

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Dhylan Keillor Queiróz dos Santos

**BIOFUNGICIDAS E FUNGICIDAS QUÍMICOS NO MANEJO DE DOENÇAS  
NA CULTURA DA SOJA**

Santa Maria, RS

2023

Dhylan Keillor Queiróz dos Santos

**BIOFUNGICIDAS E FUNGICIDAS QUÍMICOS NO MANEJO DE DOENÇAS NA  
CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Carlos Pereira da Silva

Santa Maria, RS

2023

dos Santos, Dhyllan Keillor Queiróz  
BIOFUNGICIDAS E FUNGICIDAS QUÍMICOS NO MANEJO DE  
DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA / Dhyllan Keillor Queiróz dos  
Santos.- 2023.  
48 p.; 30 cm

Orientador: Júlio Carlos Pereira da Silva  
Coorientador: Ivan Francisco Dressler Da Costa  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Agronomia, RS, 2023

1. Controle biológico 2. Compatibilidade 3.  
Fitopatógenos 4. Bioprodutos I. Pereira da Silva, Júlio  
Carlos II. Dressler Da Costa, Ivan Francisco III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, DHYLAN KEILLOR QUEIRÓZ DOS SANTOS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Dhylan Keillor Queiróz dos Santos**

**BIOFUNGICIDAS E FUNGICIDAS QUÍMICOS NO MANEJO DE DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Aprovado em 10 de agosto de 2023:

---

Júlio Carlos Pereira da Silva, Prof<sup>o</sup> Dr (UFSM)  
(Presidente/Orientador)

---

Marlove Fatima Brião Muniz, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> (UFSM)

---

Rafaela Araujo Guimarães, Dr<sup>a</sup> (UFLA)

Santa Maria, RS

2023

## RESUMO

### BIOFUNGICIDAS E FUNGICIDAS QUÍMICOS NO MANEJO DE DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

AUTOR: Dhyllan Keillor Queiróz dos Santos  
ORIENTADOR: Prof. Dr. Júlio Carlos Pereira da Silva

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das culturas mais expressivas a nível mundial. Porém, sua capacidade produtiva é comprometida por doenças foliares em todas fases do seu ciclo. Os gêneros *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. representam a maioria dos agentes de controle biológico formulados para o combate de doenças, devido à sua eficácia no campo e outros fatores relevantes. No entanto, a combinação de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. com fungicidas químicos e, até mesmo entre si, necessita de maiores estudos para o controle de doenças foliares em soja. Assim, esse trabalho investigou a influência de produtos formulados à base de *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp. na gestão de patologias foliares na cultura da soja, ao mesmo tempo em que analisou a compatibilidade entre os agentes biológicos e produtos químicos. No campo, a eficiência das aplicações de produtos à base de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. contra patógenos foliares foi testada com aplicações foliares de produtos à base de *Bacillus* sp. (Ba), *Trichoderma* sp. (Tr), fungicidas sistêmicos (S) e multissítio (M) e suas combinações (+) ou sucessões (-) (Ba-S; Tr-S; Tr+Ba; Tr+Ba-S; Tr-Ba-S; S+M) foram testadas para controle de patógenos foliares por dois anos consecutivos. Ba-S demonstrou eficácia na redução da severidade da ferrugem asiática, enquanto Tr-Ba-S exibiu propriedades de mitigação da mancha alvo; ambos apresentaram eficácia na redução da manifestação da mancha parda. A produtividade de Ba, S+M, Ba-S e Tr-Ba-S foi 25% maior e a desfolha reduzida em 20% comparados ao controle. Além disso, a incidência de patógenos foi significativamente reduzida nas sementes dos tratamentos provindos de Ba, Ba-S e Tr-Ba-S. A compatibilidade entre produtos à base de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. e também com fungicidas químicos foram testados em câmara de aplicação em placas de Petri. Os testes de compatibilidade demonstraram que compostos de *Trichoderma* spp. reduziram o crescimento de *Bacillus* spp.. Enquanto que compostos de *Bacillus* spp. não reduziram o crescimento de *Trichoderma* spp.. Apenas mancozebe e carboxamida + estrubirulina reduziram o crescimento de *Trichoderma* spp.. Além disso, compostos produzidos por *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. reduziram crescimento dos patógenos *Septoria glycines*, *Corynespora cassiicola* e *Cercospora sojina*. Dessa maneira, produtos à base de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. são eficientes contra fitopatógenos da soja, mas a combinação entre os agentes não representa o melhor manejo para doenças foliares. No, entanto, o uso apenas de *Bacillus* spp. com aplicação prévia ou não de *Trichoderma* spp. sobre a palhada, mas seguido de produtos sistêmicos representa o melhor manejo, pelo aumento da produtividade, redução de doenças e evita interferência de compostos no crescimento do agente bacteriano.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Compatibilidade; Fitopatógenos; Bioprodutos.

## ABSTRACT

### BIOFUNGICIDES AND CHEMICAL FUNGICIDES IN THE MANAGEMENT OF DISEASES IN SOYBEAN CULTURE

AUTHOR: Dhylan Keillor Queiróz dos Santos  
ADVISOR: Prof. Dr. Júlio Carlos Pereira da Silva

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is one of the most significant crops globally. However, its productivity is compromised by foliar diseases throughout its growth stages. The genera *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. represent the majority of formulated biological control agents for disease management, owing to their efficacy in the field and other relevant factors. Nevertheless, the combination of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. with chemical fungicides and even with each other requires further investigation for foliar disease control in soybean. Thus, this study examined the influence of products formulated with *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. on foliar disease management in soybean and assessed the compatibility between biological agents and chemical products. In the field, the effectiveness of applications of *Bacillus* sp.-based products (Ba), *Trichoderma* sp.-based products (Tr), systemic fungicides (S), and multisite (M) fungicides, along with their combinations (+) or successions (-) (Ba-S; Tr-S; Tr+Ba; Tr+Ba-S; Tr-Ba-S; S+M), was tested for foliar pathogen control over two consecutive years. Ba-S demonstrated effectiveness in reducing the severity of Asian rust, while Tr-Ba-S exhibited target spot mitigation properties; both were effective in reducing brown spot manifestation. Ba, S+M, Ba-S, and Tr-Ba-S productivity was 25% higher, and leaf defoliation was reduced by 20% compared to the control. Furthermore, pathogen incidence was significantly reduced in seeds from Ba, Ba-S, and Tr-Ba-S treatments. Compatibility between *Bacillus* sp. and *Trichoderma* sp.-based products, as well as with chemical fungicides, was tested in a chamber application on Petri plates. Compatibility tests showed that *Trichoderma* spp. compounds reduced the growth of *Bacillus* spp., while *Bacillus* spp. compounds did not reduce the growth of *Trichoderma* spp. Only mancozeb and carboxamide + strobilurin reduced the growth of *Trichoderma* spp. Additionally, compounds produced by *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. reduced the growth of the pathogens *Septoria glycines*, *Corynespora cassiicola*, and *Cercospora soja*. Thus, products based on *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. are effective against soybean phytopathogens, but combining these agents is not the optimal management strategy for foliar diseases. Instead, using only *Bacillus* spp. with or without prior application of *Trichoderma* spp. on crop residues, followed by systemic products, represents the best management practice, leading to increased productivity, disease reduction, and avoiding interference of compounds with bacterial growth.

**Keywords:** Biological control; Compatibility; Phytopathogens; Bioproducts.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	5
2.1 A CULTURA DA SOJA .....	5
2.1.1 Doenças da cultura .....	6
2.2 CONTROLE BIOLÓGICO .....	8
2.2.1 O gênero <i>Bacillus</i> .....	9
2.2.2 O gênero <i>Trichoderma</i> .....	10
2.2.3 Compatibilidade de bactérias e fungos a fungicidas .....	12
2.2.4 Compatibilidade <i>Bacillus</i> e <i>Trichoderma</i> .....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1 ENSAIOS EM CAMPO .....	14
3.1.1 Tratamentos foliares .....	14
3.1.2 Avaliação de doenças foliares .....	16
3.1.3 Desfolha e produtividade .....	17
3.1.4 Teste de sanidade das sementes .....	17
3.2 EXPERIMENTOS <i>IN VITRO</i> .....	17
3.2.1 Compatibilidade entre produtos à base de <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i> .....	17
3.2.2 Testes de compatibilidade entre produtos à base de <i>Trichoderma</i> e fungicidas .....	18
3.2.2.1 Controle de fungos patogênicos por compostos produzidos por <i>Trichoderma asperellum</i> e <i>Bacillus subtilis</i> e pela combinação dos agentes .....	19
3.3 ESTATÍSTICAS .....	20
<b>4. RESULTADOS</b> .....	20
4.1. EFEITO DOS PRODUTOS NO MANEJO DE DOENÇAS FOLIARES DA SOJA EM CAMPO .....	20
4.1.1 Teste de sanidade das sementes .....	22
4.2 ENSAIOS <i>IN VITRO</i> .....	23
4.2.1 Compatibilidade entre produtos à base de <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i> .....	23
4.2.2 Testes de compatibilidade entre produtos à base de <i>Trichoderma</i> spp. e fungicidas .....	24
4.2.2.1 Controle de fungos patogênicos via filtrados e compostos voláteis produzidos por <i>Trichoderma asperellum</i> e <i>Bacillus subtilis</i> .....	25
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	30
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é uma cultura de grande importância global devido à sua ampla aplicação industrial e uso na alimentação animal e humana (YANG et al., 2019; SUN et al., 2018). O aumento na produção anual é expressivo em vários países como o Brasil (FAOStat, 2021). No entanto, doenças foliares representam sérias ameaças à cultura da soja, causando perdas significativas de rendimento. Em geral, as doenças que afetam a cultura da soja podem causar perdas que ultrapassam 30% da produção (CHANG et al., 2018; GUO et al., 2021). A busca por alternativas eficientes no controle de doenças da soja tem ganhado destaque devido à necessidade de reduzir o uso de produtos químicos. Isso se deve aos riscos associados à aquisição de resistência por parte dos patógenos e aos potenciais problemas para a saúde humana e o meio ambiente (ALMEIDA LOPES et al., 2018; DALLA LANA & PIERCE., 2018).

O uso de agentes biológicos, como bactérias e fungos, emerge como uma alternativa sustentável aos controles químicos. Esses agentes podem proteger as plantas de doenças, ao mesmo tempo em que causam menos impacto ao meio ambiente em comparação com o uso de fungicidas (AHMAD et al., 2021; KESWANI et al., 2016). No entanto, a aplicação em larga escala enfrenta desafios devido à variabilidade em condições de campo e fatores ambientais dependendo do patossistema (CERNAVA, 2021). Bactérias do gênero *Bacillus* spp. e fungos do gênero *Trichoderma* spp. são exemplos de agentes biológicos utilizados no controle de patógenos e no estímulo do crescimento de plantas (SENGER et al., 2022; ARAUJO GUIMARÃES et al., 2020; WOO et al., 2023).

O gênero *Bacillus* é eficaz no controle de doenças na cultura da soja devido à sua capacidade de produzir endósporos e combater patógenos, tornando-o versátil na indústria de biocontrole (WANG et al., 2018; RADHAKRISHNAN et al., 2017). *Trichoderma* spp. tem o potencial de reduzir significativamente as doenças de podridão radicular da soja e aumentar a produtividade dessa cultura (GAO et al., 2023; SENGER et al., 2023). No entanto, são escassos estudos que analisam o efeito da aplicação foliar desses agentes no manejo integrado de doenças foliares da soja, em conjunto com fungicidas químicos. Além disso, a influência dos fungicidas nesses agentes, bem como sua compatibilidade e eficácia no controle de múltiplas doenças da soja, ainda não foram adequadamente avaliadas (WOO et al., 2023; ONS et al., 2020).

O uso combinado de agentes biológicos e fungicidas reduz a frequência de aplicação de produtos químicos. Assim a compatibilidade entre os produtos deve ser verificada para uma

aplicação adequada dos agentes biológicos. A maioria dos fungicidas popularmente utilizados são compatíveis com *Bacillus*, beneficiando a cultura da soja como um agente biológico de múltiplos sítios. A aplicação foliar alternada de bactérias e produtos químicos é eficaz para o estabelecimento e eficiência dos antagonistas bacterianos em algumas culturas (ARAÚJO GUIMARÃES et al., 2020; SANTOS et al., 2022). Alguns isolados de *Trichoderma* demonstram compatibilidade com determinados fungicidas, o que possibilita a sua utilização em conjunto com diversas estratégias de manejo de doenças (SÁNCHEZ-MONTESINOS et al., 2021; DETHOUP et al., 2023).

No entanto, há a necessidade de um estudo mais aprofundado sobre a compatibilidade entre os microrganismos, especialmente no contexto da co-inoculação ou co-aplicação de agentes biológicos. Embora a co-inoculação de *Trichoderma* e *Bacillus* tenha sido amplamente estudada para melhorar o controle de patógenos do solo, pouco se sabe sobre os efeitos dessa combinação na parte aérea das plantas. (IZQUIERDO-GARCÍA et al., 2020; POVEDA & EUGUI, 2022). Além disso, a combinação de isolados eficientes no controle de doenças pode não resultar em efeitos aditivos ou sinérgicos devido a variações na eficácia, influenciadas por fatores ambientais, métodos de aplicação, espécies-alvo e incompatibilidade entre os organismos (RAMÍREZ-CARIÑO et al., 2020; CRUZ-MAGALHAES et al., 2022).

