e os produtos biológicos reduziram a produção de escleródio nas lesões nas folhas de soja, em comparação ao controle, podendo desta forma reduzir o inóculo inicial da doença no solo.

5.5.3. In vitro – Sensibilidade dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de soja

Na avaliação da sensibilidade dos isolados, o coeficiente de determinação (R^2) variou de 0,5 a 0,9062 para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP; de 0,5 a 0,9468 para Jaciara – MT e de 0,5 a 0,9467 para Muitos Capões – RS (item 4.5).

As CI_{50} obtidas para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP demonstraram que esse isolado foi altamente sensível para o fungicida tiofanato-metílico; fluazinam (0,41 ppm), moderadamente sensível aos fungicidas procimidona, dimoxistrobina; boscalida e tiofanato-metílico, com valores de 6,35; 7,09 e 8,7 ppm respectivamente e pouco sensível para o fungicida fluazinam (18,99 ppm). A CI_{95} para o mesmo isolado e verificando os mesmos fungicidas utilizados isoladamente variou de 16,48 a 39,42 ppm (Tabelas 22).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* não propiciaram nenhuma inibição da severidade da doença do isolado na concentração de 1000 ppm e com isso não foi possível calcular CI_{50} (Tabelas 22).

A mistura de fungicidas com o produto de controle biológico à base de *Bacillus* apresentou uma CL_{50} variando de 0,1 até 1,66 ppm. Sendo assim, essas misturas foram altamente sensíveis ao isolado do fungo. Nas misturas de fungicidas com *B. subtilis*¹ (Serenade), os menos eficazes foram dimoxistrobina + boscalida (1,66 ppm) e procimidona (1,44 ppm) (Tabelas 22).

Tabela 22. Equação da severidade da doença causada pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em folhas de soja destacadas contendo diferentes fungicidas e produtos de controle biológico aplicados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de Cl_{50} e Cl_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	$y = 1,064x + 5,416$	0,9053	0,41	16,48
Fluazinam	$y = 1,994x + 3,098$	0,8934	18,99	39,42
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,985x + 3,311$	0,8801	7,09	31,31
Procimidona	$y = 1,974x + 3,414$	0,8644	6,35	28,31
Tiofanato-Metílico	$y = 2,019x + 3,099$	0,9062	8,74	37,62
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0$	=#N/A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,476x + 7,034$	0,7924	-	0,76
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,392x + 7,306$	0,795	-	0,36
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,308x + 7,474$	0,5	-	0,14
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,208x + 7,674$	0,5	-	0,02
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 1,027x + 5,811$	0,7927	0,46	2,86
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,68x + 6,73$	0,765	0,51	0,74
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 1,259x + 5,227$	0,7956	1,66	6,86
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 1,265x + 5,241$	0,8	1,44	6,12
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,336x + 7,418$	0,5	-	0,2
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,484x + 7,122$	0,735	0,1	0,68
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,007x + 5,855$	0,7929	0,74	2,64
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,208x + 7,674$	0,5	-	0,01
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,817x + 6,231$	0,7951	0,03	1,14

Tiofanato-Metfílico + *B. subtilis*² $y = 1,007x + 5,871$ 0,7838 0,73 2,54

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI_{50} para o isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara - MT mostraram que o mesmo é moderadamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 1,21; 1,34 e 2,51 ppm para os produtos fluazinam, procimidona e dimoxistrobina; boscalida e para tiofanato-metfílico; fluazinam com CI_{50} de 9,51 ppm e tiofanato-metfílico com 8,89 ppm. A CI_{95} para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 10,63 a 69,09 ppm (Tabelas 23).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* não propiciaram nenhuma inibição da severidade da doença na concentração de 1000 ppm e com isso não foi possível calcular CI_{50} (Tabelas 23).

As misturas de fungicidas com *Trichoderma* e *Bacillus* apresentaram uma CI_{50} variando de 0,002 até 0,89 ppm, caracterizando-as como altamente sensíveis ao isolado do fungo. Independentemente do produto utilizado, a mistura que apresentou maior CI_{50} foi o fungicida Fluazinam + *B. subtilis* (Bio-Imune) (Tabelas 23).

Tabela 23. Equação da severidade da doença causada pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara – MT, em folhas de soja destacadas contendo diferentes fungicidas e produtos de controle biológico, aplicados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CI_{50})	ppm (CI_{95})
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	$y = 1,988x + 3,152$	0,8904	9,51	37,44
Fluazinam	$y = 1,26x + 4,894$	0,9468	1,21	12,58
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,299x + 4,849$	0,933	2,51	10,63
Procimidona	$y = 1,937x + 3,515$	0,8436	1,34	16,75
Tiofanato-Metfílico	$y = 1,856x + 2,992$	0,9129	8,89	69,09
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0$	=#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0$	=#N/A	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-

Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,382x + 7,326$	0,5	-	0,11
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,609x + 6,727$	0,7989	0,01	1,01
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,68x + 6,73$	0,765	0,002	1,21
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,788x + 6,318$	0,8	0,021	1,89
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,753x + 6,423$	0,7901	0,01	1,04
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,484x + 7,122$	0,735	0,64	10,12
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,175x + 5,057$	0,9493	0,89	10,98
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,76x + 6,402$	0,7936	0,014	1,19
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,075x + 5,241$	0,9423	0,71	12,25
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,951x + 5,561$	0,9361	0,26	15,71

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI_{50} para o isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões - RS mostraram que esse isolado é moderadamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 8,12, 6,86 e 7,49 ppm para os produtos fluazinam, dimoxistrobina; boscalida e procimidona e pouco sensível para tiofanato-metílico; fluazinam com 12,96 ppm e somente tiofanato-metílico com 14,57 ppm. A CI_{95} para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 17,5 a 101,34 ppm (Tabelas 24).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* não propiciaram nenhuma inibição da severidade da doença do isolado na concentração de 1000 ppm e com isso não foi possível calcular CI_{50} (Tabelas 24).

As misturas de fungicidas com o antagonista *Trichoderma* e *Bacillus* de forma geral controlaram eficientemente a severidade da doença causada pelo isolado do fungo e, conseqüentemente, não foi possível calcular a CL_{50} , somente para o produto Fluazinam + *T. asperellum* que se apresentou altamente sensível (0,85 ppm). As misturas com fluazinam + *B. subtilis* (Bio-Imune) apresentou uma CL_{50} de 5,43 ppm e tiofanato-metílico + *B. subtilis* (Bio-Imune) com 6,79 ppm, enquadrando o isolado como moderadamente sensível a essas misturas (Tabelas 24).

Tabela 24. Equação da severidade da doença causada pelo isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões – RS, em folhas de soja destacadas contendo diferentes

fungicidas e produtos de controle biológico aplicados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	$y = 1,931x + 2,851$	0,9392	12,96	59,67
Fluazinam	$y = 1,398x + 4,542$	0,9467	8,12	17,5
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 1,979x + 3,449$	0,8581	6,86	30,41
Procimidona	$y = 1,966x + 3,28$	0,8757	7,49	33,56
Tiofanato-Metílico	$y = 1,872x + 2,822$	0,9346	14,57	101,34
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0$	#N/A	-	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0$	#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0$	#N/A	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0$	#N/A	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,35x + 7,39$	0,5	-	0,12
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,392x + 7,306$	0,795	0,85	12,14
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 8,09$	0	-	-
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,428x + 7,234$	0,5	-	0,6
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,68x + 6,73$	0,765	0,21	11,02
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,362x + 7,366$	0,5	-	0,2
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,783x + 6,343$	0,7973	0,019	1,13
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,362x + 7,366$	0,5	-	0,18
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,484x + 7,122$	0,735	0,82	10,15
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,974x + 3,404$	0,866	5,43	18,63
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,29x + 7,51$	0,5	-	0,1
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,046x + 5,712$	0,7958	0,65	3,49
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 1,982x + 3,232$	0,8855	6,79	31,5

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

A CI_{50} , isto é, a concentração de ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial, constitui um valor particular para cada fungicida, para um determinado fungo. Quanto mais baixa for a CI_{50} , maior será a capacidade fungitóxica do produto (REIS et al., 2007). Com isso, a CI_{50} também constitui uma referência para monitorar a resistência de patógenos a fungicidas, tendo em vista identificar, ao longo dos anos, se houve a perda da sensibilidade por parte do fungo a um determinado fungicida (DE ROSSI et al., 2015).

Lee et al. (2011) relataram que no Japão, em 1997, foi detectado que o fungo *Diplocarpon mali* tornou-se resistente ao tiofanato-metílico, ocorrendo isso em todo o país e espalhando a alteração genética. Isso ocorreu possivelmente devido ao fato do uso

contínuo desse fungicida para o controle do patógeno. Sartorato (2006) avaliou *in vitro* oito isolados de *Colletotrichum lindemuthianum*, quanto ao crescimento micelial, em diferentes concentrações de fungicidas, e constatou que seis apresentaram-se insensíveis ao tiofanato-metílico nas doses de 750 e 1000 mg. L⁻¹.

O valor da CI₅₀ do isolado de *S. Sclerotiorum*, avaliado por Lehner (2015), demonstrou que o mesmo é resistente a tiofanato metílico, quando empregado em mais de 100 ppm. Valores muito menores de CI₅₀ foram encontrados no presente trabalho com esse fungicida sobre o mesmo patógeno.

Zhou et al. (2014) avaliaram isolados de *S. sclerotiorum* resistentes a carbendazim de diferentes regiões da China e encontraram valores de EC₅₀ variando de 98,7 a >1000 ppm. No presente estudo, o fungicida tiofanato-metílico apresentou CI₅₀ para os três isolados de *S. sclerotiorum* variando de 8,74 até no máximo 14,57 ppm. Esse ingrediente foi moderadamente sensível para os isolados de Pilar do Sul – SP e Jaciara – MT e pouco sensível para o isolado de Muitos Capões – RS.

