

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CAMPUS FREDERICO WESTPHALEN
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA:
AGRICULTURA E AMBIENTE

Carla Janaina Werner

**TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE SEMENTES
DE SOJA PARA O CONTROLE DE *Phytophthora sojae***

Frederico Westphalen - RS

2020

Carla Janaina Werner

**TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE SEMENTES DE SOJA
PARA O CONTROLE DE *Phytophthora sojae***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Agricultura e Ambiente, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Stela Maris Kulczynski

Frederico Westphalen – RS

2020

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pela autora.

Werner, Carla Janaina
TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE SEMENTES DE SOJA
PARA O CONTROLE DE *Phytophthora sojae* / Carla Janaina
Werner.- 2020.
87 p.; 30 cm

Orientadora: Stela Maris Kulczynski
Coorientadora: Marlove Fátima Brião Muniz
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós
Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente, RS, 2020

1. podridão de fitóftora 2. controle biológico 3. soja
4. tratamento de sementes 5. compostos bioativos I.
Kulczynski, Stela Maris II. Muniz, Marlove Fátima Brião
III. Título.

©2020

Todos os direitos autorais reservados a Carla Janaina Werner. A reprodução de partes ou todo deste trabalho só poderá ser feita mediante citação da fonte.

Endereço: Linha Sete de Setembro s/n – BR 386, km 40. CEP 98400-000 – Frederico Westphalen, RS, Brasil. Endereço eletrônico: carli.werner@hotmail.com

Carla Janaina Werner

**TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE SEMENTES DE SOJA PARA O
CONTROLE DE *Phytophthora sojae*.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Agronomia.

Aprovado em 10 de junho de 2020:

Stela Maris Kulczynski, Dr.^a. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Claudir José Basso, Dr. (UFSM)


Juliane Ludwig, Dr.^a. (UFFS)
(Por videoconferência)

Frederico Westphalen, RS
2020

Dedico este trabalho aos meus pais Eclair e Janice, meu irmão Jadson, meu namorado Leonardo e meus avós Helena, Gentil, Dulce e Alvino, por todos os ensinamentos a mim proporcionados.

“Vocês são o esteio que sustentam a minha vida”

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e força para superar todas as dificuldades e por ter colocado pessoas incríveis em meu caminho.

Aos meus pais por me permitirem vir à vida, pela educação e ensinamentos diários, pela força e por encorajar-me todos os dias a seguir meu caminho. Por todo o apoio moral e financeiro e principalmente por nunca terem me deixado desistir e sempre me dado todas as oportunidades que não lhes foram possíveis.

Ao meu irmão por me apoiar e me acompanhar tanto quanto meus pais.

Ao meu namorado Leonardo por me apoiar, mesmo que às vezes sendo deixado de lado, e por junto comigo ter concebido uma nova vida entre as nossas.

Aos meus avós paternos e maternos por todo apoio e ensinamentos durante todo o tempo em que pudemos estar juntos.

Às minhas amigas Daniele Fontana e Daniela Meira pelo apoio na condução e escrita do trabalho, por me dar forças e apoiar nos momentos em que mais estive desanimada. Thais Zanatta por ter me motivado a iniciar o Mestrado.

Aos colegas e colaboradores do Laboratório de Fitopatologia, Thaina, Eduardo Balem, Eduardo Ceolin e Luiza por todo suporte na condução dos ensaios.

À empresa Sementes Dallazen pelo apoio no trabalho durante o Mestrado.

À Universidade Federal de Santa Maria, campus Frederico Westphalen, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Agricultura e Ambiente pela oportunidade de realização de Mestrado.

Ao Instituto Federal Farroupilha, campus Frederico Westphalen pelo apoio e espaço concedido para a realização da pesquisa.

À minha orientadora Stela Maris Kulczynski pelo apoio, confiança, amizade, hospedagem e principalmente o aprendizado. Serei eternamente grata por tudo que fizestes por mim para que fosse possível a conclusão desse Mestrado.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Agricultura e Ambiente pelo aprendizado e trocas de conhecimentos.

À Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Agricultura e Ambiente Adriana e Valdecir, pela competência, disponibilidade e eficiência em sempre ajudar.

Aos componentes da banca examinadora Prof^o Claudir José Basso, Prof^a Juliane Ludwig e Prof^o Rodrigo Silva, agradeço pelo aceite e disponibilidade em participarem da banca.