Na soja, o uso de produtos à base de *Bacillus* spp. no controle de doenças foliares pode ser um aliado aos químicos com o posicionamento correto (SANTOS et al., 2022). Já a aplicação de *Trichoderma* spp. visando controle de patógenos foliares na redução de inóculo na palhada, indução de resistência ou pulverização foliar é estudada contra diferentes patógenos (RAMÍREZ-CARIÑO et al., 2020; SWANT et al., 2017; WOO et al., 2023), mas ainda é pouco investigado para soja. Além disso, a integração entre produtos à base de *Bacillus* e *Trichoderma* pode enriquecer o controle biológico de doenças foliares da soja. Assim, este trabalho teve o objetivo de avaliar a eficiência de produtos biológicos à base de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* no manejo de doenças da soja desde patógenos foliares até a pós-colheita, e verificar a compatibilidade de produto a base de *T. asperellum* com fungicidas químicos foliares e dos produtos biológicos entre si. Além disso, a produção de compostos tóxicos dos produtos à base de *B. subtilis* e *T. asperellum* foram testados contra patógenos fúngicos de soja.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A CULTURA DA SOJA**

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma planta de significância notável na economia global, desempenhando um papel fundamental na sociedade devido à sua ampla aplicação em várias esferas industriais. Sua importância e versatilidade são evidenciadas pela ampla utilização na alimentação humana e animal, assim como na produção de óleo, indústria química, fabricação de combustíveis, produtos farmacêuticos, cosméticos e uma variedade abrangente de subprodutos empregados nas agroindústrias e no cotidiano dos consumidores (PEREIRA, 2021).

Possui ciclo anual, adaptada a climas tropicais, subtropicais e temperados. Requer uma estação de crescimento longa, geralmente de 100 a 150 dias, com temperaturas médias entre 20°C e 30°C. A planta da soja é caracterizada por seu crescimento ereto e arbustivo, com hastes eretas e folhas trifoliadas, suas sementes são caracterizadas por uma variedade de formas, incluindo lisas, ovais e globosas, apresentando cores que variam entre amarelo, preto e verde. O hilo, por sua vez, é geralmente encontrado em tonalidades de marrom, preto ou cinza (SEDIYAMA et al., 2016). Em 2021 a área total plantada no mundo foi mais de 127 milhões de hectares, cerca de 30% detidos no Brasil, com a produtividade nacional atingindo 37% do total (USDA, 2021).

O manejo da cultura da envolve diversos aspectos, como a escolha de variedades adequadas, preparo do solo, plantio, manejo de pragas, doenças e ervas daninhas, adubação, irrigação e colheita. Por falta de manejo adequado seu rendimento dificilmente atinge seu potencial, a cultura sofre com doenças que comprometem sua eficiência, acometidas ao longo de todo o seu ciclo sendo em sua maioria de difícil controle. Alvo de inúmeras patologias agressivas que afligem principalmente suas folhas de intensidades variáveis de região. As doenças provocadas por bactérias, fungos, nematoides e vírus crescem à medida que a cultura se expande a novos ambientes (YORINORI, 1986).

### **2.1.1 Doenças da cultura**

As doenças inerentes à cultura levam a queda do seu potencial produtivo (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004). De acordo com Henning (2005) cultura é suscetível a aproximadamente 40 doenças, originadas por nematoides, bactérias, vírus e, principalmente, fungos. Essas enfermidades têm o potencial de acarretar perdas significativas na produção de soja, comprometendo tanto a qualidade quanto o rendimento dos grãos. As doenças foliares

destacam-se como os principais distúrbios, resultando na senescência foliar e redução da área fotossintética, juntamente com doenças transmitidas pelas sementes por meio da disseminação de patógenos (YORINORI et al., 2004).

As principais doenças foliares causadas por parasitas biotróficos na cultura da soja são a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), o míldio (*Peronospora manshurica*) e o oídio (*Microsphaera diffusa*), que se alimentam de tecidos vivos (Balardin, 2002). Já a mancha alvo (*Corynespora cassiicola*), a mancha parda (*Septoria glycines*), mancha olho de rã (*Cercospora sojina*) e o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) estão associados a patógenos necrotróficos, que se alimentam de tecidos mortos (COSTAMILAN et al., 1999).

A ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) causa pústulas marrom-avermelhadas nas folhas, pecíolos e hastes, resultando em redução do rendimento devido à diminuição da área foliar e inibição da fotossíntese. O míldio da soja (*Peronospora manshurica*) provoca manchas amarelas nas folhas, seguidas por uma camada branca de esporos fúngicos, levando à necrose e queda prematura das folhas, reduzindo o crescimento e o rendimento da cultura. Já o oídio (*Microsphaera diffusa*) se manifesta por uma camada branca ou acinzentada nas folhas e outras partes da planta, com conídios dispersos pelo vento. A infecção pode fazer com que as folhas amarelem, sequem e caiam prematuramente, comprometendo a qualidade dos grãos e o rendimento da cultura de soja. O controle dessas doenças é feito com o uso de cultivares resistentes e fungicidas quando necessário, como apontado por diferentes estudos (LIU et al., 2019; SHARMA et al., 2020).

O fungo *Corynespora cassiicola* causa a doença da mancha alvo na soja, levando a danos, redução no rendimento e qualidade dos grãos. Os sintomas são manchas circulares ou ovais com centro necrótico e área amarelada, podendo formar um anel escuro ou halo amarelado, afetando folhas, caules, pecíolos e vagens, e levando à morte prematura da planta. (FEHR et al., 2015; KHORAMDEL et al., 2020). A mancha parda da soja, causada pelo fungo *Septoria glycines*, prejudica a produção e qualidade dos grãos com pequenas manchas circulares marrom nas folhas que se expandem para lesões maiores de tonalidade marrom a marrom-avermelhado, exibindo um centro necrótico e bordas amareladas (LI et al., 2019). *Cercospora sojina* é o agente causal da mancha olho de rã, doença fúngica que afeta a cultura da soja e se manifesta por meio de manchas circulares de cor marrom a preta com um centro mais claro. Essas manchas podem se espalhar nas folhas, caules e vagens, causando desfolha precoce e redução na produtividade (LI et al., 2016). *Sclerotinia sclerotiorum* é o agente causal do mofo branco, uma doença fúngica que forma lesões necróticas com crescimento fúngico branco e

macio nos tecidos vegetais. O fungo é capaz de produzir escleródios, estruturas de resistência que lhe permitem sobreviver por longos períodos no solo (BOLTON et al., 2006).

O controle biológico é uma alternativa para reduzir os impactos ambientais e na saúde causados pelo uso excessivo de produtos químicos no controle de problemas agrícolas. Sua crescente importância no manejo de diversas culturas é impulsionada pela qualidade dos produtos disponíveis e pela oferta crescente no mercado (MEDEIROS et al., 2018).

## 2.2 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico vem se intensificando no manejo agrícola da cultura, mostrando eficácia na redução de doenças e pragas com o bônus de alavancar a absorção de nutrientes, além de reduzir os efeitos causados por produtos químicos (BHATTACHARYYA, GOSWAMI & BHATTACHARYYA, 2016). Tem ganhado cada vez mais destaque no cenário nacional com controle de patógenos em diferentes fases de desenvolvimento das culturas, abrangendo uma vasta gama na agricultura. Os agentes de biocontrole são uma alternativa viável para diminuir o potencial de inóculo de patógenos habitantes do solo, sem trazer danos ao meio ambiente (MELLO et al., 2007). São capazes de se instituir, colonizar e dispersar no ecossistema (ÁVILA et al., 2005).

Segundo Eilenberg et al. (2001), o controle biológico é a utilização de organismos vivos ou seus metabólitos visando reduzir a densidade populacional ou o impacto da doença em um organismo específico de pragas. Contenção da densidade do inóculo, pelo uso de um ou mais organismos, efetivado naturalmente ou através da manipulação do ambiente (COOK & BAKER, 1983). De forma simplificada, é a introdução de um microrganismo para controle de outro, com efeito biocida ou biostático, gerando a morte do alvo ou inibindo sua desenvoltura (ZAMBOLIM, 2010).

O controle biológico varia de acordo com o organismo e o patógeno alvo. Mecanismos comuns incluem competição, produção de substâncias antimicrobianas, indução de resistência em plantas hospedeiras e interrupção do ciclo de vida do patógeno. Fungos como *Trichoderma* e *Beauveria* são eficazes no controle biológico de doenças de plantas, pois podem parasitar os patógenos, secretar enzimas que degradam suas estruturas ou estimular as defesas das plantas hospedeiras (HARMAN et al., 2004; SENTHIL KUMAR et al., 2005). Bactérias do gênero *Bacillus* são capazes de sintetizar uma variedade de metabólitos bioativos, como antibióticos, enzimas hidrolíticas e compostos voláteis. Esses metabólitos têm a capacidade de inibir o

crescimento e a atividade dos patógenos, além de estimular as respostas de defesa das plantas (CHOWDHURY et al., 2015; LIU et al., 2019).

O uso crescente do controle biológico reduz o custo de produção, minimiza resíduos químicos em alimentos e possui amplo espectro de ação. Suas formulações apresentam diferentes modos de ação, oferecendo proteção similar aos fungicidas químicos, mas com baixa toxicidade para a saúde humana. Esses agentes biológicos têm mostrado resultados promissores no combate a doenças, embora ainda haja poucas discussões e pesquisas sobre sua eficiência quando utilizados individualmente ou em conjunto com outros agentes.

### 2.2.1 O gênero *Bacillus*

Com formato de bastonetes, pertencente ao reino Bactéria, filo Firmicutes, classe Bacilli e ordem Bacillales, o gênero foi descrito pela primeira vez por Cohn (1872), quem nomeou a espécie tipo como *Bacillus subtilis*. Possui alto potencial biotecnológico, diversas espécies estão aptas à produção de antibióticos, enzimas e metabolitos atrativos para agricultura (BANAT et al., 2000). Está presente em todas as naturezas, sendo terrestres, marinhos e aquáticos (SIEFERT et al., 2000; MIRANDA et al., 2008). Seu papel na agricultura infere na elevação da resistência de plantas frente a inúmeras complicações que a mesma pode sofrer, isso se deve as suas particularidades, manuseado como agente de controle biológico contra pragas e doenças (CLEMENTE et al., 2016).

Uma característica notável do gênero *Bacillus* é a sua capacidade de produzir esporos resistentes, que são células dormentes capazes de suportar condições adversas, como calor, dessecação, radiação e agentes químicos. Esses esporos permitem que as bactérias do gênero *Bacillus* sobrevivam em ambientes desafiadores. Eles podem ser encontrados em diferentes habitats, incluindo solo, água, alimentos e até mesmo em ambientes extremos, como fontes termais. (NICHOLSON et al., 2000). As espécies do gênero *Bacillus* são altamente versáteis metabolicamente e têm a capacidade de utilizar diversas fontes de carbono e energia. Muitas dessas espécies são conhecidas por secretar enzimas extracelulares, como proteases, lipases e amilases, o que as torna valiosas na indústria biotecnológica para a produção de enzimas (EZEJI et al., 2003).

O gênero *Bacillus* desempenha um papel crucial como agente de antagonismo, especialmente contra doenças causadas por fungos fitopatogênicos. Ele oferece uma ampla gama de benefícios para diversas culturas, sendo uma opção eficaz e atrativa no contexto

agrícola. Além disso, seu uso é menos agressivo em relação aos fertilizantes químicos, contribuindo para a sustentabilidade econômica e ambiental (SHAFI et al., 2017). Várias espécies de *Bacillus* possuem propriedades antimicrobianas, combatendo diversos tipos de bactérias, vírus e fungos. Essa capacidade é atribuída à produção de metabólitos secundários, como enzimas líticas, peptídeos antimicrobianos e antibióticos. Esses metabólitos secundários desempenham funções importantes no controle de doenças e na competição ecológica (STEIN, 2005).

As espécies de *Bacillus* são reconhecidas por promover o crescimento das plantas através de várias ações, como a fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fosfatos inorgânicos, produção de fitohormônios e aumento da disponibilidade de nutrientes. Essas contribuições ajudam a melhorar o desenvolvimento e a saúde das plantas. O gênero tem muitos usos biotecnológicos, como biocontrole de patógenos de plantas, produção de enzimas industriais, biorremediação de poluentes e probióticos para humanos e animais. Seu uso corriqueiramente está atrelado ao controle de patógenos de solos e foliares na soja, superando as barreiras abióticas, para mais de estimular mecanismos atrativos à cultura como crescimento aéreo e radicular com incremento na produtividade (OLIVEIRA, 2016).

### **2.2.2 O gênero *Trichoderma***

São fungos filamentosos e de vida livre, apresentam reprodução assexuada, uma fase anamórfica de *Hypocrea*, encontrados frequentemente em solos de regiões temperadas e tropicais. Faz parte do Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Ordem Hypocreales, Família Hypocreaceae e subdivisão Deuteromycotina (KIRK, 2012; MACHADO et al., 2012;). Descrito originalmente por Persoon em 1794, como fungos de características bem definidas e espécies pouco delimitadas. Cosmopolitas de solo, com espécies produtoras de enzimas industriais, sendo economicamente importantes (DRUZHININA & KUBICEK, 2005), exercem simbiose com a planta (SHARON et al., 2007). Possui vários mecanismos de ação, como: antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação, indução de resistência e promoção de crescimento vegetal podendo um mesmo antagonista agir por vários mecanismos contra determinado patógeno (BETTIOL & GHINI, 1995; HARMAN, 2011).