De acordo com os dados do presente estudo, os fungicidas de forma geral devem ser monitorados no campo, para o controle dos isolados de *S. sclerotiorum*, pois as CI₅₀ obtidas indicam que esses isolados estão moderadamente e pouco sensíveis aos fungicidas, podendo se tornarem-se insensíveis aos mesmos.

5.6. Efeito dos produtos e suas misturas na germinação carpogênica e na avaliação da sensibilidade dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, em caixa gerbox contendo solo de barraco.

5.6.1. Germinação carpogênica dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, em caixa gerbox contendo solo de barranco regado com fungicida e misturas com produtos de controle biológico

Os escleródios dos isolados de *S. sclerotiorum* avaliados germinaram 100% no tratamento testemunha. Nas Tabelas 25, 26 e 27 estão apresentados os resultados das avaliações, após 50 dias da inoculação dos escleródios em caixas gerbox com solo de barranco, regado com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico, em cada isolado do fungo.

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram as menores porcentagens

de germinação carpogênica, em relação aos demais tratamentos. Constataram-se as menores porcentagens de inibição da germinação carpogênica do fungo nas seguintes misturas de fungicidas com o produto Bio-Imune: tiofanato-metílico; fluazinam + *B. subtilis*² (95%), fluazinam + *B. subtilis*² (93%), dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis*² (93%), procimidona + *B. subtilis*² (94%) e tiofanato-metílico + *B. subtilis*² (94%) (Tabela 25 e Figura 19).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não apresentaram total inibição da germinação carpogênica do fungo (46% até 68%) (Tabela 25).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram novamente os menores percentuais de inibição das estruturas do fungo em relação aos demais tratamentos. As únicas misturas de produtos que apresentaram 100% de inibição germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* e dimoxistrobina; boscalida + *B. subtilis* (Bio-Imune) (Tabela 25 e Figura 19).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição das estruturas do fungo. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico que não inibiram 100% a germinação carpogênica foram Tiofanato-Metílico + *T. harzianum* (99%), Fluazinam + *T. asperellum* (99%), Procimidona + *T. asperellum* (98%), Tiofanato-Metílico + *T. asperellum* (94%), Tiofanato-Metílico; Fluazinam + *B. subtilis* (Serenade) (97%), Fluazinam + *B. subtilis* (Serenade) (96%), Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis* (Serenade) (93%), Procimidona + *B. subtilis* (Serenade) (96%), Tiofanato-Metílico + *B. subtilis* (Serenade) (85%), Fluazinam + *B. subtilis* (Bio-Imune) (99%) e Procimidona + *B. subtilis* (Bio-Imune) (99%) (Tabela 25 e Figura 19).

Na concentração de 100 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram os menores percentuais de inibição em relação aos demais tratamentos. Nas misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico, a única que não inibiu 100% a germinação carpogênica foi Tiofanato-Metílico + *B. subtilis* (Serenade) (98%) (Tabela 25 e Figura 19).

Os fungicidas só controlaram 100% a germinação dos escleródios quando empregados na concentração de 1000 ppm, com exceção de fluazinam (98%) e tiofanato metílico (94%). As misturas de fungicidas na concentração de 1000 ppm com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todas inibiram 100% as estruturas do isolado do fungo (Tabela 25 e Figura 19).

Tabela 25. Porcentagem de inibição da germinação carpogênica, do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP, em caixa gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	20 k E	52 l D	81 g C	98 b B	100 a A
Fluazinam	19 k E	40 m D	57 h C	82 d B	98 b A
Dimoxistrobina; Boscalida	28 j E	50 l D	83 f C	97 b B	100 a A
Procimidona	22 k E	32 n D	56 h C	89 c B	100 a A
Tiofanato-Metílico	19 k E	30 n D	52 i C	78 e B	94 c A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	68 d A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	62 e A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	52 f A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	46 g A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	76 e C	93 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	82 c C	95 d B	100 a A	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	89 b B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	85 c C	94 e B	100 a A	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	79 d D	88 g C	99 b B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	73 f D	91 f C	100 a B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	80 d D	91 f C	99 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	85 c C	99 b B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	79 d D	90 f C	98 c B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	76 e D	83 h C	94 e B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	51 h D	79 i C	97 d B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	48 i D	74 j C	96 c B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	56 g D	79 i C	93 e B	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	53 h D	82 h C	96 d B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	43 i E	71 k D	85 f C	98 b B	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	95 a C	98 c B	100 a A	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	93 a D	96 d C	99 b B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	93 a B	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	94 a D	97 d C	99 c B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	94 a C	96 d B	100 a A	100 a A	100 a A

CV% = 11,95

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x}/100$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

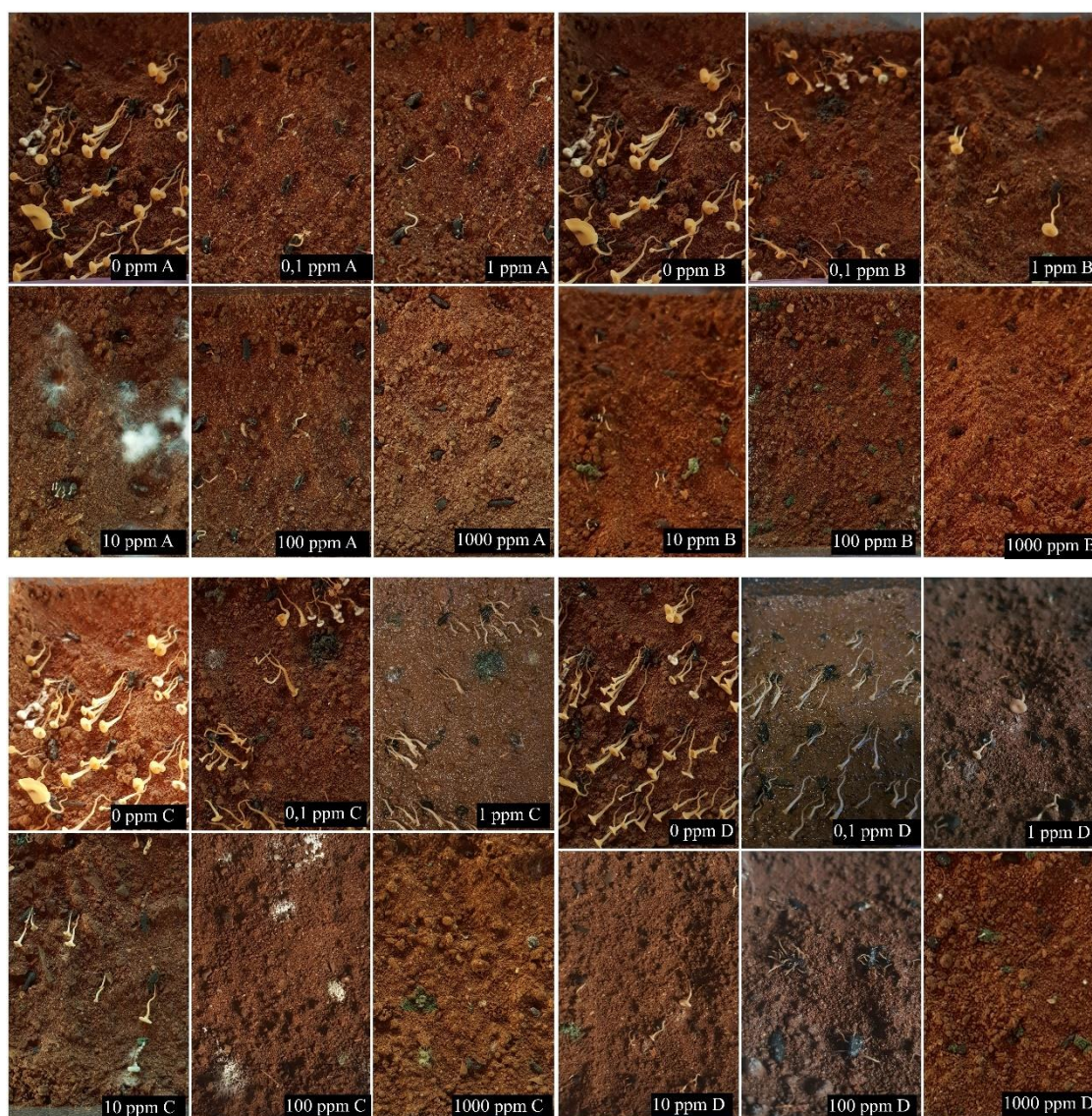


Figura 19. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Pilar do Sul – SP, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Tiofanato-Metílico; Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. harzianum*. C) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*¹. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*². ¹ Serenade; ² Bio-Imune

No isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara – MT e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram as menores porcentagens de inibição da germinação carpogênica em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* que propiciaram as menores porcentagens de inibição da germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* (73%) e procimidona + *T. harzianum* (75%) (Tabela 26 e Figura 20).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na

concentração de 1000 ppm não inibiram 100% a germinação carpogênica (35% até 52%) (Tabela 26).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram novamente os menores percentuais de inibição da germinação das estruturas do fungo em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* que apresentaram as maiores porcentagens de inibição da germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* (93%) e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum* (90%) (Tabela 26 e Figura 20).

Na concentração de 10 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram baixos percentuais de inibição da germinação carpogênica do fungo em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico que inibiram 100% a germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum* (Tabela 26 e Figura 20).

Na concentração de 100 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição da germinação carpogênica. As misturas de fungicidas + *Trichoderma* controlaram de 97-100% a germinação dos escleródios do fungo quando os fungicidas foram utilizados na concentração de 100 ppm. As misturas de fungicidas + *Bacillus* se comportaram de maneira idêntica e o controle variou de 95-100% (Tabela 26 e Figura 20).

Os fungicidas só controlaram 100% a germinação dos escleródios do fungo quando empregados na concentração de 1000 ppm, com exceção de tiofanato metílico + fluazinam, fluazinam e tiofanato metílico. As misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todas inibiram 100% as estruturas do isolado do fungo (Tabela 26 e Figura 20).