Meu agradecimento á todos cujos nomes não foram citados aqui, mas contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Tudo posso naquele que me fortalece”

Filipenses 4:13

TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE SEMENTES DE SOJA PARA O CONTROLE DE *Phytophthora sojae*

AUTORA: Carla Janaina Werner

ORIENTADORA: Stela Maris Kulczynski

RESUMO

A expansão das áreas cultivadas com soja no Brasil aliada com seu cultivo intensivo favorece a sobrevivência de patógenos de solo, como a *Phytophthora sojae*, agente causal da podridão radicular. Já existem no mercado cultivares de soja resistentes, contudo, essa resistência nem sempre é durável. Aliar métodos de controle da doença são estratégias mais eficazes e sustentáveis. Dessa forma, o tratamento de sementes se destaca como a segunda linha de defesa contra a doença. Tratamentos químicos de sementes são usuais entre produtores, contudo, devido a casos de resistência e pela mitigação do uso de biológicos na agricultura, buscam-se cada vez mais estudos que avaliem a viabilidade de fungos como *Trichoderma* spp. como tratamento de sementes. Dessa forma, este trabalho teve por objetivos avaliar: i) o efeito fungitóxico de Maxim Advanced® e Apron RFC® sobre *P. sojae* isolados Ps.2.4 e 34.1 *in vitro* e, ii) o efeito antagonista de diferentes estirpes de *Trichoderma* spp., no controle de *P. sojae* isolados Ps.2.4 e 34.1 *in vitro*. iii) a resistência parcial de seis cultivares comerciais de soja e; iv) a eficiência de controle de tratamentos químicos e biológicos em sementes para isolados de *P. sojae* (Ps.2.4 e Ps.34.1) e o seu efeito sobre a qualidade fisiológica das sementes. Para isso, foram desenvolvidos cinco experimentos na Universidade Federal de Santa Maria, campus de Frederico Westphalen/RS. No primeiro experimento avaliou-se a fungitoxicidade de produtos químicos em diferentes concentrações em meio de cultura, quanto à inibição do crescimento micelial de isolados de *P. sojae*. O segundo ensaio contou com a confrontação direta, bem como a exposição do patógeno aos compostos voláteis, não-voláteis e não-voláteis termoestáveis de diferentes estirpes de *Trichoderma* spp. aos isolados de *P. sojae*. O terceiro experimento avaliou a resistência parcial de seis cultivares de soja (55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR e Conrad) quanto ao inóculo de *P. sojae* (isolados Ps.2.4; Ps.34.1 e sem inóculo). No quarto experimento avaliou-se a qualidade fisiológica de três cultivares de soja (55I57RSF Ipro, NS 5445 Ipro e Conrad) tratadas com produtos químicos (Apron RFC e Maxim Advanced) e biológicos (Trianium®, Quality®, Organic® e Stimucontrol®). No último experimento analisou-se o efeito do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos no controle de dois isolados de *P. sojae* para diferentes cultivares de soja. Os produtos químicos Maxim Advanced® e Apron® foram fungitóxicos para os dois isolados de *Phytophthora sojae*, nos testes *in vitro*. O crescimento dos isolados de *P. sojae* é inversamente proporcional à dose dos fungicidas utilizados, isto é, quanto maior a dose do fungicida, menor o crescimento micelial do isolado. O isolado de *P. sojae* Ps 2.4 foi mais sensível aos fungicidas testados. As diferentes formulações comerciais à base de *Trichoderma* spp. apresentam efeito inibitório sobre o crescimento dos isolados de *P. sojae*, Ps 2.4 e Ps 34.1, *in vitro*. Os bioprodutos Stimucontrol® (*T. harzianum*) e Organic® (®) (*T. asperellum*) foram os mais eficazes no controle a *P. sojae*, pois seus isolados foram capazes de atuar por mais de um mecanismo antagônico, conferindo vantagem ao agente de biocontrole quando liberado no ambiente. Os metabólitos não-voláteis termoestáveis não apresentaram resultados consistentes nos ensaios conduzidos, sendo necessários estudos complementares. As

cultivares de soja 55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR apresentam alta resistência parcial à podridão radicular dos isolados Ps.2.4 e Ps.34.1 de *P. sojae*. A cultivar Conrad apresentou-se suscetível ao isolado Ps.34.1 de *P. sojae*. Tratamentos de sementes com Apron RFC® e Maxim Advanced® asseguraram o vigor e a germinação de sementes de soja. Os produtos biológicos não evidenciaram efeito negativo na qualidade fisiológica nas cultivares de soja testadas, exceto o Trianum®. Os tratamentos químicos com Apron RFC® e Maxim Advanced® são eficientes no controle de isolados de *P. sojae* em cultivares de soja. Os tratamentos biológicos Quality®, Organic® e Stimucontrol® são promissores no controle da podridão radicular em soja por *P. sojae*.