O gênero *Trichoderma* possui vasto potencial de aplicação em diversas áreas, como agricultura, meio ambiente e indústria. Sua capacidade de interagir com outros fungos de forma competitiva e mutualística é uma característica-chave. Esses fungos são conhecidos por

parasitar e controlar patógenos fúngicos, atuando como biocontroladores, devido à produção de diversos metabólitos antifúngicos, como peptídeos, enzimas hidrolíticas e antibióticos. Esses compostos inibem o crescimento e a reprodução dos patógenos. *Trichoderma* spp. é amplamente explorado na biotecnologia para controle biológico de doenças em plantas, produção de enzimas industriais, biorremediação de poluentes e fabricação de biofertilizantes. Seu papel é fundamental para a agricultura sustentável e na busca por soluções ambientalmente amigáveis, contribuindo para práticas agrícolas mais eficientes e sustentáveis (MUKHERJEE et al., 2012; HARMAN et al., 2004).

*Trichoderma* spp. desempenha um papel fundamental como agente de controle biológico, oferecendo uma série de benefícios. Ele promove a germinação precoce das sementes, estimula o desenvolvimento das raízes e influencia positivamente à altura e o peso seco das plantas. Além disso, *Trichoderma* spp. auxilia no controle de patógenos e contribui para o aumento da produtividade das plantas. Sua presença é essencial para melhorar a saúde e o desempenho das culturas (HARMAN, 2006; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009; MACHADO et al., 2015). O fungo estabelece interações mutualísticas com as plantas, estimulando o crescimento das raízes, aumentando a resistência a estresses e promovendo a absorção de nutrientes. *Trichoderma* spp. é capaz de biossintetizar metabólitos secundários que atuam na desestabilização das paredes celulares de bactérias patogênicas. Essa ação resulta na inibição do crescimento bacteriano e, por conseguinte, confere maior resistência das plantas contra doenças. Além disso, esses metabólitos secundários também têm um impacto positivo na promoção do crescimento vegetal (RAM et al., 2020; OLOWE et al., 2022). Além disso, esses fungos são capazes de decompor diversos componentes da biomassa vegetal, como lignina e celulose, através da produção de enzimas extracelulares. Essas interações benéficas contribuem para a saúde e produtividade das plantas, ao mesmo tempo em que desempenham um papel fundamental no ciclo de nutrientes e na decomposição da matéria orgânica (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2014; VINALE et al., 2008; KUBICEK et al., 2011).

O fungo é notável na inoculação de sementes para proteger as plantas na fase inicial, atacando fungos patogênicos e aumentando o crescimento das plantas. O tratamento pode ser aplicado diretamente às sementes ou adicionado ao substrato com mudas já existentes, fornecendo um efeito residual prolongado em comparação com outros tratamentos (térmico e químico), principalmente se as condições forem favoráveis ao seu desenvolvimento (MACHADO, 2000).

### 2.2.3 Compatibilidade de bactérias e fungos a fungicidas

A compreensão das interações entre microrganismos e sua influência na agricultura é crucial para o desenvolvimento de estratégias de manejo eficazes. Estudos de compatibilidade são necessários para investigar a presença de sinergia ou oposição entre microrganismos e plantas, uma vez que a interatividade é complexa e influenciada por diversos fatores em diferentes escalas de tempo e espaço. Como destacado por Barbosa et al. (2015), a análise dessas interações é fundamental para melhorar o conhecimento e garantir práticas agrícolas sustentáveis. Estudos microbianos baseados em técnicas moleculares têm revelado uma ampla variedade de espécies e genótipos microbianos, o que auxilia na compreensão da coexistência microbiana, seus efeitos na população e a inferência dos mecanismos de ação envolvidos (SIEUWERTS et al., 2008).

O uso combinado de agentes biológicos e fungicidas oferece vantagens ao reduzir a frequência de aplicação de produtos químicos através da sinergia de mecanismos de ação. É crucial ter a ciência de compatibilidade entre os produtos para garantir a aplicação adequada dos agentes biológicos. A maioria dos fungicidas amplamente utilizados são compatíveis com *Bacillus*, tornando-o benéfico como um agente biológico de múltiplos sítios na cultura da soja. A aplicação foliar alternada de bactérias e produtos químicos vem demonstrando eficácia em estabelecer e otimizar a eficiência dos antagonistas bacterianos em algumas culturas (ARAÚJO GUIMARÃES et al., 2020; SANTOS et al., 2022).

Alguns isolados de *Trichoderma* têm mostrado compatibilidade com determinados fungicidas, permitindo sua co-aplicação em conjunto com várias estratégias de manejo de doenças. Essa sinergia entre *Trichoderma* spp. e fungicidas possibilita a aplicação conjunta de ambos os agentes, potencialmente proporcionando benefícios adicionais no controle de doenças agrícolas. Essa abordagem integrada pode resultar em uma maior eficácia no combate aos patógenos, oferecendo uma alternativa sustentável e eficiente no manejo de doenças em culturas agrícolas (SÁNCHEZ-MONTESINOS et al., 2021; DETHOUP et al., 2023).

### 2.2.4 Compatibilidade *Bacillus* e *Trichoderma*

A compatibilidade entre fungos e bactérias é influenciada por diferentes espécies e pelas interações específicas entre elas. Esse fenômeno é complexo e diversificado. As relações entre fungos e bactérias podem ser categorizadas em diferentes tipos, incluindo simbiose

mutualística, antagonismo, competição e neutralismo (ARTURSSON et al., 2006). O antagonismo é frequente nas interações entre fungos e bactérias, resultando na inibição mútua do crescimento. Isso acontece devido à produção de substâncias antimicrobianas, competição por espaço e nutrientes, ou indução de respostas defensivas (MELA et al., 2011). A competição desempenha um papel essencial nesse processo, com ambos os grupos disputando recursos, o que pode levar à exclusão de um deles ou a uma coexistência dinâmica, dependendo das estratégias competitivas e eficiência na utilização dos recursos (BEVER et al., 2012).

A compatibilidade entre *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. é extensamente estudada devido ao seu papel no controle biológico de doenças de plantas na agricultura. Esses gêneros têm propriedades antiparasitárias eficazes contra patógenos fúngicos e bacterianos, além de estimular o crescimento das plantas. A co-inoculação de espécies específicas de *Bacillus* e *Trichoderma* resulta em uma supressão mais efetiva de doenças de plantas, com aumento significativo na atividade antifúngica e produção de enzimas que degradam a parede celular dos fungos. Essa coexistência pode promover a saúde radicular e fortalecer a resistência das plantas contra patógenos, estimulando mecanismos de resistência sistêmica adquirida e a produção de substâncias antimicrobianas, aumentando sua capacidade de combater invasões patogênicas e fortalecer a resistência a doenças (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2014; SHORESH et al., 2010; HERMOSA et al., 2012).

Essa compatibilidade pode ser influenciada pela composição do meio de cultivo e pelas condições ambientais. Pesquisas indicam que a coexistência de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. pode ser favorecida pela presença de nutrientes específicos ou pela competição por nichos ecológicos. Estudos mostram que a disponibilidade adequada de nutrientes pode facilitar a interação entre esses gêneros, enquanto a competição por recursos pode afetar sua compatibilidade. Compreender esses fatores ambientais é crucial para otimizar a utilização de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. em aplicações agrícolas e no controle biológico de doenças de plantas (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2014; HARMAN et al., 2004).

Estudos revelam que *Bacillus* e *Trichoderma* têm interações moleculares por meio de sinais químicos, como metabólitos voláteis, que desencadeiam respostas de defesa e crescimento saudável em plantas, fortalecendo sua resistência. Essa comunicação intermicrobiana é fundamental na interação com as plantas hospedeiras, destacando sua relevância no contexto agrícola. A coexistência desses microorganismos pode levar a alterações na expressão gênica e na produção de enzimas relacionadas à sobrevivência e competição (ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2016; WANG et al., 2018).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ENSAIOS EM CAMPO

Os experimentos foram realizados em duas safras, 2021 e 2022, de dezembro a abril, na área experimental do Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM em Santa Maria, RS, 29°42'48" S, 53°43'59" W, a uma altitude de 119 metros. De acordo com a classificação de Alvares et al. (2013), o clima dessa região é subtropical úmido (Cfa/Humid subtropical climate). O solo é classificado como argissolo vermelho distrófico típico (Typical Red Dystrophic Argisol – Typic Paleudults). Antes da semeadura, foi feito um manejo de plantas invasoras com glifosato (1,5 kg.ha<sup>-1</sup>) e saflufenacil (50 g.ha<sup>-1</sup>) para controlar as plantas daninhas presentes no solo. A cultivar de soja TEC IRGA 6070 RR foi usada nos experimentos e recebeu tratamentos pré-semeadura com piraclostrobina, tiofanatometil e fipronil na proporção de 2 mL.kg<sup>-1</sup>. Além disso, *Bradyrhizobium japonicum* foi aplicado em uma dose de 2,5 mL.kg<sup>-1</sup>. A população de plantas foi de 200.000 plantas.m<sup>2</sup>, as sementes foram semeadas em parcelas de 7,5 m quadrados com espaçamento entre fileiras de 0,5 m.

##### 3.1.1 Tratamentos foliares

Os tratamentos com biológicos e químicos foram feitos por pulverização. A aplicação foi feita por pulverizador costal impulsionado por CO<sub>2</sub> com pressão de pulverização de 200 kPa. Cerca de 170 litros por hectare (L.ha<sup>-1</sup>) de cada calda específica foram aplicados sobre as plantas. Os produtos utilizados nos tratamentos foram à base de: *Bacillus subtilis* (Bio-Imune<sup>®</sup>; 500mL.ha<sup>-1</sup>), *Trichoderma asperellum* (Tricho-Turbo<sup>®</sup>500mL.ha<sup>-1</sup>), carboxamida + estrobilurina (Orkestra<sup>®</sup>300mL.ha<sup>-1</sup>), carboxamida + triazól + estrobilurina (Fox-Pro<sup>®</sup>500mL.ha<sup>-1</sup>), triazól (Cypress<sup>®</sup>300mL.ha<sup>-1</sup>) e mancozebe (Unizeb Gold<sup>®</sup>1,5 kg.ha<sup>-1</sup>). Composto de barra lateral com 1,5 metros de largura e quatro pontas de pulverização foram fixadas a intervalos de 0,5 metros. Os tratamentos iniciaram após 10 dias da semeadura, ou a partir de 30 dias após a emergência dependendo da combinação (SANTOS et al., 2022). O intervalo entre pulverizações de 10 dias entre as aplicações (Tabela 1). Foram utilizados os adjuvantes espalhante adesivo (Naft50 mL 100 L água<sup>-1</sup>) e óleo mineral (Assist-Basf 10 mL 100 L água<sup>-1</sup>) em todos os tratamentos, exceto os produtos que o fabricante especifica o tipo de

adjuvante. Os tratamentos foram Controle: Água e adjuvantes; Fungicida sistêmico (S): Uso do manejo sistêmico em quatro aplicações; aplicação de fungicida sistêmico em conjunto com multissítio em quatro aplicações (S+M); produto à base de *B. subtilis* nas quatro aplicações (Ba); Produto à base de *T. asperellum* nas quatro aplicações (Tr); Aplicação de produto à base de *B. subtilis* seguido de manejo sistêmico (Ba-S); Aplicação de produto à base de *T. asperellum* seguido de manejo sistêmico (Tr-S); Mistura de produto a base de *T. asperellum* e *B. subtilis* em quatro aplicações (Tr+Ba); Mistura de *T. asperellum* e *B. subtilis*, seguido de manejo sistêmico (Tr+Ba-S); Aplicação de *T. asperellum* na semeadura seguida de *B. subtilis* e finalmente o manejo sistêmico (Tr-Ba-S).

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos pela sequência de aplicações dos produtos.

<b>Tratament</b>	<b>1 10 DAS<sup>a</sup></b>	<b>2 30DAE<sup>b</sup></b>	<b>3 40DAE</b>	<b>4 50-55 DAE</b>	<b>5 60-65 DAE</b>
<b>o</b>					
<b>CONTRO</b>	-	-	-	-	-
<b>L</b>					
<b>S</b>	-	Triazol	Estrobilurin a e Carboxamid a	Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Estrobilurina e Triazol
<b>S+M</b>	-	Mancozebe + Triazol	Mancozebe + Estrobilurin a e Carboxamid a	Mancozebe + Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Mancozebe + Estrobilurina e Triazol
<b>Ba</b>	-	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>
<b>Tr</b>	-	<i>T. asperellum</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>T. asperellum</i>	<i>T. asperellum</i>
<b>Ba-S</b>		<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Estrobilurina e Triazol

<b>Tr-S</b>	-	<i>T. asperellum</i>	<i>T. asperellum</i>	Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Estrobilurina e Triazol
<b>Tr+Ba</b>		<i>B. subtilis</i> + <i>T. asperellum</i>	<i>B. subtilis. asperellum</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>T. asperellum</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>T. asperellum</i>
<b>Tr+Ba-S</b>		<i>B. subtilis</i> + <i>T. asperellum</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>T. asperellum</i>	Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Estrobilurina e Triazol
<b>Tr-Ba-S</b>	<i>T. asperellum</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	Carboxamida, Triazolintiona e Estrobilurina	Estrobilurina e Triazol

<sup>1</sup>Foram utilizados os adjuvantes Silkon (50 mL 100 L água<sup>-1</sup>) + Naft (50 mL 100 L água<sup>-1</sup>) em todos os tratamentos, exceto os produtos que o fabricante especifica o tipo de adjuvante. <sup>a</sup>DAS: dias após semeadura; <sup>b</sup>DAE: Dias após emergência.