Tabela 26. Porcentagem de inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara – MT, em caixa gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	14 i E	43 g D	72 h C	79 d B	95 b A
Fluazinam	13 i E	32 h D	51 i C	79 d B	98 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	27 g E	43 g D	79 g C	95 c B	100 a A
Procimidona	19 h E	28 i D	52 i C	92 d B	100 a A
Tiofanato-Metílico	11 i E	26 i D	40 j C	71 e B	89 c A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	52 d A

<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	53 d a
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	40 e A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	35 f A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	65 b D	81 c C	95 c B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	61 c D	81 c C	96 c B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	73 a C	93 a B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	75 a D	87 b C	98 b B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	56 c E	75 d D	87 f C	97 b B	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	59 c D	79 d C	91 d B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	57 c D	75 d C	92 d B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	72 a C	90 a B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	66 b D	83 c C	95 c B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	49 d E	68 f D	83 f C	95 c B	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	44 f D	76 d C	89 e B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	42 f D	66 f C	87 f B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	51 d D	73 e C	86 f B	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	50 d D	74 e C	87 f B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	39 f E	68 f D	84 f C	96 c B	100 a A
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	45 e E	76 d D	86 f C	99 a B	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	41 f D	66 f C	83 f B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	48 e D	71 e C	84 f B	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	46 e D	73 e C	86 f B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	42 f E	65 f D	84 f C	95 c B	100 a A

CV% = 9,56

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune





Figura 20. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Jaciara – MT, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Fluazinam. B) Procimidona + *T. harzianum*. C) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*¹. D) Tiofanato-Metfílico + *B. subtilis*².

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Na análise do isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões – RS e na concentração de 0,1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente propiciaram as menores porcentagens de germinação carpogênica em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* que apresentaram as menores porcentagens de inibição da germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* (72%) e procimidona + *T. harzianum* (74%) e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum* (70%). (Figura 21 e Tabela 27).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm não apresentaram total inibição da germinação carpogênica (31% até 49%) (Tabela 27).

Na concentração de 1 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição da germinação carpogênica em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas com produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* que apresentaram as menores porcentagens de inibição da germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* (92%) e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum* (89%) (Figura 21 e Tabela 27).

Na concentração de 10 e 100 ppm, os fungicidas utilizados isoladamente apresentaram os menores percentuais de inibição da germinação carpogênica em relação aos demais tratamentos. As misturas envolvendo fungicidas na concentração de 10 ppm

com produtos de controle biológico que inibiram 100% a germinação carpogênica foram dimoxistrobina; boscalida + *T. harzianum* e dimoxistrobina; boscalida + *T. asperellum* (Figura 21 e Tabela 27).

As misturas de fungicidas + *Trichoderma* controlaram de 98-100% a germinação dos escleródios do fungo quando os fungicidas foram utilizados na concentração de 100 ppm. As misturas de fungicidas + *Bacillus* se comportaram de maneira idêntica e o controle variou de 95-100% (Figura 21 e Tabela 27).

Os únicos fungicidas que controlaram 100% a germinação dos escleródios quando empregados na concentração de 1000 ppm, foram dimoxistrobina + boscalida e procimidona. As misturas de fungicidas com produtos de controle biológico não apresentaram diferenças entre si, todas inibiram 100% as estruturas do isolado do fungo (Figura 21 e Tabela 27).

Tabela 27. Porcentagem de inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muitos Capões – RS, em caixa gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico, utilizados isoladamente ou em combinação com diferentes concentrações.

Tratamentos	Fungicidas				
	Concentrações (PPM) / PIC (%)				
	0,1	1	10	100	1000
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	9 h E	39 f D	70 g C	78 d B	94 b A
Fluazinam	9 h E	29 g D	48 h C	78 d B	99 a A
Dimoxistrobina; Boscalida	23 f E	41 f D	78 f C	94 c B	100 a A
Procimidona	14 g E	24 h D	49 h C	81 d B	100 a A
Tiofanato-Metfílico	7 h E	22 h D	37 i C	70 e B	88 c A
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	-	49 d A
<i>Trichoderma asperellum</i> *	-	-	-	-	50 d A
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	-	-	-	-	36 e A
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	-	-	-	-	31 f A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	63 b D	80 b C	95 c B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	59 c D	80 b C	96 c B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	72 a C	92 a B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	74 a D	86 b C	98 b B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	53 d E	73 c D	86 e C	98 b B	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	57 c D	78 c C	91 d B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	55 c D	73 c C	91 d B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	70 a C	89 a B	100 a A	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	65 b D	81 b C	95 c B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	47 d E	67 d D	82 e C	95 c B	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	41 e D	75 c C	88 d B	100 a A	100 a A
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	38 e D	64 d C	86 e B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	48 d D	71 c C	85 e B	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	47 d D	73 c C	86 e B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	36 e E	66 d D	84 e C	96 c B	100 a A
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	42 e E	74 c D	85 e C	99 c B	100 a A

Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	37 e D	64 d C	82 e B	100 a A	100 a A
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	46 d D	69 c C	83 e B	100 a A	100 a A
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	43 e D	71 c C	84 e B	100 a A	100 a A
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	39 e E	63 e D	83 e C	95 c B	100 a A
CV% = 13,40					

Os dados de PIC (X) foram transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Concentração de 1000 ppm.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

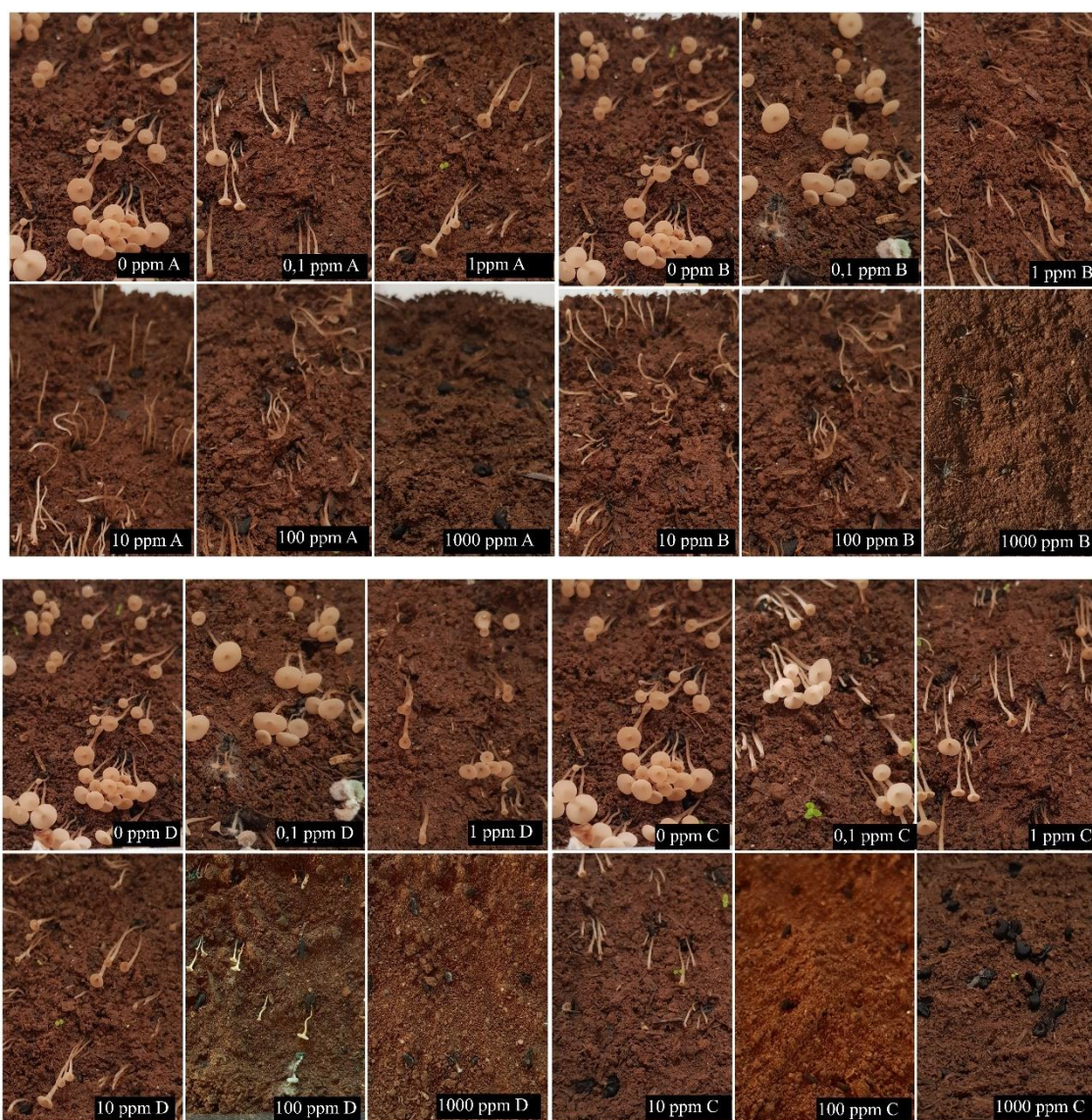


Figura 21. Associação dos produtos químicos e biológicos na inibição da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, de Muitos Capões – RS, em caixas gerbox contendo terra, nas diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10; 100 e 1000 ppm). A) Tiofanato-Metílico; Fluazinam. B) Dimoxistrobina; Boscalida + *T. harzianum*. C) Tiofanato-Metílico + *B. subtilis*¹. D) Dimoxistrobina; Boscalida + *B. subtilis*².

¹ Serenade; ² Bio-Imune

Vários fatores podem determinar o tipo de germinação, entre eles, as condições ambientais e a quantidade de nutrientes disponíveis no escleródio. Conforme REIS et al. (2011), a germinação dos escleródios é mais dependente do teor de água do substrato do que sua composição nutricional.