Palavras chave: podridão de fitóftora, controle biológico, soja, tratamento de sementes, compostos bioativos.

CHEMICAL AND BIOLOGICAL TREATMENTS OF SOYBEAN SEEDS FOR THE CONTROL OF *Phytophthora sojae*

AUTHOR: Carla Janaina Werner

ADVISOR: Stela Maris Kulczynski

ABSTRACT

The expansion of areas cultivated with soy in Brazil combined with its intensive cultivation favors the survival of soil pathogens, such as *Phytophthora sojae*, a causal agent of root rot. Resistant soy cultivars already exist on the market, however, this resistance is not always durable. Combining disease control methods are more effective and sustainable strategies. Thus, seed treatment stands out as the second line of defense against the disease. Chemical seed treatments are common among producers, however, due to cases of resistance and the mitigation of the use of biologicals in agriculture, more and more studies are being sought to assess the viability of fungi such as *Trichoderma* spp. as seed treatment. Thus, this study aimed to evaluate: i) the fungitoxic effect of Maxim Advanced® and Apron RFC® on *P. sojae* isolates Ps.2.4 and 34.1 in vitro and, ii) the antagonistic effect of different strains of *Trichoderma* spp., in the control of *P. sojae* isolated Ps.2.4 and 34.1 in vitro. iii) the partial resistance of six commercial soybean cultivars and; iv) the efficiency of control of chemical and biological treatments in seeds for *P. sojae* isolates (Ps.2.4 and Ps.34.1) and its effect on the physiological Quality® of seeds. For this, five experiments were developed at the Federal University of Santa Maria, campus of Frederico Westphalen / RS. In the first experiment, the fungitoxicity of chemical products in different concentrations in culture medium was evaluated for the inhibition of mycelial growth of *P. sojae* isolates. The second trial involved direct confrontation, as well as exposure of the pathogen to volatile, non-volatile and non-volatile thermostable compounds of different strains of *Trichoderma* spp. to isolates of *P. sojae*. The third experiment evaluated the partial resistance of six soybean cultivars (55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR and Conrad) for *P. sojae* inoculum (isolated Ps.2.4; Ps.34.1 and without inoculum). In the fourth experiment, the physiological Quality® of three soybean cultivars (55I57RSF Ipro, NS 5445 Ipro and Conrad) treated with chemical products (Apron RFC® and Maxim Advanced®) and biological (Trianum®, Quality®, Organic® and Stimucontrol®) was evaluated. In the last experiment, the effect of seed treatment with chemical and biological products on the control of two isolates of *P. sojae* for different soybean cultivars was analyzed. The chemicals Maxim Advanced® and Apron® were fungitoxic for the two isolates of *P. sojae*, in *in vitro* tests. The growth of *P. sojae* isolates is inversely proportional to the dose of the fungicides used, that is, the higher the dose of the fungicide, the lower the mycelial growth of the isolate. The isolate of *P. sojae* Ps 2.4 was more sensitive to the tested fungicides. The different commercial formulations based on *Trichoderma* spp. have an inhibitory effect on the growth of *P. sojae* isolates, Ps 2.4 and Ps 34.1, in vitro. The bioproducts Stimucontrol® (*T. harzianum*) and Organic® (*T. asperellum*) were the most effective in controlling *P. sojae*, as their isolates were able to act by more than one antagonistic mechanism, giving advantage to the biocontrol agent when released into the environment. Thermostable non-volatile metabolites did not show consistent results in the tests conducted, requiring further studies. The soybean cultivars 55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR have high partial resistance to root rot of Ps.2.4 and Ps.34.1 isolates from *P. sojae*. The cultivar Conrad was susceptible to the isolate Ps.34.1 of *P. sojae*.

Seed treatments with Apron RFC® and Maxim Advanced® ensured the vigor and germination of soybean seeds. The biological products did not show a negative effect on the physiological Quality® of the tested soybean cultivars, except for Trianum®. The chemical treatments with Apron RFC® and Maxim Advanced® are efficient in the control of *P.sojae* isolates in soybean cultivars. The biological treatments Quality®, Organic® ® and Stimucontrol® are promising in the control of root rot in soybean by *P.sojae*.