### 3.1.2 Avaliação de doenças foliares

As avaliações das doenças iniciaram após o surgimento dos primeiros sintomas visíveis nas plantas. Para cada avaliação, foram escolhidas quatro plantas por parcela. Essas avaliações foram realizadas cinco vezes ao longo do período de estudo, uma vez por semana. Para cada teste, amostras de folhas dos terços inferior, médio e superior das plantas foram coletadas. As representações visuais dessas escalas permitiram atribuir valores numéricos ou categorias aos sintomas das plantas. Foram avaliadas nos dois anos: Ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) pela escala diagramática de GODOY et al. 2006; Mancha alvo (*Corynespora cassiicola*); Mancha parda (*Septoria glycines*); e Mancha “olho de rã” (*Cercospora sojina*) pela escala diagramática recomendada por SOARES et al. 2009. Os valores foram atribuídos de acordo com a severidade dos sintomas foram submetidos ao cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade (AACPS) (MADDEN et al., 2017). Ao final, os três terços foram somados para representar a AACPS total de cada parcela.

### 3.1.3 Desfolha e produtividade

Com a senescência das folhas no final do ciclo de crescimento, a desfolha foi estimada usando o método de quantificação visual descrito por Hirano et al. (2010). Após o fim do ciclo de crescimento, a colheita foi realizada mecanicamente com a umidade dos grãos em torno de 18%. Foi avaliada a produtividade de cada parcela demonstrada em tonelada por hectare.

### 3.1.4 Teste de sanidade das sementes

Parte dos grãos colhidos foi submetida ao teste de sanidade para verificar a incidência de patógenos (teste de blotter), 100 sementes de cada parcela foram divididas em placas do tipo gerbox. As sementes passaram por um processo de desinfestação superficial, por meio da imersão em uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 1,0% por 60 segundos, seguido de imersão em álcool 70% por 30 segundos. Em seguida, as sementes foram lavadas com água destilada e esterilizada. As sementes limpas foram então dispostas sobre papel filtro imergido em 15 ml de ágar-água (0,5%). As placas foram colocadas em uma incubadora com temperatura constante de 25°C e luminosidade controlada por 24 horas. Após esse período, as sementes foram congeladas e retornadas à incubadora nas mesmas condições por mais 120 horas. Com auxílio de microscópios ópticos e estereoscópios avaliou-se a presença de fungos patogênicos nas sementes.

## 3.2 EXPERIMENTOS *IN VITRO*

### 3.2.1 Compatibilidade entre produtos à base de *Trichoderma* e *Bacillus*

Para avaliar a compatibilidade entre os produtos biológicos utilizaram-se dois tratamentos para cada produto, um com uso do filtrado do sobrenadante de cada isolado e outro com filtrado direto do produto formulado. Na primeira situação, após o crescimento de cada microrganismo por 3 dias em placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), adicionou-se 10 mL de água destilada diretamente nas placas, seguido de agitação manual. Os sobrenadantes obtidos foram filtrados a 0,22 µm (milipore) para eliminar as células dos microrganismos, obtendo-se apenas compostos produzidos por cada agente biológico. Em seguida, para verificação da compatibilidade, o filtrado de *Trichoderma* spp. foi misturado com

o produto à base de *Bacillus* spp. e o filtrado de *Bacillus* spp. foi misturado junto ao produto à base de *Trichoderma* spp., ou seja, cada filtrado foi misturado com o outro agente biológico, para garantir somente o crescimento de cada microrganismo separadamente, mas sob a influência dos compostos do outro. O outro tratamento consistiu na filtração direta do produto. O produto foi diluído de acordo com recomendação no campo. Logo, o filtrado do produto a base de *T. asperellum* foi combinado com o produto à base de *B. subtilis*, enquanto o filtrado de produto a base de *B. subtilis* foi misturado com o produto à base de *T. asperellum*. Cada mistura foi deixada em repouso por duas horas e, em seguida, aplicada em câmara de pulverização de CO<sub>2</sub> (Research Sprayer Generation III, Devries Manufacturing Inc., Hollandale, MN, EUA). Para cada tratamento, a taxa de aplicação foi de 170 litros por hectare (L.ha<sup>-1</sup>) com uma pressão constante de 2,5 bar (250 kPa) e uma velocidade de pulverização de 3,6 m.s<sup>-1</sup>. A pulverização foi realizada sobre BDA em placas de Petri, para simular aplicação em campo (Santo et al., 2022). As placas foram fechadas e deixadas em câmara de crescimento a 25 °C com 12 h de luz. Após 24 h, as placas foram removidas e o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de *T. asperellum* e *B. subtilis* foi estimado.

### 3.2.2 Testes de compatibilidade entre produtos à base de *Trichoderma* e fungicidas

Foram utilizados os mesmos produtos químicos dos experimentos em campo para verificação da compatibilidade com *Trichoderma* spp.. Os tratamentos consistiram em: Somente produto a base de *T. asperellum* (Controle); Produto a base de *T. asperellum* com produto à base de triazól (Triazól); Produto a base de *T. asperellum* com produto à base de carboxamida + triazól + estrobilurina (Carboxamida + Triazól + Estrobilurina); Produto a base de *T. asperellum* com produto à base de carboxamida + estrobilurina (Carboxamida + Estrobilurina); e Produto a base de *T. asperellum* com produto à base de mancozebe (Mancozebe). Os produtos foram aplicados nas recomendações para as concentrações de campo mais adequadas para cada fungicida químico usado (Item 3.2.1). Após a mistura dos ingredientes em um micro tubo, os procedimentos foram mantidos a temperatura ambiente por duas horas antes de serem aplicados às placas. As misturas foram aplicadas em câmara de pulverização de CO<sub>2</sub>. Em seguida, placas de Petri contendo o meio BDA foram colocadas no pulverizador dentro da câmara esterilizada. Os tratamentos foram pulverizados sobre as placas abertas como se fossem aplicados no campo. Após um dia na câmara de crescimento, as placas foram retiradas e foi calculado o número de UFCs de *T. asperellum*.

### 3.2.2.1 Controle de fungos patogênicos por compostos produzidos por *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* e pela combinação dos agentes

Com o objetivo de investigar os efeitos dos filtrados livre de células produzidas pelos produtos à base de *T. asperellum* e *B. subtilis* foi feita uma avaliação dos compostos produzidos pelos agentes biológicos no crescimento micelial de fungos patogênicos. Foram avaliados os fungos patogênicos presentes nas culturas da soja causadores de mancha alvo (*Corynespora cassiicola*), mancha “olho-de-rã” (*Cercospora sojina*) e mancha parda (*Septoria glycines*) cedidos pelo Instituto Phytus | Staphyt. O efeito dos compostos foi avaliado pelo uso de filtrados de culturas ou pela emissão de compostos voláteis do crescimento dos microrganismos dos produtos. Os filtrados foram obtidos por cultivo dos microrganismos em meio líquido BD, crescidos por um período de 72 horas no agitador orbital a 250 rpm. Em seguida, os microrganismos passaram por um processo de filtração utilizando membranas de 0,22 µm (milipore) para separação de células vivas do filtrado contendo possíveis compostos produzidos no crescimento microbiano. Para avaliar a atividade antifúngica dos filtrados, discos de micélio de cada fungo patogênico foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Em cada placa, foi adicionado 100 µL dos filtrados correspondentes a cada tratamento homogeneizados com o meio. Os tratamentos foram *T. asperellum* (Tr), *B. subtilis* (Ba) e mistura de cada produto crescido juntos (Tr+Ba). Como controle, foram utilizadas placas contendo apenas os fungos, sem a adição dos filtrados. As amostras foram incubadas em uma câmara de crescimento em um fotoperíodo de 12 horas de luz a 25 °C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). O crescimento micelial de cada fungo foi monitorado ao longo de um período de sete dias, o diâmetro dos dois eixos das colônias fúngicas dos patógenos foi medido para avaliar o efeito dos tratamentos na inibição do crescimento micelial dos patógenos ao final para obtenção do crescimento em  $\text{cm}^2$ . Para verificação dos compostos voláteis emitidos por cada produto foi utilizada a técnica das placas sobrepostas (Dennis e Webster 1971) com algumas adaptações. Para isso, foram utilizadas duas placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio de cultura BDA. Um disco de 8 mm de diâmetro de cada um dos patógenos isolados individualmente em BDA (*S. glycines*, *C. cassiicola* e *C. sojina*) foi repicado base de uma das bases de placa de Petri. Cem µl dos produtos *Trichoderma asperellum* (Tr) ( $10^{10}$  UFC/mL), *Bacillus subtilis* (Ba) ( $10^9$  UFC/mL) foi adicionada na outra base de placa de Petri. O controle consistiu em duas bases de placas de Petri: uma com o patógeno e a outra apenas meio de cultura BDA. Após a adição dos patógenos

e do produto contendo os metabólitos, as placas foram sobrepostas e seladas com um filme plástico transparente nas laterais para evitar a dispersão dos metabólitos voláteis. As amostras foram incubadas em uma câmara de crescimento a um fotoperíodo de 12 horas a 25 °C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). No sétimo dia, a inibição do crescimento micelial foi avaliada. O diâmetro dos dois eixos das colônias fúngicas dos patógenos foi medido para avaliar o efeito dos tratamentos na inibição do crescimento micelial dos patógenos.

### 3.3 ESTATÍSTICAS

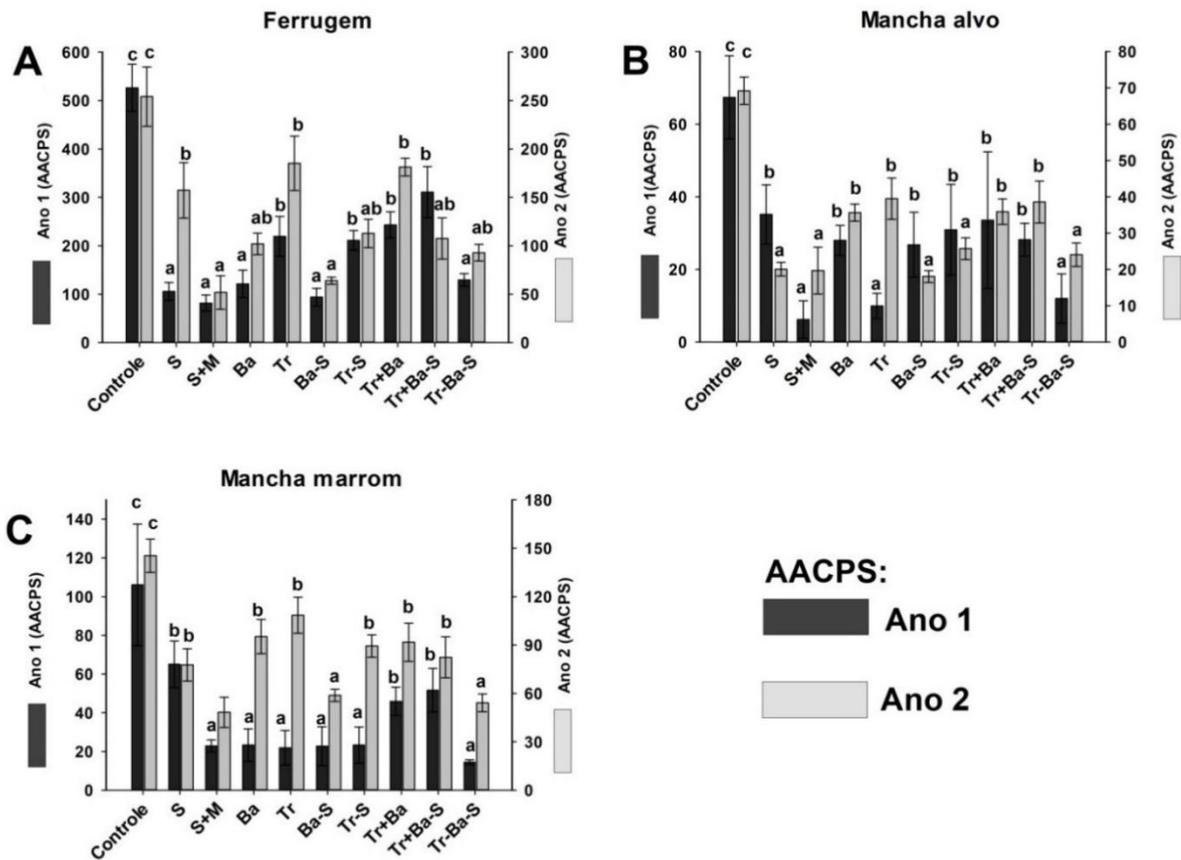
Todos os experimentos foram realizados duas vezes, sendo que nos experimentos em campo foram utilizadas quatro repetições e os experimentos em laboratório tiveram seis repetições. Os experimentos de laboratório foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial dos experimentos (Experimento 1 x Experimento 2) e nenhum mostrou diferença, sendo analisados em uma análise conjunta. Os dados de todos os experimentos foram submetidos a ANOVA e agrupadas de acordo com o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. EFEITO DOS PRODUTOS NO MANEJO DE DOENÇAS FOLIARES DA SOJA EM CAMPO

Em ambos os anos de experimento, as principais doenças fúngicas encontradas nas folhas foram ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), mancha alva (*Corynespora cassiicola*) e septoriose (*Septoria glycines*). A severidade das doenças foi reduzida em todos os tratamentos, quando comparados ao controle nos dois anos (Figura 1). A ferrugem asiática diminuiu significativamente em todos os tratamentos sem comparação com o controle ( $P < 0,05$ ), sendo o mais eficiente, em ambos os anos, o uso de Ba-S (*B. subtilis* seguido de manejo químico) (Figura 1A). Para mancha alva a menor severidade foi pelo uso de Tr-Ba-S (*T. asperellum*, seguido de *B. subtilis* e posterior manejo químicos) (Figura 1B). Enquanto que para mancha parda os mais eficientes foram Ba-S e Tr-Ba-S (Figura 1C).