Iqbal et al. (2003), ao testarem diferentes fungicidas comerciais como benomil, metalaxil + mancozebe, thiabendazol, tiofanato metílico, observaram total inibição do crescimento e da germinação dos escleródios de *S. sclerotiorum* quando empregados nas concentrações de 50 e 100 ppm.

No entanto, Costa e Costa (2004) observaram a inibição de 100% na formação de estipes e apotécios de *S. sclerotiorum* utilizando o fungicida Vinclozolin. Já o fungicida Fluazinam permitiu apenas a formação de estipes inviáveis, não formando apotécios, entretanto para a germinação miceliogênica, o Tiofanato metílico reduziu 75%, seguido dos fungicidas Procimidona e Vinclozolin. Esses dados de Costa e Costa (2004) diferem do presente trabalho onde se constatou a formação de apotécios para o fungicida fluazinam.

Steadman e Nickerson (1975) e Hawthorne e Jarvis (1973) observaram grande impacto na formação de estipes a partir de escleródios, quando aplicado o fungicida tiofanato-metílico em solo. No presente estudo, observou-se as menores porcentagem de inibição de apotécios de escleródios de *S. sclerotiorum* de soja quando empregou-se o fungicida tiofanato metílico nas concentrações de 1000 ppm.

Oliveira (1998) relatou que os escleródios germinaram menos quando foram incubados em ágar-água, contendo os fungicidas fluazinam, procymidone, vinclozolin e benomyl, em comparação à testemunha. Entretanto, quando os escleródios foram colocados no solo com fungicidas, apenas o fungicida procymidone não diferiu da testemunha quanto a germinação.

No corrente estudo, os fungicidas tiofanato-metílico; fluazinam, tiofanato-metílico e fluazinam apresentaram as menores porcentagem de inibição da germinação carpogênica. Os fungicidas dimoxistrobina; boscalida e procimidona apresentaram 100% de inibição das estruturas de resistência dos isolados de *S. sclerotiorum*, quando testados na concentração de 1000 ppm. Dentre os fungicidas testados, tiofanato-metílico foi o que apresentou o menor percentual de inibição da germinação carpogênica para os três isolados de *S. sclerotiorum* (Tabela 25, 26 e 27).

A utilização de *Trichoderma* spp. pode inibir em até 100% a germinação de escleródios de *Sclerotinia* (HADDAD, 2017). No Brasil, em escala comercial, o

parasitismo de escleródios com *Trichoderma* via aplicação aérea gira em torno de 30 % (GORGEN et al., 2009) a 70 % (GERALDINE et al., 2013).

Segundo Bettiol e Kimati (1990), o potencial inibitório de *B. subtilis* tem sido expressivo em muitos patógenos presentes no solo como *Rhizoctonia solani* e *Fusarium moniliforme*. Para *S. sclerotiorum*, os resultados obtidos de ensaios cooperativos realizados em diferentes regiões produtoras de soja têm evidenciado grande potencial de espécies de *Bacillus* na inviabilização de escleródios no solo (MEYER et al., 2016).

Os resultados desses ensaios demonstram que é possível reduzir o potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* no solo, pelo emprego de misturas de fungicidas com produto de controle biológico, independentemente de condições ambientais favoráveis para colonizar e afetar a viabilidade dos escleródios. Os biofungicidas testados inibiram significativamente a capacidade de formação de apotécios, o que pode contribuir para a redução da incidência de mofo-branco nas lavouras de soja. No entanto, vale ressaltar que o uso isolado de produtos biológicos no solo não demonstrou ser eficaz no impedimento da germinação carpogênica das estruturas de resistência do fungo *S. sclerotiorum*.

5.6.2. Sensibilidade dos isolados do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* na germinação carpogênica, em caixa gerbox contendo solo de barranco regado com fungicidas e misturas com produtos de controle biológico

Na avaliação da sensibilidade dos isolados, o coeficiente de determinação (R^2) variou de 0,5 a 0,99958 para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP; de 0,5 a 0,9883 para Jaciara – MT e de 0,5 a 0,979 para Muitos Capões – RS (item 4.5).

As CI_{50} obtidas para o isolado de *S. sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP demonstraram que esse isolado foi altamente sensível para os fungicidas tiofanato-metílico + fluazinam (0,86 ppm) e dimoxistrobina; boscalida (0,97 ppm). O isolado em questão foi moderadamente sensível aos fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico, com valores de CI_{50} de 1,69; 2,06 e 4,83 ppm, respectivamente. Os fungicidas que precisaram maior quantidade para controlar o fungo foram procimidona (2,06 ppm) e tiofanato metílico (4,83 ppm). A CI_{95} para o mesmo isolado e verificando os mesmos fungicidas utilizados isoladamente variou de 10,44 a 583,24 ppm (Tabelas 28).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm demonstram que o isolado em questão foi altamente sensível

e os valores CI_{50} variaram de 0,01 a 0,12 ppm. No entanto, apesar da sensibilidade não houve 100% de impedimento da germinação carpogênica do fungo. Já as misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico demonstraram que esse isolado foi altamente sensível, com CI_{50} variando de 0,002 a 0,9 ppm (Tabelas 28).

Tabela 28. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Pilar do Sul – SP, em caixas gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CI_{50})	ppm (CI_{95})
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	$y = 0,986x + 5,06$	0,9958	0,86	17,27
Fluazinam	$y = 0,922x + 5,146$	0,9864	1,69	26,97
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 0,703x + 4,701$	0,9689	0,97	10,44
Procimidona	$y = 0,942x + 4,704$	0,9045	2,06	47,1
Tiofanato-Metfílico	$y = 0,615x + 4,579$	0,9813	4,83	583,24
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0,524x + 7,042$	0,5	0,01	-
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0,556x + 6,978$	0,5	0,01	-
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0,608x + 6,874$	0,5	0,1	-
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0,638x + 6,814$	0,5	0,12	-
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. Harzianum</i>	$y = 0,637x + 6,655$	0,7999	0,01	0,25
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,579x + 6,787$	0,8	0,002	0,13
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Harzianum</i>	$y = 0,372x + 7,346$	0,5	-	0,0013
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,564x + 6,808$	0,7959	0,006	1,01
Tiofanato-Metfílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,647x + 6,453$	0,9254	0,05	1,23
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>T. Asperellum</i>	$y = 0,671x + 6,573$	0,7991	0,004	1,04
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,625x + 6,513$	0,9365	0,003	0,42
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Asperellum</i>	$y = 0,486x + 7,042$	0,7379	-	0,02
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,637x + 6,427$	0,9452	0,005	1,01
Tiofanato-Metfílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,69x + 6,188$	0,9033	0,01	1,35
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,86x + 5,88$	0,9403	0,9	2,91
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,873x + 5,831$	0,9464	0,52	3,26
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,816x + 5,908$	0,9373	0,007	10,12
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,819x + 5,967$	0,9497	0,06	4,41
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,804x + 5,506$	0,9814	0,76	11,23
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,394x + 7,198$	0,7985	-	0,1
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,456x + 6,892$	0,9398	-	0,12
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,322x + 7,446$	0,5	-	0,1
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,429x + 6,959$	0,9441	-	0,02
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,442x + 7,072$	0,7789	-	0,016

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI_{50} para o isolado de *S. sclerotiorum* de Jaciara - MT mostraram que esse isolado é moderadamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 2,81; 4,59; 2,76; 2,76 e 2,38 ppm para os produtos tiofanato-metílico; fluazinam, fluazinam, dimoxistrobina; boscalida e procimidona. Para o produto tiofanato-metílico, o valor da CI_{50} foi de 12,92 ppm e isso denotou que o isolado se mostrou pouco sensível a este fungicida. A CI_{95} para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 105,45 a 1607,75 ppm (Tabelas 29).

Os produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm demonstram que o isolado em questão foi altamente sensível a esses produtos e os valores CI_{50} variaram de 0,008 a 0,04 ppm. No entanto, novamente apesar da sensibilidade, não houve 100% de impedimento da germinação carpogênica do fungo. Já as misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico demonstraram que esse isolado foi altamente sensível, com CI_{50} variando de 0,001 a 0,53 ppm (Tabelas 29).

Tabela 29. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Jaciara - MT, em caixas gerbox contento terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metílico; Fluazinam	$y = 0,643x + 4,711$	0,9718	2,81	275,51
Fluazinam	$y = 0,764x + 4,494$	0,9689	4,59	217,61
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 0,922x + 5,028$	0,9676	2,76	105,45
Procimidona	$y = 0,993x + 4,625$	0,9181	2,38	146,41
Tiofanato-Metílico	$y = 0,611x + 4,321$	0,9883	12,92	1607,75
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0,608x + 6,874$	0,5	0,008	0,11
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0,602x + 6,886$	0,5	0,007	0,09
<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0,668x + 6,754$	0,5	0,002	0,19
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0,696x + 6,698$	0,5	0,003	0,26
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. Harzianum</i>	$y = 0,761x + 6,057$	0,9361	0,04	5,96
Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,783x + 6,035$	0,9453	0,04	2,05
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Harzianum</i>	$y = 0,657x + 6,615$	0,7998	0,003	1,3
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,68x + 6,326$	0,9428	0,001	1,56
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,709x + 5,675$	0,9568	0,1	17,13
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. Asperellum</i>	$y = 0,8x + 5,912$	0,9214	0,07	12,88
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,824x + 5,864$	0,9277	0,088	11,19
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. Asperellum</i>	$y = 0,683x + 6,543$	0,7983	0,005	1,56
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,75x + 6,086$	0,9372	0,03	1,81
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,741x + 5,483$	0,9352	0,22	111,91
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,886x + 5,708$	0,931	0,21	16,5

Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,926x + 5,578$	0,9249	0,23	15,72
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,86x + 5,72$	0,9071	0,14	14,47
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,863x + 5,727$	0,9147	0,15	14,87
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,802x + 5,402$	0,9684	0,53	52,45
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,806x + 5,61$	0,9785	0,17	16,78
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,932x + 5,53$	0,9112	0,26	16,37
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,882x + 5,652$	0,9029	0,18	15,15
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,886x + 5,668$	0,916	0,17	14,91
Tiofanato-Metfílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,783x + 5,399$	0,9543	0,31	98,34

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

As CI_{50} para o isolado de *S. sclerotiorum* de Muitos Capões - RS mostraram que esse isolado é moderadamente sensível aos fungicidas utilizados isoladamente, com valores variando de 4,39 e 1,14 ppm para os produtos tiofanato-metfílico; fluazinam e dimoxistrobina; boscalida e pouco sensível para os produtos fluazinam com valor de 11,39 ppm, procimidona (13,68 ppm) e tiofanato-metfílico (18,46 ppm). A CI_{95} para o mesmo isolado nos fungicidas utilizados isoladamente apresentaram valores variando de 126,78 a 1594,86 ppm (Tabelas 30).