Key words: phytophorous rot, biological control, soybean, seed treatment, bioactive compounds.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1 Análise de variância para as variáveis índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de <i>P. sojae</i> , submetidos a diferentes concentrações dos fungicidas Maxim Advanced® e Apron RFC® <i>in vitro</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	29
Tabela 2. Valores médios do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e taxa de crescimento da colônia (TX) de isolados de <i>P. sojae</i> (Ps 2.4 e Ps 34.1) submetidos a diferentes concentrações de Maxim Advanced® <i>in vitro</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.	31
Tabela 3. Valores médios de índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e taxa de crescimento da colônia (TX) de isolados de <i>P. sojae</i> (Ps 2.4 e Ps 34.1) submetidos a diferentes concentrações de Apron RFC® <i>in vitro</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.	33
Tabela 4. Classificação segundo a Escala de Bell, Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial (PIC) e Diâmetro Final de Colônia (DFC) de dois isolados de <i>P. sojae</i> submetidos ao confronto direto com diferentes produtos comerciais, a base de <i>Trichoderma</i> spp. Frederico Westphalen – RS, 2020. .	35
Tabela 5. Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) de isolados de <i>P. sojae</i> , submetidos ao efeito de compostos voláteis de diferentes produtos comerciais a base de <i>Trichoderma</i> spp. Frederico Westphalen – RS, 2020.	37
Tabela 6. Índice de Velocidade de crescimento micelial (IVCM) e Porcentagem de Inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados de <i>P. sojae</i> , submetidos ao efeito de compostos não-voláteis de diferentes produtos comerciais a base de <i>Trichoderma</i> spp. Frederico Westphalen – RS, 2020.	39

CAPITULO II

Tabela 1 Análise de variância da massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA), grau de infecção (GI), número de plantas infectadas (NPI) e número de plantas emergidas (NPE) para cultivares de soja inoculadas com isolados de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.	53
Tabela 2 Massa seca de raiz (MSR) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	54
Tabela 3 Massa seca de parte aérea (MSPA) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	55

Tabela 4 Massa seca de parte aérea (MSPA) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	55
Tabela 5 Número de plantas emergidas para diferentes cultivares de soja submetidas a diferentes inóculos de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	56
Tabela 6 Número de plantas emergidas para diferentes inóculos de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	56
Tabela 7 Grau de infecção e número de plantas sintomáticas para diferentes cultivares de soja e inóculos de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	57
Tabela 8 Análise de variância para o teste de primeira contagem (PC%) e germinação (G%) de sementes submetidas a diferentes tratamentos para controle de <i>P. sojae</i> . Frederico Westphalen – RS, 2020.....	60
Tabela 9 Primeira contagem e teste de germinação de sementes de três cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos Quality®, Organic®, Triatum®, Stimucontrol®, Apron RFC®, Maxim Advanced® e testemunha. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	61
Tabela 10 Análise de Variância para massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de plantas oriundas de diferentes tratamentos de sementes para controle de <i>P. sojae</i> isolados Ps. 34.1 e Ps. 2.4. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	65
Tabela 11 Massa seca de parte aérea de cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha; e inoculadas com o isolado de <i>P. sojae</i> Ps. 2.4. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	66
Tabela 12 Massa seca de parte aérea e raiz para cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, e inoculadas com o isolado de <i>P. sojae</i> Ps. 34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	67
Tabela 13 Grau de infecção de isolados Ps. 2.4 e Ps. 34.1 de <i>Phytophthora sojae</i> em cultivares de soja submetidas a tratamentos de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	69
Tabela 14 Porcentagem de plantas mortas a partir de sementes tratadas com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, para controle de <i>P. sojae</i> isolado Ps. 2.4 e Ps. 34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	70
Tabela 15 Porcentagem de plantas emergidas a partir de sementes tratadas com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, para controle de <i>P. sojae</i> isolado Ps.2.4 e Ps.34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.....	71

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de <i>P. sojae</i> , submetidos a diferentes concentrações de Maxim Advanced® in vitro. Frederico Westphalen – RS, 2020	30
Figura 2 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de <i>P. sojae</i> , submetidos a diferentes concentrações de Apron RFC® in vitro. Frederico Westphalen – RS, 2020.	32
Figura 3 Inibição de crescimento micelial de <i>P. sojae</i> isolado Ps 2.4 (A) pelo método da cultura pareada com os produtos comerciais (B) Organic® (R), (C) Quality®, (D) Stimucontrol® e (E) Triatum®. Frederico Westphalen – RS, 2020	35
Figura 4 Inibição de crescimento micelial de <i>P. sojae</i> isolado Ps 34.1 (A) pelo método da cultura pareada com os produtos comerciais (B) Organic® (R), (C) Quality®, (D) Stimucontrol® e (E) Triatum®. Frederico Westphalen – RS, 2020	36