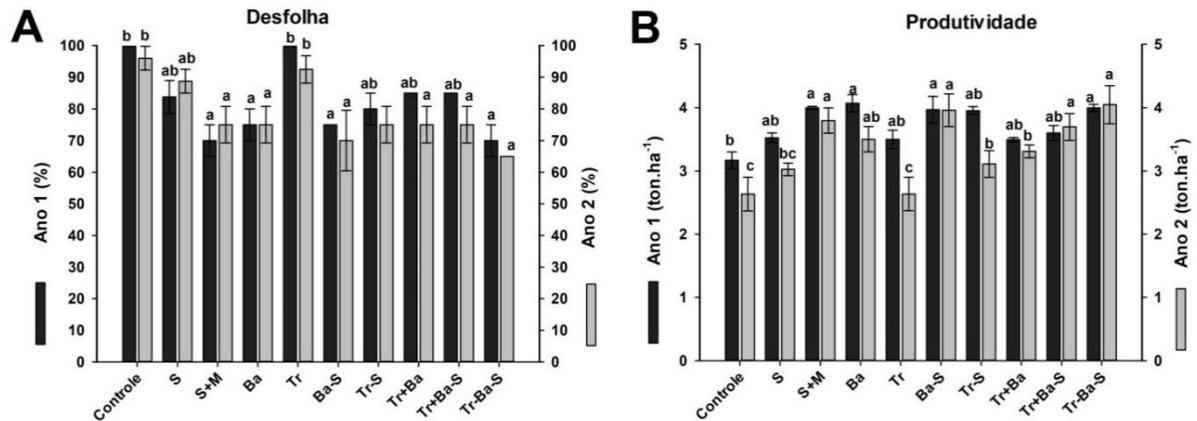
Figura 1 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) de doenças causadas por patógenos foliares na cultura da soja.



Onde controle (Controle); Fungicida sistêmico (S); Sistêmico em conjunto com multissítio (S+M); produto à base de *B. subtilis* (Ba); Produto à base de *T. asperellum* (Tr); *B. subtilis* seguido de manejo sistêmico (Ba-S); Produto à base de *T. asperellum* seguido de manejo sistêmico (Tr-S); Mistura de produto a base de *T. asperellum* e *B. subtilis* (Tr+Ba); Mistura de *T. asperellum* e *B. subtilis*, seguido de manejo sistêmico (Tr+Ba-S); Aplicação de *T. asperellum* seguido de *B. subtilis* finalizado com manejo sistêmico (Tr-Ba-S). A média das severidades com a mesma letra não apresenta diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ). As barras representam o erro padrão da média.

Em relação a desfolha, apenas o Tr não diferiu do controle em ambos os anos ( $P < 0.01$ ). Ba, S+M, Ba-S e Tr-Ba-Sa apresentaram cerca de 20% menos desfolha que o controle, sendo os mais significantes (Figura 2 A). A produtividade de Ba, S+M, Ba-S e Tr-Ba-S foi cerca de 25% maior que o controle em ambos os anos ( $P = 0.03$  ano 1;  $P = 0,01$  ano 2), enquanto que o uso do Tr foi o único tratamento sem diferença em relação ao controle em pelo menos um dos anos (Figura 2 B).

Figura 2 – Fatores de crescimento e desenvolvimento da cultura da soja submetida a diferentes tratamentos. A: porcentagem de desfolha no final do ciclo. B: Produtividade da cultura da soja.

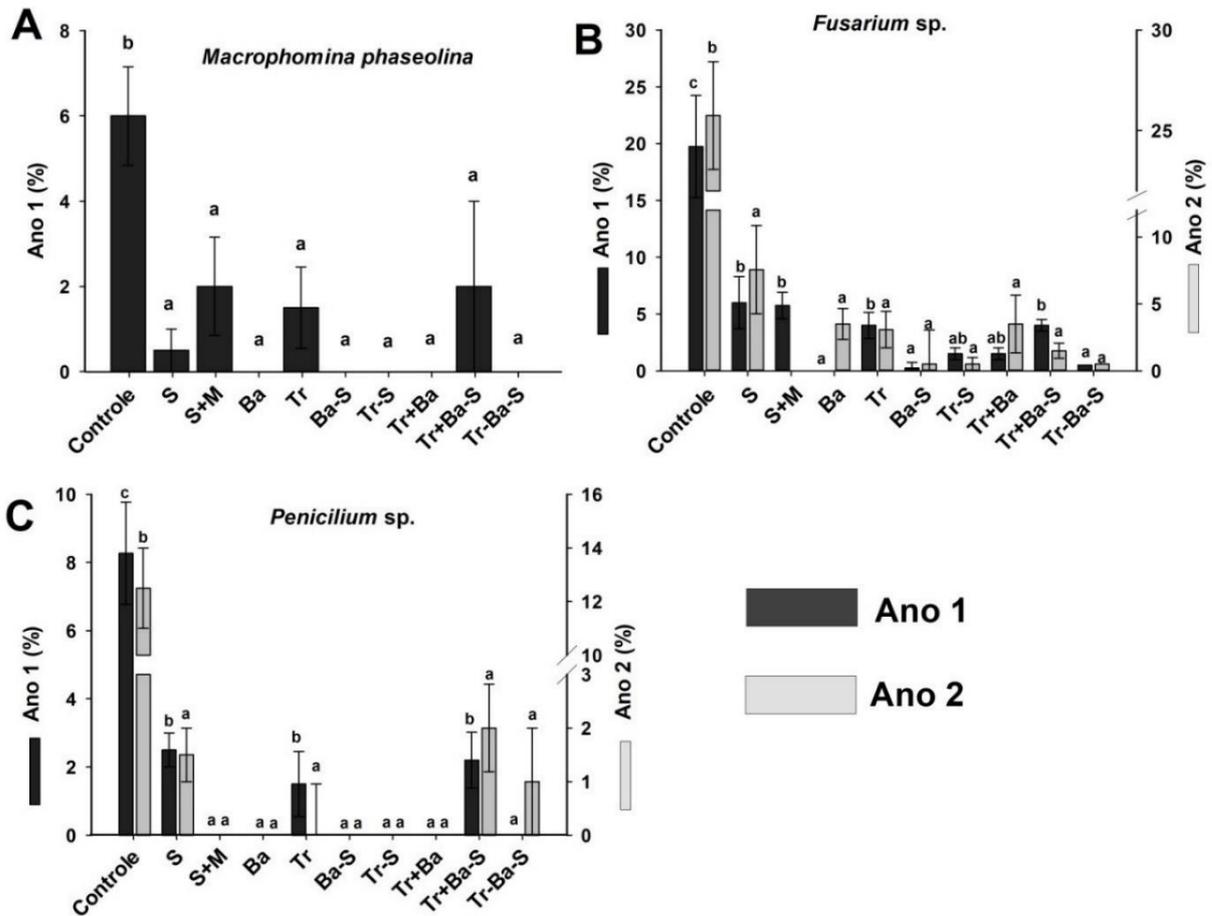


Onde controle (CONTROLE); Fungicida sistêmico (S); Sistêmico em conjunto com multissítio (S+M); produto à base de *B. subtilis* (Ba); Produto à base de *T. asperellum* (Tr); *B. subtilis* seguido de manejo sistêmico (Ba-S); Produto à base de *T. asperellum* seguido de manejo sistêmico (Tr-S); Mistura de produto a base de *T. asperellum* e *B. subtilis* (Tr+Ba); Mistura de *T. asperellum* e *B. subtilis*, seguido de manejo sistêmico (Tr+Ba-S); Aplicação de *T. asperellum* seguido de *B. subtilis* finalizado com manejo sistêmico (Tr-Ba-S). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ). Barras mostram o erro padrão da média.

#### 4.1.1 Teste de sanidade das sementes

Os fungos identificados infectando as sementes foram *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina* e *Penicillium* sp. (Figura 3). Todos os tratamentos com biológicos reduziram os fungos no teste em ambos os anos ( $P < 0.01$ ). No entanto, a *M. phaseolina* foi detectada somente no primeiro ano, onde todos os tratamentos reduziram a incidência significativamente em relação ao controle e de forma semelhante (Figura 3 A). Para os outros fungos os tratamentos Ba, Ba-S e Tr-Ba-S apresentaram maior eficiência reduzindo até 100% da incidência, enquanto os outros tratamentos reduziram cerca de 70% em ambos os anos (Figura 3B e C).

Figura 3 – Incidência de fungos (%) em sementes de soja oriundas de plantas submetidas a diferentes tratamentos. Incidência de A: *Fusarium* sp. B: *Macrophomina phaseolina*. C: *Penicillium* sp.



Onde tratamento controle (CONTROLE); Fungicida sistêmico (S); Sistêmico em conjunto com multissítio (S+M); produto à base de *B. subtilis* (Ba); Produto à base de *T. asperellum* (Tr); *B. subtilis* seguido de manejo sistêmico (Ba-S); Produto à base de *T. asperellum* seguido de manejo sistêmico (Tr-S); Mistura de produto a base de *T. asperellum* e *B. subtilis* (Tr+Ba); Mistura de *T. asperellum* e *B. subtilis*, seguido de manejo sistêmico (Tr+Ba-S); Aplicação de *T. asperellum* seguido de *B. subtilis* finalizado com manejo sistêmico (Tr-Ba-S). Barras mostram o erro padrão da média. Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras representam o erro padrão da média.

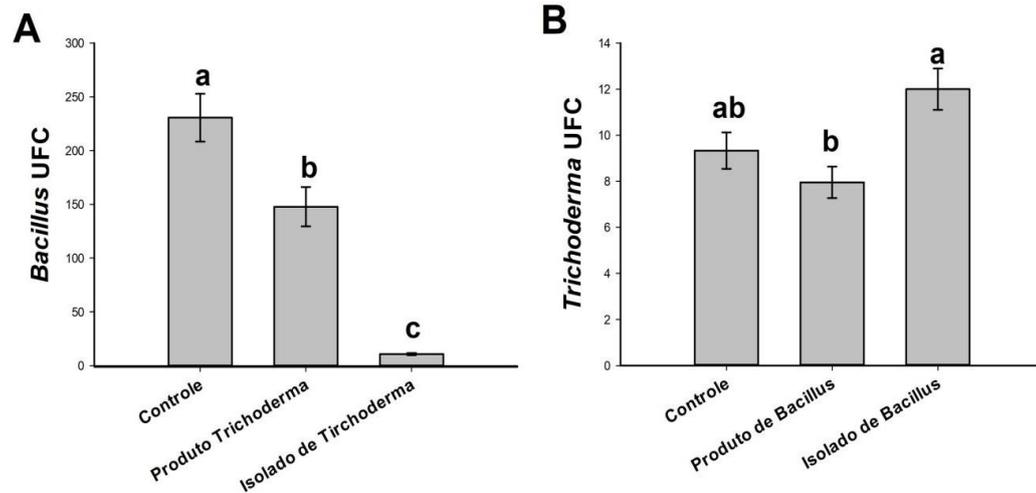
## 4.2 ENSAIOS *IN VITRO*

### 4.2.1 Compatibilidade entre produtos à base de *Trichoderma* e *Bacillus*

A interação entre *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. resultou em alterações significativas no crescimento dos microrganismos (Figura 4). Tanto o uso de filtrados do produto quanto do isolado de *T. asperellum* reduziram significativamente o crescimento de *B. subtilis* ( $P < 0,01$ ) (Figura 4 A). O filtrado de *T. asperellum* apresentou maior redução no crescimento de *B. subtilis*, próximo a 100%. No entanto, quando avaliado o crescimento de *T. asperellum* em

relação a aplicação de filtrados de *B. subtilis*, não houve redução do crescimento do fungo, mas houve diferença comparado ao controle ( $P=0.03$ ) (Figura 4 C). Quando o filtrado do isolado de *B. subtilis* foi adicionado, houve um aumento de cerca de 57% no favorecimento do crescimento do *T. asperellum*.

Figura 4 – Crescimento de unidades formadoras de colônias (UFCs) A: de *Bacillus subtilis* e B: *Trichoderma asperellum* após aplicação de filtrados de produtos ou de isolados.