Os resultados dos produtos de controle biológico à base de *Trichoderma* e de *Bacillus* na concentração de 1000 ppm demonstram que o isolado em questão foi altamente sensível aos produtos, com valores de CI_{50} variando de 0,1 a 0,5 ppm. Apesar da sensibilidade, não houve 100% de impedimento da germinação carpogênica do fungo.

Já as misturas envolvendo os fungicidas + produtos de controle biológico demonstraram que esse isolado foi altamente sensível às misturas e com CI_{50} variando de 0,01 a 0,46ppm (Tabelas 30).

Tabela 30. Equação da germinação carpogênica do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* de Muitos Capões - MT, em caixas gerbox contendo terra regada com fungicidas e produtos de controle biológico utilizados isoladamente, ou em combinação com diferentes concentrações e, também, os valores de CI_{50} e CI_{95} .

Tratamentos	Equações de ajuste	R ²	ppm (CL ₅₀)	ppm (CL ₉₅)
Tiofanato-Metfílico; Fluazinam	$y = 0,683x + 4,561$	0,9634	4,39	1002,12
Fluazinam	$y = 0,866x + 4,366$	0,955	11,39	162,24
Dimoxistrobina; Boscalida	$y = 0,944x + 4,944$	0,9685	1,14	126,78
Procimidona	$y = 0,993x + 4,437$	0,8908	13,68	142,77
Tiofanato-Metfílico	$y = 0,661x + 4,163$	0,993	18,46	1594,86
<i>Trichoderma harzianum</i> *	$y = 0,624x + 6,842$	0,5	0,1	0,12
<i>Trichoderma asperellum</i> *	$y = 0,618x + 6,854$	0,5	0,1	0,12

<i>Bacillus subtilis</i> ¹ *	$y = 0,69x + 6,71$	0,5	0,4	0,23
<i>Bacillus subtilis</i> ² *	$y = 0,718x + 6,654$	0,5	0,5	0,3
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,777x + 6,021$	0,938	0,04	2,15
Fluazinam + <i>T. Harzianum</i>	$y = 0,797x + 6,003$	0,9456	0,05	2,22
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,67x + 6,582$	0,8	0,04	2,35
Procimidona + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,691x + 6,299$	0,941	0,01	2,93
Tiofanato-Metílico + <i>T. harzianum</i>	$y = 0,746x + 5,636$	0,9685	0,01	12,46
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,814x + 5,88$	0,9243	0,08	13,11
Fluazinam + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,84x + 5,812$	0,9241	0,01	10,42
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,7x + 6,504$	0,7981	0,01	1,47
Procimidona + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,761x + 6,057$	0,9361	0,02	8,56
Tiofanato-Metílico + <i>T. asperellum</i>	$y = 0,754x + 5,448$	0,9381	0,46	102,45
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,906x + 5,654$	0,9304	0,19	14,91
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,953x + 5,509$	0,9266	0,29	16,44
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,882x + 5,662$	0,9085	0,18	15,02
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,882x + 5,676$	0,9147	0,17	14,83
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ¹	$y = 0,824x + 5,352$	0,9736	0,37	53,37
Tiofanato-Metílico; Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,827x + 5,553$	0,979	0,21	17,56
Fluazinam + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,957x + 5,469$	0,9146	0,32	17,03
Dimoxistrobina; Boscalida + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,897x + 5,609$	0,9022	0,21	15,59
Procimidona + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,908x + 5,6$	0,9119	0,22	15,61
Tiofanato-Metílico + <i>B. subtilis</i> ²	$y = 0,805x + 5,341$	0,9585	0,38	114,67

Sensibilidade de *S. sclerotiorum* frente aos fungicidas, produtos de controle biológico e misturas foi classificada de acordo com os critérios de Edgington et al. (1971), como altamente sensíveis ($CI_{50} < 1$ ppm); moderadamente sensíveis (CI_{50} de 1- 10 ppm); pouco sensíveis (CI_{50} 10-50 ppm) e insensíveis ($CI_{50} > 50$ ppm).

*Concentração de 1000 ppm.

-: ausência de dados.

¹ Serenade; ² Bio-Imune

A fungitoxicidade de fungicidas é uma propriedade inerente a uma substância química e caracteriza-se pela toxicidade dos fungos em baixas concentrações. Parâmetros como CE_{50} (concentração efetiva ou eficaz, que promove a inibição de 50% do desenvolvimento dos microorganismos), DE_{50} (dose efetiva), DL_{50} (dose letal), CL_{50} (concentração letal), CE_{50} (concentração efetiva), CI_{50} (concentração inibitória) ou CMI (concentração mínima inibitória) podem definir a fungitoxicidade de uma substância química (EDGINGTON et al., 1971; REIS et al., 2010). Para avaliar a fungitoxicidade de uma substância química, pode-se utilizar também os parâmetros ED_{50} que representa a dose necessária para inibir 50% do crescimento micelial do patógeno (PEREIRA et al., 2002; BAMPI et al., 2013) e o ED_{95} que representa a dose necessária para inibir 95% do crescimento micelial do patógeno (NERI et al., 2006).

Trabalho realizado por Menten et al. (1995) classificaram *in vitro* que *S. sclerotiorum* do feijoeiro como altamente sensível ($ED_{50} < 1$ ppm) aos fungicidas clorothalonil, tebuconazol, procimidone, iprodione, tiofanato metílico + clorothalonil, captan, vinclozolin, tiofanato metílico e benomyl.

Em algodoeiro, o fungo *M. roridum* demonstrou ser *in vitro* altamente sensível aos fungicidas carbendazim e tiofanato metílico (SILVA et al., 2006).

No presente estudo, o fungicida tiofanato-metílico apresentou CI_{50} para os três isolados de *S. sclerotiorum* variando de 4,83 até no máximo 18,46 ppm. Esse ingrediente foi moderadamente sensível para o isolado de Pilar do Sul – SP e pouco sensível para os isolados de Jaciara – MT e de Muitos Capões – RS.

De acordo com os dados do presente estudo, os fungicidas de forma geral devem ser monitorados no campo para o controle do isolados, principalmente o tiofanato metílico, pois as CI_{50} obtidas indicam que esses isolados estão se tornando moderadamente e pouco sensíveis aos fungicidas e podem se tornar insensíveis aos mesmos.

6. CONCLUSÕES

- Todos os isolados de *S. sclerotiorum* foram patogênicos em folhas de soja destacadas, com diferenças de agressividade entre eles.
- Os valores de pH dos fungicidas e, principalmente, da mistura fungicidas + produtos de controle biológico ficaram dentro da normalidade para aplicação no campo.
- Não há incompatibilidade física na calda dos fungicidas com produtos de controle biológico, quando a mesma ficou em água em constante agitação.
- Os fungicidas interferiram mais efetiva e negativamente sobre o crescimento do antagonista *Bacillus* do que do *Trichoderma*.
- Os fungicidas associados aos antagonistas *Trichoderma* e *Bacillus* proporcionaram maiores porcentagens de inibição do mofo branco (*S. sclerotiorum*), quando comparados ao uso isolado dos fungicidas, bem como inibiram nova produção de escleródios (inóculo) e impediram a germinação carpogênica das estruturas;
- Dentre as metodologias testadas, o método de inoculação com disco de BDA em folhas destacadas de soja reproduziu de forma eficiente os sintomas da doença e pode demonstrar melhor o que pode acontecer no campo com a aplicação, principalmente, das misturas nas plantas de soja visando o controle do mofo branco;
- Todos os isolados de *S. sclerotiorum* mostraram-se altamente sensíveis aos fungicidas quanto ao crescimento micelial, com exceção dos isolados de Jaciara – MT e Muitos Capões – RS que enquadraram-se como moderadamente sensíveis especificamente ao tiofanato-metílico;
- Os isolados mostraram-se moderadamente sensíveis aos fungicidas quando testados para o controle da severidade da doença, com exceção dos isolados de Pilar do Sul – SP e de Muitos Capões – RS que foram pouco sensíveis ao fluazinam e tiofanato-metílico;
- Na germinação carpogênica, os isolados comportaram-se desde altamente sensíveis a pouco sensíveis aos fungicidas, em especial o de Muitos Capões-RS foi pouco sensível aos fungicidas fluazinam, procimidona e tiofanato-metílico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, M. T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 27, n. 10, p. 1354-1359. 2008.
- ABREU, G. S.; GROGN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 899-903. 2011.
- AGRIOS, G. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press. 4 ed. p. 635. 1997.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 15 fev. 2021.
- AGUIAR, R.A. de. **Manejo do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum* L.) em tomateiro industrial**. 2011.95f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás. 2011.
- ALMEIDA, A.; SEIXAS, C. (Ed.). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja. p.73-104. 2010.
- 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 (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZNDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres LTDA, 4. ed, v. 2, p. 607. 2005.
- 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**, v. 112, n. 1, p. 159–74, 2012.
- ALVES, S.B., A. MOINO Jr. & J.E.M. Almeida. **Produtos fitossanitários e entomopatógenos**, p. 217-238. Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p. 1998.
- ANDREWS, J. The domesticated Capsicums. Austin: University of Texas Press. **Peppers**: 170 p. 1984.
- ARAÚJO, F. G.; ZAMBIASI, T.; FIGUEIREDO, A.; Compatibilidade testada com nematicida químico. *Revista Cultivar. Grandes Culturas*. p.11, 2021.
- ARUNASRI, P.; CHALAM, T. V.; REDDY, N. P. E.; REDDY, S. T. & REDDY, B. R. Investigations on fungicidal sensitivity of *Trichoderma* spp. and *Sclerotium rolfsii* (36 Collar rot pathogen) in *Crossandra*. **Internacional Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 2, p. 290-293, 2011.
- ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; MELO, S.