CAPÍTULO II

Figura 1 Visão geral do experimento; montagem do teste de resistência parcial das cultivares de soja (A, B e C). Frederico Westphalen – RS, 2020.	50
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
2 CAPITULO I – EFEITO DE TRATAMENTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE <i>Phytophthora sojae in vitro</i>	22
2.1 INTRODUÇÃO	22
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	24
2.2.1 Obtenção e produção de inóculo	24
2.2.2 Avaliação do efeito fungitóxico de diferentes doses de produtos comerciais químicos para o controle ou supressão de <i>P. sojae, in vitro</i>	24
2.2.3 Avaliação da ação antagônica e de metabólitos bioativos de <i>Trichoderma</i> spp. para o controle <i>P. sojae</i>	26
2.2.4 Análise estatística.....	28
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
2.3.1 Avaliação do efeito fungitóxico dos produtos comerciais químicos para o controle ou supressão de <i>P. sojae, in vitro</i>	28
2.3.2 Avaliação da ação antagônica e de metabólitos bioativos de <i>Trichoderma</i> spp. para o controle <i>P. sojae</i>	34
2.4 CONCLUSÃO	41
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
3 CAPITULO II – TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE SEMENTES NO CONTROLE DA PODRIDÃO RADICULAR DE <i>Phytophthora sojae</i> EM CULTIVARES DE SOJA.....	47
3.1 INTRODUÇÃO	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.2.1 Condições do experimento e obtenção do inóculo.....	49
3.2.2 Teste de confirmação da resistência parcial de cultivares de soja à isolados de <i>P. sojae</i>	49

3.2.3 Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com produtos químicos e biológicos	51
3.2.4 Efeito do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos no controle de isolados de <i>P. sojae</i> , para diferentes cultivares de soja.....	52
3.2.5 Análise estatística.....	53
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
3.3.1 Teste de confirmação da resistência de cultivares de soja à isolados de <i>P. sojae</i>	53
3.3.2 Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com produtos químicos e biológicos	60
3.3.3 Efeito do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos no controle de isolados de <i>P. sojae</i> , para diferentes cultivares de soja.....	65
3.4 CONCLUSÃO	76
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* L.) é uma leguminosa, pertencente à família Fabaceae, originada do continente Asiático, mais precisamente na região de Manchúria, na China. É largamente cultivada e consumida em todo o mundo. No Brasil, a cultura foi introduzida oficialmente em 1914, na Região de Santa Rosa, no Rio Grande do Sul, onde em 1924, se iniciaram os primeiros plantios comerciais da cultura.

A cultura foi inicialmente utilizada para consumo animal, e ganhou expressividade no decorrer das décadas, sendo atualmente um dos produtos de maior importância da exploração agrícola econômica para o país, além de ainda estar em expansão por todo o território nacional. A produção Brasileira na Safra 2019/20 foi de 120,3 milhões de toneladas, safra recorde em produção, numa área estimada de 36,8435 milhões de hectares. A nível do Rio Grande do Sul, apesar da estiagem ter comprometido a produtividade, a produção total da última safra foi de 11431,8 mil toneladas, com uma redução de 40,4% da produção total em relação à safra passada (CONAB, 2020).

O sucesso do cultivo da soja depende de diversos fatores, dentre os que se destacam são sementes de alta qualidade, condições de clima favoráveis ao estabelecimento de plantas e a sanidade durante a condução da cultura. Durante o estabelecimento da cultura, as sementes e plântulas podem ser contaminadas por patógenos de solo causadores de tombamento e podridões radiculares.

A podridão radicular em soja é causada por *Phytophthora sojae* (Kaufmann & Gerdemann), oomiceto capaz de causar doença em pré e pós emergência, causando apodrecimento de sementes, morte de plântulas, redução do crescimento e morte de plantas (COSTAMILAN et al. 2007), levando à ressemeadura ou redução de estante, bem como perdas na produtividade. A sua relevância para a cultura da soja está relacionada com o grau de resistência das cultivares, onde pode causar danos e perdas de até 100% nas cultivares altamente suscetíveis, em condições favoráveis para a doença (SCHMITTHENNER, 1999), reduzindo para 20 a 50% em cultivares moderadamente resistentes. Em cultivares de alta resistência, pode ocorrer colonização das raízes, com sintomas limitados à necrose radicular e menor perda de rendimentos (LANNON, 2010).

Na safra 1994/95, a doença foi constatada pela primeira vez no Brasil, em Passo Fundo (RS). Entretanto, as maiores perdas significativas nas lavouras brasileiras foram registradas na safra 2005/2006, quando a doença ocorreu em várias lavouras do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Mais recentemente na Safra 2018/2019, o patógeno causou perdas

expressivas na região norte do RS, onde diversas lavouras foram ressemeadas com a cultura da soja, em virtude de perdas de mais de 60% do estande de plantas por tombamento (EMBRAPA, 2010; COSTAMILAN et al., 2018).