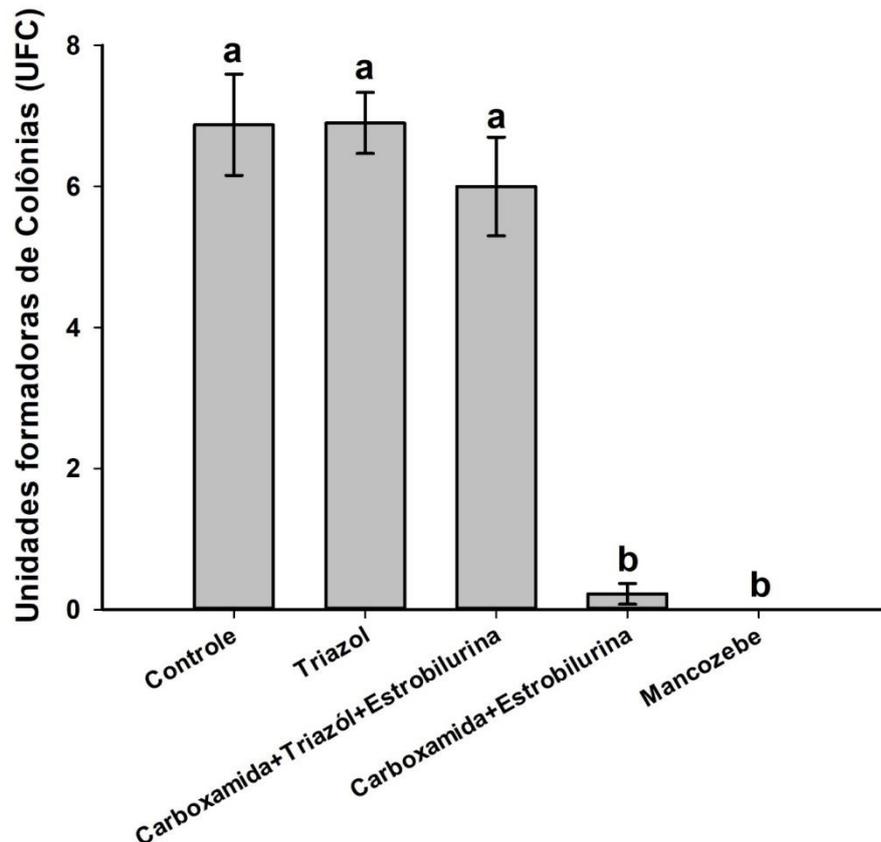


Onde A: Crescimento de *B. subtilis* após aplicação de filtrados de produtos ou de isolado de *T. asperellum*. B: Crescimento de *T. asperellum* após aplicação de filtrados de produtos ou de isolado de *B. subtilis*. Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.2.2 Testes de compatibilidade entre produtos à base de *Trichoderma* spp. e fungicidas

Observou-se uma redução significativa na formação de colônias de *Trichoderma* spp. ao ser aplicado às placas contendo alguns dos diferentes fungicidas químicos ( $P < 0,001$ ). Essa diminuição foi observada para mancozebe e carboxamida + estrubirulina com redução de mais de 80% na formação de colônias (Figura 5).

Figura 5 - Compatibilidade de *Trichoderma* spp. a fungicidas químicos utilizados no manejo da cultura da soja. Número de unidades formadoras de colônia (UFCs) com as doses utilizadas a campo.

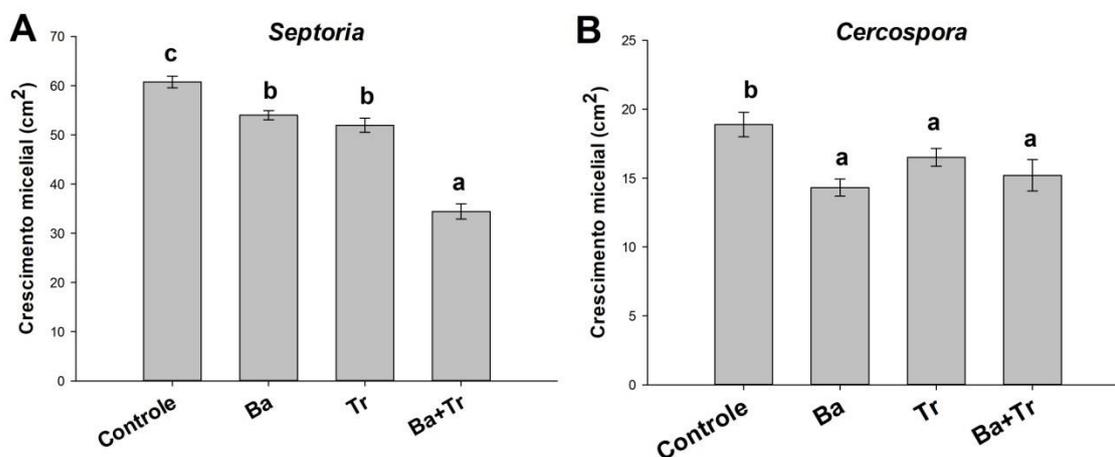


Onde produto a base de *Trichoderma asperellum* (Controle); Produto a base de *T. asperellum* em conjunto com produto à base de triazol (Triazol); Produto a base de *T. asperellum* em conjunto com produto à base de carboxamida + triazol + estrobilurina (Carboxamida + Triazol + Estrobilurina); ; Produto a base de *T. asperellum* em conjunto com produto à base de carboxamida + estrobilurina (Carboxamida + Estrobilurina); Produto a base de *T. asperellum* em conjunto com produto à base de mancozebe (Mancozebe). Barras representam erro padrão da média. Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.2.2.1 Controle de fungos patogênicos via filtrados e compostos voláteis produzidos por *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis*

Pelo uso de filtrados aplicados na placa, não foram observadas diferenças significativas nos tratamentos para os fungos *C. cassiicola* em relação ao controle ( $P=0,07$ ). No entanto, para o fungo *S. glycines*, a combinação de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. apresentou um maior efeito, reduzindo cerca de 55% o crescimento micelial, enquanto os outros tratamentos reduziram cerca de 15% (Figura 5A). Para *C. soja* a redução foi semelhante entre os tratamentos em cerca de 15% em relação ao controle ( $P=0,01$ ) (Figura 5B).

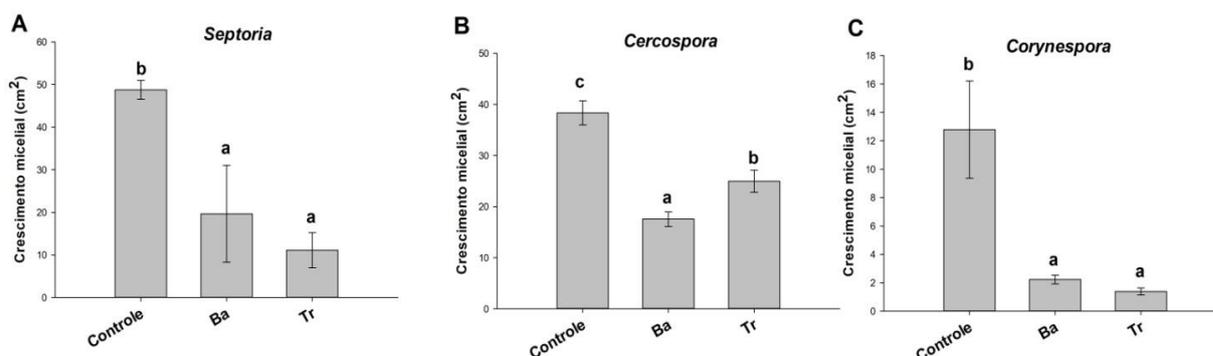
Figura 6 - Controle de (A) septoriose (*Septoria glycines*) e (B) cercospora (*Cercospora sojina*) com filtrados de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma asperellum* e a combinação de ambos.



Onde (CONTROLE); filtrado de produto à base de *B. subtilis* (Ba); filtrado do produto à base de *T. asperellum* (Tr); filtrado de produto à base de *B. subtilis* e do produto à base de *T. asperellum* (Ba+Tr). Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Em relação ao efeito dos compostos voláteis emitidos por *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp., os resultados obtidos para os fungos *S. glycines* e *C. cassiicola* foram semelhantes, onde os *B. subtilis* quanto com *T. asperellum* resultaram em uma redução significativa no crescimento desses fungos em mais de 40% ( $P < 0.01$ ). No entanto, no caso do fungo *C. sojina*, os voláteis emitidos por *B. subtilis* em cerca de 45%, enquanto o *T. asperellum* também foi eficiente no controle, mas em menor grau ( $P = 0.03$ ).

Figura 7 - Controle de (A) septoriose (*Septoria glycines*), (B) cercospora (*Cercospora sojina*) e (C) corynespora (*Corynespora cassiicola*) com compostos voláteis produzidos por *Bacillus subtilis* e *Trichoderma. asperellum*.



Onde controle (CONTROLE); composto volátil de *B. subtilis* (Ba) e composto volátil de *T. asperellum* (Tr). Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras representam o erro padrão da média.

## 5. DISCUSSÃO

Bactérias do gênero *Bacillus spp.* e fungos do gênero *Trichoderma spp.* têm sido reconhecidos por sua eficiência no controle de doenças na cultura da soja (KÖHL et al., 2019). Neste trabalho, foi possível verificar o potencial do uso de ambos os agentes no controle de doenças e no incremento da produtividade. O uso de *Bacillus spp.* dentro do manejo, mostrou maior eficiência quando utilizado antes do manejo com fungicidas químicos sistêmicos ou seguido do uso de *Trichoderma spp.* sobre os restos culturais. Isolados de *Trichoderma spp.* já demonstram resultados promissores no controle de doenças causadas por patógenos sobreviventes no solo ou em restos culturais da soja (LI et al., 2018). O fungo produz metabólitos secundários que enfraquecem as paredes celulares de bactérias patogênicas, inibindo seu crescimento, elevando a resistência das plantas a doenças e promovendo o crescimento vegetal (RAM et al., 2020; OLOWE et al., 2022). Isolados de diversas espécies de *Bacillus* demonstraram capacidade de controlar doenças foliares da soja tanto quando utilizados isoladamente quanto em combinação com fungicidas químicos, melhorando o crescimento e a produtividade das plantas em condições adversas, através da produção de substâncias benéficas como hormônios e enzimas solubilizantes. (SANTOS et al., 2022; RADHAKRISHNAN et al., 2017). No entanto, a combinação entre os microrganismos não mostrou maior eficiência, sugerindo uma interferência entre *Trichoderma/Bacillus* no controle biológico. Pelos estudos em laboratório foi verificada uma redução no crescimento de *Bacillus spp.* ao ser adicionado filtrados de *Trichoderma spp.*. Assim, apesar da eficiência de ambos os microrganismos no controle de doenças no campo, o fungo antagonista pode interferir no crescimento de *Bacillus spp.*.

No campo, estudos comprovam que o uso exclusivo do *Bacillus spp.* como agente preventivo, revela-se eficiente no controle de doenças foliares, proporcionando benefícios significativos em termos de produtividade (DORIGHELLO et al., 2020; FIRA et al., 2018). A aplicação do *B. subtilis*, tanto isoladamente quanto em conjunto com fungicidas sistêmicos, resultou na redução da severidade e incidência de doenças como ferrugem asiática e manchas foliares. Essa proteção aliada à promoção do crescimento das plantas, mostram o efeito da bactéria como um agente biológico multissítio. Entretanto, neste estudo, além do efeito de *B. subtilis*, foi demonstrada a eficácia de *T. asperellum* no controle de múltiplas doenças da soja, bem como a sua capacidade de ser utilizado em combinação com diferentes produtos. O formulado de *T. asperellum* utilizado mostrou-se compatível tanto com o *B. subtilis* quanto com

a maioria dos fungicidas químicos avaliados. Apesar disso, o antagonista fúngico apresentou um desempenho inferior ao bacteriano, quando aplicado isoladamente em todas as pulverizações. O fungo *Trichoderma* spp. é um habitante de solo e mostra-se adaptado para o controle de doenças neste ambiente (EL-BENAWY et al., 2020; CONTE et al., 2022). No entanto, na parte aérea, o fungo pode ser prejudicado por fatores ambientais e químicos no campo. Dessa maneira, para o controle de doenças no campo e pós colheita, o uso de *Bacillus* spp. antes do uso de fungicidas químicos representa a melhor alternativa para o controle biológico, enquanto que *Trichoderma* spp. mostra-se como um auxiliar no início do ciclo, antes do fechamento da cultura, provavelmente pelos efeitos sobre patógeno sem restos culturais como vimos nas avaliações em laboratório pela atividade de compostos tóxicos a fungos patogênicos. Estudos elucidam que o fungo antagonista é crucial na promoção do microbioma benéfico das plantas, pois inibe patógenos por meio de múltiplos mecanismos, controla a diversidade e abundância da comunidade microbiana do solo de forma efetiva (HARWOKO et al., 2019).

Além da maior adaptação a condições do solo, em relação à compatibilidade dos agentes, o uso de filtrados de *Trichoderma* spp. interferiu no aumento populacional de *Bacillus* spp., mas o contrário não aconteceu. A falta de incremento no efeito do campo pela combinação dos biológicos pode estar relacionada à incompatibilidade dos microrganismos naquele ambiente (RAMÍREZ-CARIÑO et al., 2020). Isolados eficientes no controle de doenças podem ser prejudicados em diferentes mecanismos quando combinados, a combinação de diferentes isolados nem sempre resulta em efeitos aditivos ou sinérgicos, sofrendo oscilações na eficácia dependendo de fatores como condições ambientais específicas, métodos de aplicação utilizados e as espécies-alvo (KARUPPIAH et al., 2019; CRUZ-MAGALHAES et al., 2022). Além disso, o efeito pode variar de acordo com ambiente, mecanismo de cada microrganismo e objetivo a ser alcançado no controle (KARUPPIAH et al., 2019). O fato do crescimento de *Trichoderma* spp. não ser interferido pelos filtrados de *Bacillus* spp. mostra o potencial do uso da combinação entre os bioprodutos para controle de patógenos de solo (IZQUIERDO-GARCÍA et al., 2020), onde o produto a base de *Trichoderma* spp. é recomendado e registrado para o uso no Brasil (Agrofit 2023). Como o produto a base de *Bacillus* spp. se mostra mais eficiente na parte aérea, a combinação neste local pode interferir nas atividades da bactéria e finalmente no rendimento da cultura. Neste trabalho verificamos que, assim como *B. subtilis* (SANTOS et al., 2022), o produto a base de *T. asperellum* apresentou certa compatibilidade com a maioria dos fungicidas utilizados no campo. Houve incompatibilidade com fungicidas a base de mancozebe e

carboxamida + estrobilurina, diferente dos produtos à base de triazol e de carboxamida + triazol + estrobilurina que não reduziram o crescimento de *Trichoderma* spp.. Aparentemente, o triazol amenizou o efeito dos princípios químicos contra *Trichoderma* spp., onde os produtos à base de carboxamida + triazol + estrobilurina foram menos tóxicos do que carboxamida + estrobilurina. Isso pode estar relacionado à formulação dos produtos. No entanto, trabalhos demonstram que triazóis podem ser degradados por espécies de *Trichoderma* e não apresentam efeitos tóxicos (Shen). Assim, é importante verificar a compatibilidade dos produtos químicos a serem combinados com os agentes biológicos para obterem-se melhores resultados no campo e evitar interferência no mecanismo de ação do agente biológico, pois muitos mecanismos dependem não só de metabólitos, mas do crescimento fúngico sobre patógenos (WOO et al., 2023, ONS et al., 2020)