C. M. **Seleção de isolados de *Trichoderma spp.* antagônicos a *Sclerotium rolfii* e *Sclerotinia sclerotiorum*.** Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2005 (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 117).

AYED, H. B.; HMIDET, N.; BÉCHT, M.; CHOLLET, M.; CHATAIGNÉ, G.; LECLÉRE, V.; JACQUES, P.; NARSI, M. Identification and biochemical characteristics of lipopeptides from *Bacillus mojavensis*. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 1699-1707, 2014.

BAGWAN, N. B. Evaluation of *Trichoderma* compatibility with fungicides, pesticides, organic cakes and botanicals for integrated management of soil borne diseases of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **International Journal of Plant Protection**, v. 3, n. 2, p. 206-209, 2010.

BAIS, H.P.; FALL, R.; VIVANCO, J.M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of Arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. **Plant Physiology**, v. 134, p. 307–319, 2004.

BAMPI, D.; CASA, R.T.; WORDELL FILHO, J.Á.; BLUM, M. M. C.; CAMARGO, M.C. Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n. 4, p.787-795, 2013.

BARDIN, S. D.; HUANG, H. C. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. **Canadian Journal Plant Pathology**, v. 23, p. 88-98, 2001.

BARDIN, S.D; HUANG, H.C. Research on biology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* on biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 21-24, 2007.

BERGER, A. N. **Controle do mofo branco: efeito de pontas e volumes de pulverização em soja e produtos biológicos em soja e canola.** 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2015.

BERUSKI, G.C. **Incidência e severidade de mofo-branco em soja cultivada sob diferentes densidades populacionais e espaçamentos.** 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA, Ponta Grossa, 2013.

BETTIOL, W.; KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.25, p.1165-1174. 1990.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Org.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente. P. 7-14, 2009.

BIANCHINI, A.; MARRIZONI, A. C.; CAMEIRO, S. N. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos.** 4. ed. São Paulo, v. 2, p. 333-349, 2005.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Pathology**. v.16, 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**, v. 7, p. 01-16, 2006.

BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 61 p. 1987.

BORELLI, J. A.; BROMEL, L. G.; FURLAN, S. H. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial e a produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM. **Tropical Plant Pathology**, v. 38. 2012.

BOTELHO, L. da S. **Deteção, transmissão e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja**. 2011. 165f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 399 p. 2019.

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**, v. 5, p. 513–522, 1995.

BUENO, C.J.; AMBRÓSIO, M.M. de Q.; SOUZA, N.L. de. Ocorrência de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em *Aster ericoides* L. (White Show) no estado de São Paulo, Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 293-294, 2006.

CAMARGO, M. ***Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja: sobrevivência, efeito na germinação, tamanho de amostra para análise e eficiência in vitro defungicidas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

CAMPBELL, W. A. A new species of *Coniothyrium* parasitic on sclerotia. **Mycologia**, v. 39, p. 190–195, 1947.

CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; CABRAL, D. A. C.; SILVA, J. R. C.; RIBEIRO, G. C.; SILVA, R. S. Eficácia de Fungicidas para Controle de Mofo branco na Cultura da Soja na Safra 2010/2011, Montividiu – GO. In: **Resumos Expandidos XXXII REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL**. Londrina: Embrapa Soja. Cap. 42, p. 151-153. 2011.

CARDOSO, S. S. et al. **Eficiência de fungicidas no controle do mofo branco** na cultura da soja. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 14, n. 1, p. 49-52, 2015.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q.; SILVA, R.A. **Manual de doença da soja**. São Paulo: Cheminova Brasil LTDA, 57 p. 2010.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, p. 1- 5, 2008.

CHACÓN-OROZCO, Julie. **Avaliação de bactérias simbiotes de nematoides**

entomopatogênicos e seus filtrados no manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* de soja. 2018. 82 p. Tese (Doutorado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2018.

CHAVES, G. M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Experientiae**, Viçosa, v. 4, n.2, 1964.

CHEN, H, et al. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*, **Biotechnology Letters**, v.30, p. 919-923, 2008.

CHET, I. & BAKER, R. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**. v.71, p.286-290, 1981.

CHUN, D.; KAO, L. B.; Lockwood, J. L.; Isleib, T. G. Laboratory and field assessment of resistance in soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, p. 811-815, 1987.

CHUNG, S. et al. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. **Applied Microbial Biotechnology**, Berlin, v. 80, n. 1, p. 115-123, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE GRÃOS**, Safra 2019/20, v. 7, p. 50, 2020.

CONWAY, K. E. Integration of biological and chemical controls for *Rhizoctonia* aerial blight and root rot of rosemary. **Plant Disease**, v. 18, p. 795-798, 1997.

COOK, R.J.; BACKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: APS Press. p.539. 1983.

CORRADINI, H. T. **Característica em cultura pura e patogenicidade de isolados de (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Lib.) de Barry, associados a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) na região do Alto Paranaíba-MG.** 1989. 59f. Dissertação (mestrado). Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1989.

COSTA, G. R.; COSTA J. L. da S. Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia scleroiiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, p. 133-138, 2004

DALL'AGNOL, A.; ROESSING, A. C.; LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H.; OLIVEIRA, A. B. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Londrina: Embrapa Soja, Circular Técnica, v. 43, p. 12, 2007.

DE LA CRUZ-QUIROZ, R.; ROUSSOS, S.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; HERNANDEZ-CASTILLO, D. & AGUILAR, C. N. Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 4, p. 237-243, 2018.

DE ROSSI, R.L.; REIS, E.M.; BRUSTOLIN, R. Concentração de referência de fungicidas para a inibição miceliana de isolados de *Exserohilum turcicum* agente causal da hemintospório do milho. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 41, n. 1, p. 25-30, 2015.

DEL RIO, L. E.; MARTINSON, C. A.; YANG, X. B. Biological control of *sclerotinia* stem rot of soybean with *Sporidesmium sclerotivorum*. **Plant Disease**, v. 86, p. 999–1004, 2002.

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, 10., 2007, Brasília. **Resumos...** Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, Inglaterra, GB: Cambridge University Press, v. 57, p. 363-369, 1971

DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; de CAMPOS, R. M. V. B. & BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, p. 79-86, 2020.

DOUGHERTY, E.M.; R EICHELDERFER, C.F.; F AUST, R.M. Sensitivity of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* to various insecticides and herbicides. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.17, n.2, p.292-293, 1971.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971.

EMBRAPA, (2020). **História da soja**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia#main-content> . Acesso em: 06/03/2020

ESKER, P.; PELTIER, A.; BRADLEY, C.; CHILVERS, M.; MALVICK, D.; MUELLER, D.; WISE, K. Management of white mold in soybean. **North Central Soybean Research Program**, 2011.

ES-SOUFI, R.; TAHIRI, H.; AZAROUAL, L.; EL OUALKADI, A.; MARTIN, P.; BADOUC, A. & LAMARTI, A. **In Vitro Antagonistic Activity of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens* against *Colletotrichum acutatum***. *Advances in Microbiology*. v. 10, p. 82-94, 2020.

ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z. & SILVA, A. C. F. D. Seleção de *Trichoderma* spp. Visando ao Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. **Ciência Rural**, v. 31, p.885-

887, 2001.

ETHUR, L.Z. **Dinâmica populacional e ação de Trichoderma no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 154f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2006.

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**, v. 37, p. 955–964, 2005.

FERRAZ, J. P. S.; FELÍCIO, P.E. Production Systems – Na example from Brazil. **Journal Meat Science**. v. 84, p. 238-243, 2010.

FERRAZ, L. C. L.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; NASSER, L. C. B. Viabilidade de *Sclerotinia sclerotiorum* após a solarização do solo na presença de cobertura morta. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 17-26, 2003.

FERREIRA, L. C.; MEYER, M. C.; TERAMOTO, A. Efeito de fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* isolado de soja. In: **IV Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, Londrina, v.1, p. 107-110, 2009.

FIGUEIREDO, G. S.; FIGUEIREDO, L. C.; CAVALCANTI, F. C. N.; SANTOS, A. C.; COSTA, A. F.; OLIVEIRA, N. T. Biological and chemical control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. And *Ulocladium atrum* and pathogenicity to bean plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, p. 1-9, 2010.

FILHO, D.S.J. **Globalizando o Problema, Fundamentando Soluções**. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO-BRANCO, Ponta Grossa. Anais do 1º Encontro Internacional de Mofo-Branco. Ponta Grossa: UEPG, 82 p. 2012.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge. Cambridge University Press. p. 333. 1971.

FREEMAN, S.; MINZ, D.; KOLESNIK, I.; BARBUL, O.; ZVEIBIL, A.; MAYMON, M. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 361-370, 2004.

FURLAN, S. H. **Manejo do mofo-branco na soja**. Instituto Biológico, São Paulo, 2009. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=111 . Acesso em: 15 out. 2020.

FURLAN, S.H. Importância do tratamento de sementes no manejo de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Informativo ABRATES**, Curitiba, PR: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, v. 20, p. 58-61, 2010.

GAO, X.; HAN, Q.; CHEN, Y.; QIN, H.; HUANG, L.; KANG, Z. Biological control of oilseed rape *Sclerotinia* stem rot by *Bacillus subtilis* strain Em7. **Biocontrol Science Technology**, London, v.24, n. 1, p. 39-52, 2014.