A *P. sojae* não é transmitida via sementes, a infecção sempre ocorre com o inóculo existente no solo. A infestação de uma área com inóculo inexistente pode ocorrer através do trânsito de implementos agrícolas através de partículas de solo. A podridão radicular de fitóftora é uma doença monocíclica na cultura da soja. Os oósporos remanescentes no solo, ou recém-formados em tecido vegetal, durante a safra, podem sobreviver por muitos anos na ausência do hospedeiro. Formam esporângios, que se acumulam até que ocorra encharcamento do solo, quando liberam zoósporos, que nadam em direção às raízes de soja, atraídos por isoflavonóides (genisteína e daidzeína) produzidos pelas raízes e pelas sementes em germinação. Quando encontram tecido vegetal, os zoósporos fixam-se, encistam, germinam e penetram diretamente, dando início à doença (COSTAMILAN et al., 2016).

Este patógeno pode sobreviver em restos culturais e no solo, através dos oósporos por um período de até 5 anos. A podridão ocorre à temperaturas superiores a 25°C e em condições de lâmina de água livre no solo, ou seja, quando chuvas excessivas coincidentes à fase de semeadura e emergência da cultura da soja. Além disso, solos compactados com altos teores de argila, favorecem a movimentação e infecção dos zoósporos por favorecerem a formação de lâmina de água próxima à região do sistema radicular. A semeadura em solo já úmido, promove o selamento do sulco e prolongados períodos de saturação provocam a liberação e a disseminação de zoósporos aumentando a severidade da doença (SCHMITTHENNER e DORRANCE, 2015; COSTAMILAN et al., 2016).

Chuvas no início do ciclo da soja favorecem o apodrecimento de sementes e o tombamento de plântulas; chuvas durante o ciclo favorecem a ocorrência de murcha, escurecimento externo na haste, apodrecimento de raízes e morte em plantas adultas. Práticas culturais, como preparo reduzido de solo, plantio direto, monocultura de soja e aplicação de altas doses de fertilizantes orgânicos ou com potássio, imediatamente antes da semeadura, podem tornar a doença mais severa (SCHMITTHENNER, 1999; WORKNEH et al., 1999).

Os sintomas causados por *P. sojae* são observados em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura. Na fase inicial do ciclo da soja, ocorre apodrecimento de sementes ou flacidez na radícula, chegando até o cotilédone, e as sementes infectadas germinam lentamente, podendo ocorrer morte de plântulas. Em plantas jovens, a extremidade da raiz principal torna-se flácida e marrom, atingindo o hipocótilo até o nó cotiledonar, as folhas tornam-se amareladas, murcham e a planta seca e morre.

Plantas mais desenvolvidas mostram vigor reduzido, morrem lentamente, as folhas ficam amareladas e com tecido seco entre as nervuras, seguindo a murcha completa, com destruição de raízes secundárias e apodrecimento da raiz principal, permanecendo as folhas presas às plantas, voltadas para baixo (COSTAMILAN et al., 2018; ROESE et al., 2018).

Como sintoma característico nas plantas é observado o escurecimento ascendente, a partir da base da haste, subindo homogeneamente na planta até as ramificações da haste principal, seguindo de murcha e morte. Plantas afetadas podem ocorrer entre plantas saudáveis ou em locais de solo mais compactado, como bordas de lavouras (COSTAMILAN, et al., 2011).

A resistência genética é o mais eficiente método de controle para a podridão-radicular em soja atuando tanto de forma raça-específica (completa) como parcial (limitando o dano ao tecido radicular). A expressão da resistência raça-específica implica em uma indução de resistência e requer uma interação entre um gene para resistência na soja (*Rps*) e um gene para avirulência em *P. sojae*. A resistência parcial ou resistência de raiz (SCHMITTENNER, 1999), é um caráter poligênico, sendo expressa e herdada quantitativamente e se caracteriza pelo menor grau de apodrecimento de raízes e progressão da doença, ocorrendo a uma taxa mais lenta do que em cultivares suscetíveis (DORRANCE et al., 2008; COSTAMILAN et al. 2007).

No entanto, a eficácia da resistência pode ser reduzida como resultado de mudanças na população do patógeno para novas raças de *P. sojae* que podem superar a resistência (ANDERSON e BUZZELL, 1992; ZHANG et al., 2010). Por isso, a importância de se utilizar mais de um método de controle, como por exemplo, o controle químico, com o uso de fungicidas, através do tratamento de sementes ou aplicação na linha de plantio e práticas de manejo do solo que melhorem as condições de desenvolvimento das plantas, como a rotação de culturas, descompactação do solo e análise das condições do clima e solo para a realização da semeadura (SCHMITTENNER, 1999).