Os compostos produzidos por ambos os microrganismos apresentaram, no geral, eficiência em reduzir o crescimento micelial de fitopatógenos que sobrevivem no solo. Tanto *Trichoderma* spp. quanto *Bacillus* spp. podem produzir compostos tóxicos a diversos patógenos, sendo este mecanismo importante no controle de doenças de solo e parte aérea (KARUPPIAH et al., 2019). No entanto, o efeito dos produtos isoladamente foi semelhante na maioria dos casos e houve pouco incremento no mecanismo de antibiose ao se combinar os biológicos. Em algumas situações a combinação entre microrganismos não representa aumento nos compostos tóxicos a patógenos e podem prejudicar o crescimento da planta hospedeira (CRUZ-MAGALHAES et al., 2022). Esse resultado reforça a ideia do uso de *Trichoderma* spp. ser mais eficiente no solo ou aplicado sobre a palhada, comparado a pulverização foliar, já que seu crescimento não é interferido pelos compostos produzidos por *Bacillus* spp. e podem atuar contra os patógenos se desenvolvendo sobre os restos de cultura. Além disso, *Trichoderma* spp. pode interferir no metabolismo da planta pela alteração de rotas de defesa, o que em excesso pode levar a custos metabólicos em formação de hormônios e outros fatores de crescimento (ALFIKY&WEISSKOPF, 2021)

Os resultados deste estudo indicam que os gêneros *Bacillus* e *Trichoderma* apresentam potencial de uso no controle de doenças foliares da soja. A pulverização com *T. asperellum*, seguida por *B. subtilis*, foi eficiente no controle de múltiplos patógenos, resultando em rendimentos de soja comparáveis ao manejo convencional com fungicidas. No entanto, o uso de *Bacillus* spp. como multissítio se mostra como uma ferramenta eficiente no controle de doenças e promoção de crescimento da soja como já verificado anteriormente (SANTOS et al., 2022). Isso tudo pode ser explicado pela interferência do crescimento de *Bacillus* spp. por

compostos de *Trichoderma* spp. como verificado neste trabalho. O que não interfere no mecanismo de antibiose, mas pode resultar em perda de eficiência no campo. Assim, este trabalho demonstrou pela primeira vez os compostos de *T. asperellum* interferindo no crescimento de *B. subtilis* e possivelmente, como consequência na sua eficiência em pulverizações foliares. Isso tudo demonstra que *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. apresentam potencial como ferramenta para o manejo de doenças foliares da cultura da soja, mas o posicionamento correto, pensando em compatibilidade e mecanismos de ação, é fundamental para o sucesso.

## 6. CONCLUSÕES

Os produtos à base de *B. subtilis* e *T. asperellum* controlam doenças foliares na cultura da soja, promovem maior produtividade e melhor sanidade de sementes colhidas. No entanto, o uso de *Trichoderma* spp. previamente ao *Bacillus* spp., ou somente aplicações com *Bacillus* spp. antes do manejo químico sistêmico apresentaram maior eficiência. Compostos produzidos por *T. asperellum* interferem na formação de colônias de *B. subtilis*, mas compostos de *B. subtilis* não interferem no crescimento de *T. asperellum*. No entanto, tanto compostos de *Bacillus* spp. quanto de *Trichoderma* spp. controlaram diferentes patógenos fúngicos de soja, mas sem incremento no efeito ao combinar os produtos.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT, 2023. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.** Disponível em: <[https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 23 jun 2023
- AHMAD, G. et al. Biological control: a novel strategy for the control of the plant parasitic nematodes. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 114, n. 7, p. 885–912, 24 abr. 2021.
- ALFIKY, A.; WEISSKOPF, L. Deciphering *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 1, p. 61, 18 jan. 2021.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**. Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ARTURSSON, V., FINLAY, R. D., & JANSSON, J. K. (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. **Environmental microbiology**, 8(1), 1-10.

ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F. & MELLO, S. C. M. 2005. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Embrapa Recursos Genéticos. Brasília. Boletim Técnico de Desenvolvimento e Pesquisa 177. **Embrapa**. Brasília – Distrito Federal.

BALARDIN, R.S. **Doenças da soja Santa Maria**: Ed. Autor, 2002. 107p.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied microbiology and biotechnology**, Boston, v. 53, n. 5, p. 495-508, May. 2000.

BARBOSA, J.Z., R. CONSALTER, F.M. VEZZANI, A.C.V. MOTTA. 2015. Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. **Revista Agrogeoambiental**. 7(3): 99-116.

BARBOSA J. Z., HUNGRIA M., PRIOR S. A., MOURA M. C., POGGERE G., MOTTA A. C. V. 2022. Improving yield and health of legume crops via co-inoculation with rhizobia and *Trichoderma*: Aglobal meta-analysis. **Applied Soil Ecology**, 76: 104493.

BETTIOL. W.; GHINI, R. CONTROLE BIOLÓGICO. IN: BERGAMIN FILHO, A.; DIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Ceres. 3 ed. São Paulo. Cap. 36, p. 717-727, 1995.

BEVER, J. D.; PLATT, T. G.; MORTON, E. R. Microbial Population and Community Dynamics on Plant Roots and Their Feedbacks on Plant Communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 265–283, 13 out. 2012.

BHATTACHARYYA, P.N., M.P. GOSWAMI, L.H. BHATTACHARYYA. 2016.

Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario: A review. **Journal of Phytology**. 8: 26-41.

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, n. 1, p. 1–16, jan. 2006.

CAI, F., YU, G., WANG, P., WEI, Z., FU, L., & SHEN, Q. (2018). Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*. **Plant physiology and biochemistry**, 128, 44-52.

CERNAVA, T. How microbiome studies could further improve biological control. **Biological Control**, v. 160, p. 104669, set. 2021.

CHANG, K.-F. et al. Disease reaction to *Rhizoctonia solani* and yield losses in soybean. **Canadian Journal of Plant Science**, 12 jul. 2017.

CHOWDHURY, S. P., HARTMANN, A., GAO, X., & BORRIS, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42—a review. **Frontiers in microbiology**, 6, 780.

CLEMENTE, J. M.; CARDOSO, C. R.; VIEIRA, B. S. E.; DA MATA FLOR, I.; COSTA, R. L. Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop. **African Journal of Agricultural Research**, Nairóbi, v. 11, n. 35, p. 3355-3359, Sep. 2016.

COHN, F. Untersuchungen über Bakterien. **Beiträge zur Biologie der Pflanzen Heft**, Berlin, v. 2, n. 1. p. 127-224, Jan. 1872.

CONAB. **Boletim da Safra de Grãos**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 20 jan 2022.

CONTE, E., MAGRO T., DAL BEM L. et al. Use of *Trichoderma* spp. in no-tillage system: Effect on soil and soybean crop, **Biological Control**, v. 171, p. 104941–104941, 1 ago. 2022.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A., MACÍAS-RODRÍGUEZ, L., CORTÉS-PENAGOS, C., & LÓPEZ-BUCIO, J. (2014). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant physiology**, 165(4), 1891-1906.

CONTRERAS-CORNEJO, NA; MACÍAS-RODRÍGUEZ, LM; CORTÉS-PENAGOS, C; LÓPEZ-BUCIO, J. 2009. *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through a Auxin-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** Vol. 149: pp. 1579–1592.

COOK, R. J. & BAKER, K. F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. **The American Phytopathological Society**. Minnesota - U.S.A.

COSTAMILAN, L. M. O sistema plantio direto e a doenças de soja e de feijão na Região Sul do Brasil. (**Documentos Online. Embrapa Trigo, 1**) 1999. Disponível em: 37. Acesso em: 01 de fev de 2021.

CRUZ-MAGALHAES, V., GUIMARAES, R.A., DA SILVA, J.C., DE FARIA, A.F., PEDROSO, M.P., CAMPOS, V.P., MARBACH, P.A., DE MEDEIROS, F.H., DE SOUZA, J.T., 2022. The combination of two *Bacillus* strains suppresses *Meloidogyne incognita* and fungal pathogens, but does not enhance plant growth. **Pest Manag. Sci.** 78, 722–732.

DE ALMEIDA LOPES KB, CARPENTIERI-PIPOLO V, FIRA D, BALATTI PA, LÓPEZ SMY, ORO TH et al., Triagem de endófitos bacterianos como potenciais agentes de biocontrole contra doenças da soja. **J Appl Microbiol** 125: 1466 – 1481 (2018).

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 41-IN4, jan. 1971.

DETHOUP, T., KLARAM, R., PANKAEW, T. et al. Impacto de fungicidas e extratos de plantas em agentes de biocontrole e efeitos colaterais de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento do arroz. **Eur J Plant Pathol** 164, 567–582 (2022).

DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; CAMPOS LEITE, R. M. V. B.; BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**, 2020.

DRUZHININA, I.; KUBICEK, C.P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? **Journal of Zhejiang University Science**, v.6, p.100-112, 2005.

EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **BioControl**, 46: 387-400, 2001.

EL-BENAWY N. M., ABDEL-FATTAH G. M., GHONEEM K. M., SHABANA Y. M. 2020. Antimicrobial activities of *Trichoderma atroviride* against common bean seedborne *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, 7: 267–280

EZEJI, T. C., QURESHI, N., & BLASCHEK, H. P. (2003). Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 19(6), 595-603.

FAOSTAT.**Crop**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: 04 de mar de 2023.

FEHR, W.R., CAVINESS, C.E., BURMOOD, D.T., PENNINGTON, J.S. (2015). Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, 11(6), 929-931.

FIRA D, DIMKIĆ I, BERIĆ T, LOZO J AND STANKOVIĆ S, Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **J Biotechnol** 285:44–55 (2018).

FRIED, G., CHAUVEL, B., REYNAUD, P., SACHE, I., 2017. Impact of Biological Invasions on Ecosystem Services. Decreases in Crop Production by Non-Native **Weeds, Pests, and Pathogens**. 83–101.

GAO P, QI K, HAN Y, MA L, ZHANG B, ZHANG Y, GUAN X AND QI J (2023) Effect of *Trichoderma viride* on rhizosphere microbial communities and biocontrol of soybean root rot. **Front. Microbiol.** 14:1204688.

GAUR, RB; SHARMAM, RN. Biocontrol of root rot in cotton and compatibility of potential bioagents with fungicides. **Indian Journal of Plant Protection**, v.38, p.176-182, 2010.

GODOY, C.V.; CARNEIRO, S.M.T.P.G; IAMAUTI, M.T.; PRIA, M.D.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; FILHO, B.A.; Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1997.

GODOY, CLÁUDIA V.; KOGA, LUCIMARA J.; CANTERI, MARCELO G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.

GUIMARÃES, RA, ZANOTTO, E, PERRONY, PEP, et al. Integrating a chemical fungicide and *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 ensures leaf protection and reduces ear rot (*Fusarium verticillioides*) and fumonisin content in maize. **J Phytopathol.** 2021; 169: 139– 148.

GUO, D., ZHANG, H., YANG, J. T., YU, L. Y., WU, B. J., LI, M. M., ET AL. (2021). Occurrence status and green control counter measure for diseases and insect pests of soybeans in Shandong Province. **Soybean Sci. Technol.** 4, 27–30.

HARMAN, G. E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. **New Phytologist**, v. 189, p. 647–649, 2011.

HARMAN, G. E., HOWELL, C. R., VITERBO, A., CHET, I., & LORITO, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, 2(1), 43-56.

HARMAN, GE. Overview of Mechanisms and Uses of Trichoderma spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

HENNING, A. A. Manejo de doenças da soja (Glycine max L. Merrill). **Informativo Abrates**, v. 19, n. 3, p. 9-12, 2009.

HENNING, A. A. Manual de identificação de doenças de soja. 5.ed. Londrina: **Embrapa Soja**, 2014. 76 p.

HIRANO, M. et al. Validação de escala diagramática para estimativa de desfolha provocada pela ferrugem asiática em soja. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 3, p. 248-250, 2010.

HENNING, A.A. Patologia de sementes. Londrina: **EMBRAPA-CNPSO**, 1994. 43p.

HERMOSA, R., VITERBO, A., CHET, I., & MONTE, E. (2012). Plant-beneficial effects of Trichoderma and Bacillus interactions in agriculture. **Frontiers in microbiology**, 3, 342.

HIRAKURI, M. H.; LAZAROTTO, J. J. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. Documentos / **Embrapa Soja**, 2014. 70 p.

HARWOKO H., DALETOS G., STUHLREIER F., LEE J., WESSELBORG S., FELDBRÜGGE M., MÜLLER W. E. G., KALSCHUEER R., ANCHEEVAE., PROKSCH P. 2019. Dithiodiketopiperazine derivatives from endophytic fungi Trichoderma harzianum and Epicoccum nigrum. **Natural Product Research**, 35 (2): 257–265.

IZQUIERDO-GARCÍA, L.F., GONZÁLEZ-ALMARIO, A., COTES, A.M. et al. Trichoderma virens G1006 and Bacillus velezensis Bs006: a compatible interaction controlling Fusarium wilt of cape gooseberry. **Scientific Reports**10, 6857 (2020).

JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. C. Quantificação de doenças foliares da soja por escalas diagramáticas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29p. 111, 2004. Suplemento.