GARCIA, R. **Produção de inóculo, efeito de extratos vegetais e de fungicidas e reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum***. 2008. 154 f. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição a inóculo. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, p. 196-203, 2012.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; CASSEMIRO, T. A. Produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary em meio de cultura. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 1-7, 2012.

GERALDINE, A.M.; LOPES, F.A.C.; CARVALHO, D.D.C.; BARBOSA, E.T.; RODRIGUES, A.R.; BRANDÃO, R.S.; ULHOA, C.J. LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control** 67: 308-316. 2013.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 78. 2000.

GODOY, G.; STEADMAN, J. R.; DICKMAN, M. R.; DAM, R. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 37, p. 179-191, 1990.

GÖRGEN, C.C; SILVEIRA NETO, N.A.; CARNEIRO, L.C; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44: 1583-1590. 2009.

GÖRGEN, C. A.; HIKISHIMA, M.; SILVEIRA NETA, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. **Soja: Doenças radiculares e de hastes e inter-relações como o manejo do solo e da cultura**. Londrina-PR: Embrapa Soja. p. 73-104, 2010.

GRABICOSKI, E. M. G. **Caracterização morfológica e patogênica de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e detecção em sementes de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração: Fitopatologia). Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa. 2012.

GRAU, C.R. *Sclerotinia* stem rot of soybean. In: WYLLIE, T.D.; SCOTT, D.H. **Soybean Diseases of the North Central Region**. APS Press, p. 56–66, 1988.

GUPTA, V.P.; BOCHOW, H.; DOLEJ, S.; FISCHER, I. Plant growth-promoting *Bacillus subtilis* strain as potential inducer of systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 107, p. 145-154, 2000.

HADDAD, P.E.; LEITE, L.G.; LUCON, C.M.M.; HAKAKAVA, R. Selection of *Trichoderma* spp. Strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017).

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews**, London, GB: Nature Publishing Group, n. 2, p. 43-56, 2004.

HAWKSWORTH, D.L.; KIRK, P.M.; SUTTON, B.C.; PEGLE, D.N. **Ainsworth &**

Bisby's dictionary of the fungi. Wallingford: CAB international, 8. Ed, 1995.

HAWTHORNE, B. T.; JARVIS, W. R. Differential activity of fungicides on various stages in the life cycle of *Sclerotinia* spp. N. Z. **Journal of Agricultural Research**, v. 16, p. 551-557, 1973.

HENNING, A. A.; PAULA, F. Y. H.; MONTEMEZZO, C. A. O.; BOSSE, E. J.; BERGONSI, J. S. S. Avaliação dos princípios ativos para controle químico do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja: safra 2008/2009. **Informativo Técnico**, Curitiba: ABRATES, v. 19, p. 3, 2009.

HOMECHIN M. Reação de cultivares comerciais de soja a *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira**. 559 p. 1983.

HOWELL, C. R.; HANSON, L. E.; STIPANOVIC, R. D.; PUCKHABER, L. S. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v. 90, p. 248-252, 2000.

HU, M.; ZHAO, S.; LI, C.; WANG, B.; YAO, C.; WANG, Y. The influence of different Tween surfactants on biodesulfurization of ground tire rubber by *Sphingomonas* sp. **Polymer Degradation and Stability**, v. 107, p. 91 – 97, 2014.

HUANG, H. C. Control of *Sclerotinia* wilt of sunflowers by hyperparasites. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v.2, n.1, p. 26-32, 1980.

ISHIZUKA, M. S. **Compatibilidade entre tratamento químico e biológico de semente de feijão para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.** 96 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo – SP. 2016.

IQBAL, S.M.; GHAFOR, A.; AHMAD, Z.; HAQQANI, A.M. Pathogenicity and Fungicidal Efficacy for *Sclerotinia* Rot of Brinjal. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 5, n. 4, p.199-206, 2003.

JAIN, S.; VAISHNAV, A.; VARMA, A.; CHOUDHARY, D. K. Comparative expression analysis of defence-related genes in *Bacillus*-treated *Glycine max* upon challenge inoculation with selective fungal phytopathogens. **Current science**, 1950 p. 2018.

JIMENEZ, J.; ACOSTA, N.; FERNANDEZ, R. Efecto de insecticidas y fungicidas sobre la actividade biológica de preparaciones de *Bacillus thuringiensis*. **Protección de Plantas**, v.12, n.1, p.45-59, 1989.

JOSHI, B. B.; BHATT, R. P.; BAHUKHANDI, D. Antagonistic and plant growth activity of *Thichoderma* isolates of Western Himalayas. **Journal of environmental biology**, v. 30, p. 921-928, 2010.

JULIATTI, F. C. Relato da ferrugem asiática em Minas Gerais. 2005. In: **I Workshop brasileiro sobre ferrugem asiática**. Coletânea. 1. ed. Uberlândia: EDUFU, 2005.

KHAN, Muhammad Omer; SHAHZAD, Saleem. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. **Pak. J. Bot**, v. 39, p. 945-951, 2007.

- 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**, Madison, v. 40, p. 665–669, 2000.
- KIM, T. G.; KNUDSEN, G. R. Colonization of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia by a biocontrol isolate of *Trichoderma harzianum*, and effects on myceliogenic germination. **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, p. 1081-1085, 2009.
- KOMYOJI, T.; SUGIMOTO, K.; MITANI, S.; MATSUO, N.; SUZUKI, K. Biological properties of a new fungicide, fluazinam. **Journal of Pesticide Science**, v. 20, p. 129-135, 1995.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDE, W.M.; SHERECKENBUGER, P.C.; JRWINN, W.C. Provas de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos. In: **Diagnóstico Microbiológico**. Rio de Janeiro: Medici, Cap. 15, 1465p. 2001.
- KUBICEK, C. P.; MACH, R. L.; PETERBAUER, C. K.; LORITO, M. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. **Journal of Plant Pathology**, V. 83, p. 11-23, 2001.
- KULL, L. S. et al. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 1471-1476, 2003.
- LANNA, Filho, R., FERRO, H.M., & PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Revista Trópica: **Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, p. 12-20, 2010.
- LEE, Dong-Hyuk et al. Biological Characterization of *Marssonina coronaria* Associated with Apple blotch disease. **Mycobiology**, v. 39,n.3, p. 202-205, agosto, 2011.
- LEELASUPHAKUL, W. et al. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. Postharvest. **Biology and Technology**, v.48, p. 113-121, 2008.
- LEHNER, M.S.; PAULA JUNIOR, T.J.; HORA JUNIOR, B.T.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R.F.; CARNEIRO, J.E.S.; MIZUBUTI, E.S.G. Low genetic variability in *Sclerotinia sclerotiorum* populations from common bean fields in Minas Gerais State, Brazil, at regional, local and micro scales. **Plant Pathology**, v. 64, p. 921-931, 2015.
- LEITE, R.M.V.B. de C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. **Embrapa Soja. Comunicado Técnico**, 2005.
- LI, Y.B.; YONGLI, Z.; NIAN, L.B. Study on the dissemination distance of sunflower stem rot fungus. **Plant Protection**. p. 12-13, 1994.
- LUCCA FILHO, O.A. Patologia de Sementes. In.: PESKE, S.T.; LUCCA FILHO, O.A.; BARROS, A.C.S.A. (Ed.). **Sementes: fundamentos científicos e Tecnológicos**, 2.Ed., Pelotas. p. 259-329, 2006.
- LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 890-895, 1979.
- MACIEL, R.S; FAGGIO, F.; CORREIA, S.P.T.; LINHARES, V.; Qual o pH adequado

da água na aplicação de defensivos. *Revista Cultivar. Notícias*. 33 p. 2020.

MALATHI, P.; VISWANATHAN, R.; PADMANABAN, P.; MOHANRAJ, D. & SUNDER, A. R. Compatibility of biocontrol agents with fungicides against red rot disease of sugarcane. *Society for Sugar Research & Promotion*, v. 4, Issue 3-4, p. 131-136, 2002.

MATHERON; M.E.; PORCHAS, E. Activity of boscalid, fenhexamid, fluazinam, fludioxonil, and vinclozolin on growth of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* and development of lettuce drop. *Plant Disease*, v. 88, p. 665-668, 2004.

MATTOS, M. Avaliação de estratégias com agroquímicos no controle de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (*Hemiptera: Aleyrodidae*) em tomate. *Pestic.: R. Ecotoxicol. Meio Amb.*, v. 12, p. 131-144, 2002.

MEHTA, N.; HIEU, N.; SANGWAN, M. Efficacy of various antagonistic isolates and species of against causing white stem rot of mustard. *Journal Mycology Plant Pathol*, India, v.42, n. 2, p. 244-250, 2012.

MENENDEZ, A.B.; GODEAS, A. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum*. (BAFC 742). *Mycopathologia*. Vol. 142: 153-160, 1998.

MENTEN, J.O.M; PARADELA, A.; GALLI, M.A.; GONELLA, L.G.R. Eficiência *in vitro* de diversos fungicidas sobre *Sclerotinia sclerotiorum* do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28, 1995, Ilhéus. **Resumos...**Ilhéus: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 1995, p. 320.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; PIMENTA, C. B.; UTIAMADA, C. M.; FILHO, D. S. J.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; JUNIOR, J. N.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H.C.P. da; SATO, L. N.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; TORMEN, N. R.; BALARDIN, R. S.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. (Comunicado Técnico 133).

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*, v. 43, p. 137, 2013.

MEYER, M.; CAMPOS, H. D. Guerra ao mofo. *Revista Cultivar*, n. 120, p.16-18, 2009.

MEYER, M.C. et al (a). Ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco na cultura da soja – safras 2012 a 2015. Embrapa Soja: Documentos 368. 46p. Londrina, 2016.

MEYER, M.C; NUNES JUNIOR, J; PIMENTA, C.B; SEII, A.H; NUNES SOBRINHO, J.B; COSTA, N.B; GUARNIERI, S.F. Eficiência de fungicidas no controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, no Estado de Goiás. **XXXII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil** - São Pedro, SP, 2011.