O controle químico é efetivo para cultivares com elevado grau de tolerância. Os princípios ativos eficazes são metalaxil e mefenoxam, da classe fenilamidas (Schmitthenner, 1999), que atuam, em média, por duas a três semanas, e têm dois modos de ação: fungistática (inibindo a síntese de rRNA de *P. sojae*) e sistêmica (induzindo a formação da fitoalexina gliceolina) (SCHMITTENNER, 1999).

De acordo com as indicações técnicas não há produto comercial registrado para o controle desse patógeno no Brasil (AGROFIT, 2020), mas existem produtos comerciais com indicação ao tratamento de sementes de soja formulados com metalaxil e Mefonoxam que foram testados para o controle da podridão radicular de fitoftora (COSTAMILAN et al., 2007; RADMER et al., 2017; SYNGENTA, 2017; COSTA et al., 2018). Altas doses de metalaxil

controlam a doença em cultivares com pouca resistência parcial, mas não em condições severas de doença. Considerando-se o número limitado de cultivares resistentes, a variabilidade genética do patógeno e as limitações do uso do controle químico no manejo de patógenos de solo, como a contaminação humana e ambiental pelo uso de produtos com alta toxicidade e amplo espectro, novas estratégias alternativas de manejo tem sido implementadas, como o controle biológico. Entre os produtos biológicos disponíveis no Brasil, destacam-se aqueles à base de *Trichoderma* spp., recomendados, principalmente, para o controle de fungos habitantes do solo como *Phytophthora* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina* spp., *Fusarium* spp e outros (BETTIOL e MORANDI, 2009).

O gênero *Trichoderma* é um dos hiperparasitas mais importantes e estudados, devido a sua eficiência e a variedade de espécies possíveis de serem utilizadas com diferentes modos de ação para o controle tanto de patógenos radiculares como de parte aérea (MORANDI et al., 2009).

Entretanto, os relatos na literatura de trabalhos com o uso de antagonistas para o controle de *P. sojae* são escassos e inconsistentes quanto à sua eficiência (AYOUBI et al. 2012) e até o momento não tem no mercado produtos comerciais recomendados para o controle de *P. sojae*, por isso ainda são necessários maiores estudos, com diferentes estirpes e produtos comerciais de *Trichoderma*, no controle de *P. sojae* com a cultura da soja.

O aumento da área cultivada com soja no Brasil, acompanhada dos maiores níveis de danos causados pela *P. sojae* tem mostrado a necessidade de buscar diferentes alternativas de manejo aliadas à resistência genética. Visando o manejo integrado da podridão radicular em soja, através da combinação das medidas de alta resistência das cultivares e o tratamentos de sementes, este trabalho foi dividido em dois capítulos com os seguintes objetivos: i) avaliar o efeito fungitóxico de produtos comerciais químicos e a ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. à isolados de *P. sojae in vitro*; ii) avaliar a eficiência do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos em diferentes cultivares de soja à *P. sojae*.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT – CONSULTA ABERTA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO -Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS – DISPONÍVEL EM: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Consultado em 18/05/2020

ANDERSON, T.R.; BUZZELL, R.I. Diversity and frequency of races of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea* in soybean field in Essex county, Ontario, **Plant Disease**, v. 76, n. 6, p. 1980-1989, 1992.

AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control os *Phytophthora sojae* and soybean growth. **Journal of Crop Protection**, v.1, n.1, p.67-79, 2012.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

BHAT, R. G., McBLAIN, B. A., SCHMITTHENNER, A.F. The inheritance of resistance to metalaxyl and to fluorophenylalanine in matings of homothallic *Phytophthora sojae*. **Mycological Research** Volume 97, Issue 7, July 1993, Pages 865-870

CONAB – COMPAINHA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira – grãos. v.7 – Safra 2019/20 – N.8 – Oitavo levantamento. Maio/2020.

COSTA, E. M.; VENTURA, M. V. A.; ARANTES, B. H. T.; DE MORAES NUNES, B.; CHAGAS, J. F. Efeito fisiológico de inseticidas e fungicida sobre a germinação e vigor de sementes de soja. **Anais da Semana Agronômica da Faculdade Evangélica de Goianésia**, v. 8, 2018.

COSTAMILAN, L. M., BERTAGNOLLI, P. F., CARRÃO-PANIZZI, M. C., STRIEDER, M. L. Soja: resultados de pesquisa 2010/2011. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. 105 p.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; MORAES, R. M. A. de. **Podridão radicular de fitóftora em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 23 p. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 79).