KARUPPIAH, V., VALLIKKANNU, M., LI, T. et al. Simultaneous and sequential based co-fermentations of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 and *Bacillus amyloliquefaciens* 1841: a strategy to enhance the gene expression and metabolites to improve the bio-control and plant growth promoting activity. **Microbial Cell Factories**, v. 18, n. 1, 29 out. 2019.

KHORAMDEL, S., MORSALI, A., REZAEI, S., FAEZIZADEH MOGHADDAM, M., FAZLIARAB, A., SOHRABI, S. (2020). Reaction of different soybean genotypes to *Corynespora* leaf spot disease under field conditions. *Journal of Crop Protection*, 9(1), 47-56.

KIRK, P. Index Fungorum. **CABI Bioscience, CBS and Landcare Research**, available online, ed. 2012. Disponível em [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org), Acesso em: 21 de jan de 2022.

KÖHL, J.; KOLNAAR, R.; RAVENSBERG, W. J. Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 19 jul. 2019.

KUBICEK, C. P., HERRERA-ESTRELLA, A., SEIDL-SEIBOTH, V., MARTINEZ, D. A., DRUZHININA, I. S., THON, M., ... & HENRISSAT, B. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome biology**, 12(4), R40.

LI N, ALFIKY A, WANG W, ISLAM M, NOUROLLAHI K, LIU X AND KANG S (2018) Volatile Compound – Mediated Recognition and Inhibition Between *Trichoderma* Biocontrol Agents and *Fusarium oxysporum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 31 out. 2018.

LI, S., ET AL. (2019). Genetic dissection of resistance to *Septoria glycines* in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, 132(1), 61-73.

LI, S., HARTMAN, G. L., BOYKIN, D. L., & RUIZ, J. F. (2016). Pathogenicity and virulence of *Cercospora sojina* isolates differing in aggressiveness. **Plant Disease**, 100(11), 2210-2216.

LIU, Y., WANG, Q., LI, L., ZHANG, Z., SONG, C., & ZHANG, X. (2019). *Bacillus amyloliquefaciens* LBX18 contributes to plant growth promotion and disease resistance in tomato via the production of auxins and 2, 4-diacetylphloroglucinol. **Biocontrol science and technology**, 29(10), 980-995.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. & ANTONIOLLI, Z. I. 2012. Trichoderma no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias** 35: 274-288.

MACHADO, DFM; TAVARES, AP; LOPES, SJ; DA SILVA, ACF. Trichoderma spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, 2015.

MACHADO, J.C. Tratamento de sementes no controle de doenças. **Lavras: UFLA**, 2000. 138p.

MADDEN LV, HUGHES G AND BOSCH FVD. The Study of Plant Disease Epidemics. **APS Publication**, St Paul, USA, (2017).

MAPA. 2019. <http://www.agricultura.gov.br/noticias/esclarecimentos-sobre-registros-dedefensivos-agricolas> . Consultado em 01 de fev de 2022

MASTOURI, F., BJÖRKMAN, T., & HARMAN, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, 100(11), 1213-1221.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLATI, S.F. Controle biológico de doenças em plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5 ed., v.1. Ouro Fino, MG: **Agronômica Ceres**, 2018, p.261-274

MELA, F., FRITSCHKE, K., DE BOER, W., VAN VEEN, J. A., & DE GRAAFF, L. H. (2011). The mycotoxin fusaric acid inhibits the growth of saprophytic and pathogenic bacteria by affecting the proton motive force. **Environmental microbiology**, 13(3), 542-553.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp. para El control biológico de *Sclerotium rolfsii* SACC. **Fitosanidad**, v. 11, n. 1, 2007.

MIRANDA, C. A.; MARTINS, O. B.; CLEMENTINO, M. M. Species-level identification of *Bacillus* strains isolates from marine sediments by conventional biochemical, 16S rRNA gene sequencing and inter-tRNA gene sequence lengths analysis. **Antonie van Leeuwenhoek, Dordrecht**, v. 93, n. 3, p. 297-304, Mar. 2008.

MOHAMED HI, EL-BELTAGI HS, ALY AA, LATIF HH (2018) The role of systemic and non-systemic fungicides on the physiological and biochemical parameters in *Gossypium hirsutum* plant, implications for defense responses. **Fresenius Environmental Bulletin** 27(12):8585–8593

MONTE E, BETTIOL W, HERMOSA R (2019) *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: Meyer MC, Mazaro SM, Silva JC (eds) *Trichoderma* uso na agricultura. **Embrapa**, Brasília, pp 181-199.

MUKHERJEE P.K., HORWITZ B.A., SINGH U.S., MUKHERJEE M., SCHMOLL M., editors. *Trichoderma* biology and applications. Boston: **CAB International**; 2013. p. 1–9.

NGUGIA, H.K.; DEDEJB, S.; DELAPLANEB, K.S.; SAVELLEA, A.T.; SCHERMA, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, v.33, p.32-38, 2005.

NICHOLSON, W. L., MUNAKATA, N., HORNECK, G., MELOSH, H. J., & SETLOW, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 64(3), 548-572.

OLIVEIRA, C.M.G, M.A. SANTOS, L.H.S. CASTRO. 2016. In: Importância dos fitonematoides na agricultura. **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas, sp, Millennium Editora, 5:1-10.

OLWE O. M., NICOLA L., ASEMLOYE M. D., AKINLOLU A. O., BABALOLA O. O. 2022. Trichoderma: Potential bio-resource for the management of tomato root rot diseases in Africa. **Microbiological Research**, 257: 126978.

ONS, L.; BYLEMANS, D.; THEVISSSEN, K.; CAMMUE, B.P.A. Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1930, 4 dez. 2020.

OROS, G. AND NAÁR, Z. (2017) Mycofungicide: Trichoderma Based Preparation for Foliar Applications. **American Journal of Plant Sciences**, 8, 113-125.

PARLEVLIT, J.E. Present concepts in breeding for disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.7-15, 1997. Suplemento.

PEDRO, E. A. S.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M. & GUZZO, S. S. 2012. Promoção de crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por Trichoderma spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 47: 1589-1595.

PEREIRA, B. M. **Evolução técnico-econômica da produção de soja no Brasil e na Argentina: uma análise histórico-comparada**. 2021. 108f. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2021.

PERSOON, C.H. 1794. Neuer Versucheinersystematischen Einteilung der Schwämme. **Roemer's Neues Magazin für die Botanik** 1: 63-128.

POVEDA, J., EUGUI, D., 2022. Combined use of Trichoderma and beneficial bacteria (mainly Bacillus and Pseudomonas): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. **Biological Control**, v. 176, p. 105100, dez. 2022.

RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD\_ALLAH, E. F. Bacillus: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 6 set. 2017.

RAMÍREZ-CARIÑO HF, GUADARRAMA-MENDOZA PC, SÁNCHEZ-LÓPEZ V, CUERVO-PARRA JA, RAMÍREZ-REYES T, DUNLAP CA, VALADEZ-BLANCO R. Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. **Antonie Van Leeuwenhoek**. 2020 Sep;113(9):1247-1261.

RAM R. M., RAJPUT R. S., VAISHNAV A. 2020. Management of *Sclerotium rolfsii* induced diseases in crops by *Trichoderma* species. Sharma S. K. et al. (eds.). *Rhizosphere Microbes. Microorganisms for Sustainability*. **Springer**, p. 593–617.

SANTOS, F.M., VIERA, L.S., CAMARGO, D.P., MUNIZ, M.F., COSTA, I.F., GUEDES, J.V., SANTOS, J.R. AND SILVA, J.C. (2022), Integrating a *Bacillus*-based product with fungicides by foliar application to protect soybean: a sustainable approach to avoid exclusive use of chemicals. **Pest Manag Sci**, 78: 4832-4840.

SAWANT, I.S., WADKAR, P.N., GHULE, S.B., RAJGURU, Y.R., SALUNKHE, V.P., SAWANT, S.D., 2017. Enhanced biological control of powdery mildew in vineyards by integrating a strain of *Trichoderma afroharzianum* with sulphur. **Biol. Control** 114, 133–143.

SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R. C. T.; SEDIYAMA, H. A. **A soja**. 1. ed. Londrina: Editora Mecenaz LTDA, v. 1, p. 11-18, 2016.

SENGER, M., URREA-VALENCIA, S., NAZARI, M.T. et al. Evaluation of *Trichoderma asperelloides*-based inoculant as growth promoter of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): a field-scale study in Brazil. **J. Crop Sci. Biotechnol.** 26, 255–263 (2023).

SÁNCHEZ-MONTESINOS B, SANTOS M, MORENO-GAVÍRA A, MARÍN-RODULFO T, GEA FJ, DIÁNEZ F. Biological Control of Fungal Diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and Its Compatibility with Fungicides. **J Fungi (Basel)**. 2021 Jul 24;7(8):598.

SENTHIL KUMAR, R., VISWANATHAN, R., & RAGUCHANDER, T. (2005). Compatibility of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* strains with *Trichoderma harzianum* for the control of *Fusarium* wilt of tomato. **Crop protection**, 24(5), 494-499.

SHAFI, J.; TIAN, H.; JI, M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **Abingdon**, v. 1, n. 1, p. 446-459, Apr. 2017.

SHARMA, R., MOHAN, S., SHUKLA, A., & GOYAL, A. (2020). Identification and characterization of resistance to powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) in soybean (*Glycine max* L.). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 26(1), 135-143.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, J. G. & SPIEGEL, Y. 2007. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology** 118:247-258

SHORESH, M., HARMAN, G. E., & MASTOURI, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual review of phytopathology**, 48, 21-43.

SIEFERT, J. L.; LARIOS-SANZ, M.; NAKAMURA, L. K.; SLEPECKY, R. A.; PAUL, J. H.; MOORE, E. R.; FOX, G. E.; JURTSCHUK, P. JR. Phylogeny of marine *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico. **Current Microbiology**, New York 41, n. 2, p. 84-88, Aug. 2000.

SIEUWERTS, S.; DE BOK, F. A. M.; HUGENHOLTZ, J.; VAN HYLCKAMA VLIET, J. E. T. Unraveling Microbial Interactions in Food Fermentations: from Classical to Genomics Approaches. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74 n. 16, p. 4997-5007, 2008. DOI: 10.1128/AEM.00113-08

SOARES, R. M., GODOY, C. V., & OLIVEIRA, M. C. (2009). Escala Diagramática Para Avaliação Da Severidade Da Mancha Alvo Da Soja. **Tropical Plant Pathology**, Vol 34, 333-338.

STEIN, T. (2005). Bacillus subtilis antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular microbiology**, 56(4), 845-857.

SUN, J., MOONEY, H., WU, W., TANG, H., TONG, Y., XU, Z., HUANG, B., CHENG, Y., YANG, X., WEI, D., ZHANG, F., LIU, J., 2018. Importing food damages domestic environment: Evidence from global soybean trade. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 21, p. 5415–5419, 7 maio 2018.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Foreign Agricultural Service**. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/commodities/soybeans>. Acesso em: 20 jan 2022

VAN DRIESCHE RG, BELLOWS JR TS. 1996. Biological Control. Ed. **Chapman & Hall**, London. 539p.

VIEIRA NETO, J; GONÇALVES, PAS. Resíduos de agrotóxicos em pepinos para conserva in natura e industrializados. **Horticultura Brasileira**, v.34, p.126-129, 2016. Consultado em: 26/01/2022.

VINALE, F., SIVASITHAMPARAM, K., GHISALBERTI, E. L., RUOCCO, M., WOO, S. L., NIGRO, M., ... & LORITO, M. (2008). Trichoderma secondary metabolites that affect plant metabolism. **Natural product communications**, 3(4), 593-601.

WANG, Y., CAO, L., ZHANG, Y., & CAI, F. (2018). Genome-wide transcriptome analysis reveals mechanisms of volatile organic compound-mediated growth promotion and induced systemic resistance in Trichoderma asperellum. **Journal of agricultural and food chemistry**, 66(17), 4468-4477.

WOO, SL, HERMOSA, R., LORITO, M. et al. Trichoderma: um microrganismo multifuncional benéfico para as plantas para uma agricultura ecossustentável. **Nat Rev Microbiol** 21, 312–326 (2023).

WOO, S. L. et al. Trichoderma - based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal** 8: 71 – 126. 2014.

YANG et al., 2019 H. YANG, Y. HE, C. ZHANG Social network analysis of international soybean import trade Modern Manage. **Sci.** (2019), pp. 24-26

YANG, X., LIU, X., MA, Z., & LI, Z. (2018). Plant microbiome: From ecology to reductionism and engineering. **Annual Review of Plant Biology**, 69, 489-500.

YORINORI J.T., 2005. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2002. **Plant Dis.** 89, 675-677.

YORINORI, J. T.; LAZZAROTTO, J. J. Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul. **Embrapa Soja-Documentos** (Infoteca-E), 2004.

YORINORI, J.T. Doenças da soja no Brasil. In: **Soja no Brasil Central**. 3ed. Campinas, Fundação Cargill. 1986. p.301-363

ZAMBOLIM, L. - Proteção de plantas: **Manejo Integrado de Doenças de Plantas**. Viçosa, 88 p., 2010.

ZHANG, X., HARVEY, P., & KUSCHK, P. (2015). Interactions between *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* in the rhizosphere of hydroponically grown lettuce are influenced by precursor addition. **Plant and soil**.

ZHANG, X., HARVEY, P., & KUSCHK, P. (2016). Dual inoculation of mycorrhiza and endophytic *Trichoderma harzianum* to enhance establishment and growth of hybrid poplar. **Science of the total environment**, 541, 1339-1346.