MILLER, P. C. H.; BUTLER ELLIS, M. C. Effects of formulation on spray nozzle performance for applications from ground-based boom sprayers. **Crop Protection**, Queensland, v.19, p.609-615, 2000.

MORAES, S. D. A.; SALGADO, C. L. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Bert. & Curt.) Ell. & Ev. **Summa Phytopathologica**, 8, P. 39-55, 1982.

MUELLER, D.S.; DORRANCE, A. E.; DERKSEN, R. C.; OZKAN, E.; KURLE, J. E.; GRAU, C. R.; GASKA, J. M.; HARTMAN, G. L.; BRADLEY, C. A.; PEDERSEN, W. L. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential for control of Sclerotinia stem rot on soybean. **Plant Disease**, v. 86, p. 26-31, 2002.

NATTI, J. J. 1971. Epidemiology and control of bean white mold. **Phytopathology**, v. 61, p. 669-674, 1971.

NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**, Dordrecht, v. 55, n. 1, p. 100-105, 2006.

NUNES JÚNIOR, J.; PIMENTA, C.B.; MEYER, M.C.; COSTA, N.B.; SEIL, A.H.; NUNES SOBRINHO, J.B. Avaliação da eficácia de fungicidas no controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, no Estado de Goiás. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 44., 2011, Bento Gonçalves. **Anais...** Brasília: SBF. p. 752-752, 2010.

OLIVEIRA, S.H.F. **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. 74p.Tese (Doutorado em Agricultura) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 1998.

OLIVEIRA, S.H.F.; TOFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Eficiência de novos fungicidas no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., 1994. Itajaí. **Resumo...** Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia., p.316. 1994

ONGENA, M. e JACQUES, P. Bacillus lipopeptides: Versatile Weapons for Plant Disease Biocontrol. **Trends in Microbiology**, 16, 115-125, 2008.

PAPAVIZAS, G C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. **Annual Review Phytothology**, v. 53, p. 23-54, 1985.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. A. B.; CARNEIRO, J. E. S. Mofo-Branco. In: PRIA, M.D.; SILVA, O.C. **Cultura do Feijão: doenças e controle.** Ponta Grossa: UEPG. p.101-299, 2010.

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

PEREIRA, F.S. de.; BORGES, L.P.; GUIMARÃES, G.R.; SILVA, A. da;

- GONÇALVES, R.N.; CARVALHO, L.R. de; TEIXEIRA, I.R. Estratégias de controle de mofo branco do feijoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17, 2013.
- PEREIRA, L. A. A.; COUTINHO, W. M.; MACHADO, J. C.; MAGALHÃES, F. H. L.; PENA, R. C. M. Fungitoxicidade in vitro de iprodione sobre o crescimento micelial de fungos que se associam a sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 67-70, 2002.
- PETTER, F. A. et al. Incompatibilidade física de misturas entre inseticidas e fungicidas. **Comunicata Scientiae**, v. 4, p. 129-138, 2013.
- PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A.; ALCÂNTARA Neto F. (2012) Incompatibilidade física de misturas entre herbicidas e inseticidas. **Planta Daninha**, v. 30, p. 449-457, 2012.
- 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: usos e perspectivas**. 1.ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. cap. 15, p. 239-244, 2009.
- PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Comparative pathogenicity of isolates of *Sclerotinia trifoliorum* and *S. sclerotiorum* on alfalfa cultivars. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 474-477, 1995.
- PURDY, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology**, Lancaster. Vol. 69:875-880. 1979.
- QUEIROZ, A.A.; MARTINS, J.A.S.; CUNHA, J.P.A.R.D. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**, v. 24, p. 8-19, 2008.
- RAHMAN, M.D.; HOSSAIN. D. M.; SUZUKI, K.; SHIYA, A.; SUZUKI, K.; DEY, T. P.; NONAKA, M.; HARADA, N. Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. Australas. **Plant Pathol.** v. 45, p. 103-117, 2016.
- RAMIREZ, I. S. *Trichoderma harzianum* (Cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomati y del pimiento. **CIDINISAV, Boletín técnico**, v. 4, p. 36, 1995.
- REIS, E. M.; CASA, R. T.; GAVA, F.; MOREIRA, E. N.; SACHS, C. Indução da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes substratos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.10, p.145-150, 2011.
- REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas: Guia para controle químico racional de doenças de plantas**. 7 ed. Passo Fundo: Berthier, 280 p. 2016.
- REIS, E.M.; REIS, A.C.; FORCELINI, C.A. **Manual de fungicidas**. Guia para o controle químico de doenças de plantas 5. Editora UPF, 153 p. 2007.
- RIBEIRO, C.G. **Sensibilidade a fungicidas e caracterização molecular de isolados de**

Sclerotinia sclerotiorum. 2012. 77f. Dissertação (Mestrado) – FESURV Universidade de Rio Verde. Rio verde. 2012

RIFAI, R.W. A revision of the genus *Trichoderma*. C.M.I. - **Mycological Papers**, v.116, p.1-56, 1969.

SANTOS MARQUES, J. **Compostos ativos de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos contra mofo-branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de feijoeiro**. 2014. 81f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2014.

SARKAR, S.; NARAYANAN, P.; DIVAKARAN, A.; BALAMURUGAN, A.; PREMKUMAR, R. The in vitro effect of certain fungicides, insecticides, and biopesticides on mycelia growth in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Turkish Journal of Biology**, v. 34, p. 399-403, 2010.

SARTORATO, A. Sensibilidade in vitro de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. **Pesquisa agropecuária Tropical**, v.36,n.3,p.211-213,2006.

SEDIYAMA, S. **Tecnologias de produção de sementes de soja**. Londrina: Mecenaz. 314 p. 2009.

SILVA, E.R.L.; ALVES, L.F.A.; SENE, L; SANTOS, J. BONINI, A.K., POTRICH, M.; NEVES, P.M.O.J. Técnicas para avaliação do efeito “*in vitro*” de fungicidas sobre *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.4, p.429-437, 2006.

SILVA, G. B. P.; HECKLER, L. N.; SANTOS, R. F.; DURIGON, M. R. & BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma spp.* armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**. v. 28, p. 33-42, 2015.

SRINIVAS, P.; RAMAKRISHNAN, G. Use of native microorganisms and commonly recommended fungicides in integrated management of rice seed borne pathogens. **Annual Plants Protect Science**, v. 10, p. 260-264, 2002.

STEADMAN, J. R.; NICKERSON, K. W. Differential inhibition of sclerotial germination in *Whetzelinia sclerotiorum*. **Micopathologia**, v. 57, p. 165-170, 1975.

STEADMAN, J.R. Control of plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**. v. 9, p. 904 – 907, 1979.

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

SUN, G.; YAO, T.; FENG, C.; CHEN, L.; LI, J.; WANG, L. Identification and biocontrol potential of antagonistic bacteria strain against *Sclerotinia sclerotiorum* and their growth-promoting effects on *Brassica napus*. **Biol. Control**. p. 35-43, 2017.

TAVARES, G.M. **Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos**. 2009. 113f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2009.

TOWNSEND, B.B.; WILLETTS, H.J. The development of sclerotia in certain fungi. **Transactions of the British Mycological Society**. v. 37, p. 213–221, 1954.

TWIZEYIMANA, M., OJIAMBO, P. S., IKOTUN, T., PAUL, C., HARTMAN, G. L. & BANDYOPADHYAY, R. Comparison of field, greenhouse, and detached-leaf evaluations of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease**, 91(9), 1161-1169, 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Long-Term agricultural projections agricultural**. USDA Agricultural Projections to 2027. Long-Term Projections Process. Estados Unidos: USDA, 2018. Disponível em: <www.usda.gov/oce/commodity/projections>. Acesso em: 7 mar. 2019.

VENEGAS, F., SAAD, J. C. C. Fungigação no controle do mofo branco e produtividade do feijoeiro em condições de cerrado brasileiro. **Irriga** 15:159-172, 2010.

VENNETT, J. R. **Proceedings of the Sclerotinia workshop**. Minnesota: Fargo, 354 p. 1998.

VIEIRA, R. F. et al.. **Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente**. Fitopatologia Brasileira. v. 26, n° 4, 2001.

VRISMAN, C.M.; JACCOUD FILHO, D.S.; SARTORI, F.F.; PIERRE, M.L.C.; BERGER NETO, A.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E.M.G.; CANTELE, M.A.; CANTELE, L.E.; HULLER, G.C.; TULLIO, H. E. Efeito do tratamento de sementes como medida preventiva PARA evitar a disseminação do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* via sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 44, 2011, Bento Gonçalves. **Anais...** Brasília: SBF. p. 1630-1630. 2011.

VYAS, S. C. Integrated biological and chemical control of dry root rot on soybean. **Indian Journal Mycology and Plant Pathology**, v. 24, n. 2, p. 132-134, 1994

WEGULO, S. N., YANG, X. B., MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, v. 82, p. 1264-1270, 1998.

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**. v. 80, p. 389-402, 2000.

WHIPPS, J. M. Behaviour of fungi antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* on plant tissue segments. **Journal of General Microbiology**, v. 133, p.1495–1501, 1987.

ZANCAN, W. L. A. **Sensibilidade a fungicidas e efeito de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijoeiro**. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2011.

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**, v. 28, p. 782-789, 2012.

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**, v. 28, p. 782-789, 2012.

ZHANG, J.; XUE, A. G.; MORRISON, M. J.; MENG, Y. Impact of time between field application of *Bacillus subtilis* strains SB01 and SB24 and inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum* on the suppression of *Sclerotinia* stem rot in soybean. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, p. 95–102, 2011.

ZHOU, F.; ZHU, F.X.; ZHANG, X.L.; ZHANG, A.S. First report of dimethachlon resistance in field isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape in Shaanxi Province of northwestern China. **Plant Disease**, Saint Paul, v.98, n. 4, p.568, 2014.