COSTAMILAN L. M.E CLEBSCH C.C. Técnicas utilizadas para estudos com *Phytophthora sojae* na Embrapa Trigo. – Passo Fundo. Embrapa Trigo, 2016. PDF (31 p.). – (Documentos online / Embrapa Trigo, ISSN 1518-6512; 163)

COSTAMILAN, L.; BERTAGNOLLI, P.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SBALCHEIRO, C. Avaliação de resistência à podridão-radicular de *Phytophthora* em linhagens de soja da Embrapa Trigo, em 2017. **Embrapa Trigo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2018.

DORRANCE, A. E.; BERRY, S. A.; ANDERSON, T. R.; MEHARG, C. Isolation, storage, pathotype characterization, and evaluation of resistance for *Phytophthora sojae* in soybean. **Plant Health Progress**, v. 9, n. 1, 2008.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de Produção de Soja, Região central do Brasil, 2011**. Londrina, 2010. 255p.

LANNON, K. *Phytophthora sojae*. **NC State University**. 2010. Disponível em: <https://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Psojae/P_sojae.htm>. Acesso em: 20 abril. 2020.

MORANDI, M.A.B. et al. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2009.

RADMER, L.; ANDERSON, G.; MALVICK, D. M.; KURLE, J.E.; RENDAHL, A. E.; MALLIK, A. *Pythium*, *Phytophthora* e *Phytophthora* spp. associados à soja em Minnesota, sua relativa agressividade à soja e ao milho e sua sensibilidade aos fungicidas no tratamento de sementes. **Plant Disease**, v. 101, n. 1, p. 62-72, 2017.

ROESE, A. D.; GOULART, A. C. P.; SOARES, R. M.. Podridão-de-fitóftora em soja avança no Centro-Oeste. **Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2018.7p.

SYNGENTA (2017) – *Maxin XL: Fungicida/Tratamento de sementes*. [cit. 2017-06-25]. <https://www.syngenta.com.br/product/crop-protection/fungicidatratamento-de-sementes/maxim-xl>

SCHMITTHENNER, A. F. *Phytophthora rot*. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. Saint Paul: APS Press, 1999. p. 39-42.

SCHMITTHENNER, A. F.; DORRANCE, A. E. *Phytophthora root and stem rot*. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5th ed. St. Paul: APS Press, 2015. p. 73-76.

WORKNEH, F.; TYLKA, G. L.; YANG, X. B.; FAGHIHI, J.; FERRIS, J. M. Regional assessment of soybean brown stem rot, *Phytophthora sojae*, and *Heterodera glycines* using area-frame sampling: prevalence and effects of tillage. **Phytopathology**, v. 89, p. 204-211, 1999.

YANG, X. B. Fungicide resistance and race test for *Phytophthora*. **Integrated Crop Management**, v. 488, n. 7, p. 59, May 2002.

ZHANG, S.Z.; XUE, A. G.; ZHANG, J. X.; COBER, E.; ANDERSON, T. R.; POYSA, V.; RAJCAN, I. Reactions of Canadian short-season soybean cultivars to three races of *Phytophthora sojae*. **Canadian Journal Plant Science**. v. 90, 207-210, 2010.

2 CAPITULO I – EFEITO DE TRATAMENTOS QUIMICOS E BIOLÓGICOS NO CONTROLE DE *Phytophthora sojae* in vitro

2.1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é a cultura de maior importância econômica mundial e sua produção vem sendo incrementada constantemente no Brasil, no entanto, muitos patógenos podem comprometer o potencial da cultura desde o início do estabelecimento da lavoura. Dentre estes destaca-se o fungo de solo, *Phytophthora sojae*, que pode provocar a podridão de sementes e morte de plântulas, bem como podridão radicular (DEBIASI et al., 2015, WRATHER et al., 1997).

A podridão radicular de fitóftora, que se caracteriza pela podridão da raiz e da haste da soja, é um problema comum no Sul do Brasil, ocorrendo em grande parte das regiões edafoclimáticas onde a soja é cultivada. Esta doença foi observada pela primeira vez no Brasil no estado do Rio Grande do Sul, em 1995 (COSTAMILAN et al., 1996).

Phytophthora sojae (Kaufmann & Gerdemann), pertencente ao Reino Cromista e, atualmente chamado Stramenopila, ao filo Oomicota, à classe Peronosporomycetidae, à ordem Pythiales e à família Pythiaceae. É um oomiceto, com micélios cenocíticos, que se reproduz assexualmente através da formação de clamidósporos, esporângios e zoósporos, e sexualmente pela formação de oósporos (MASSOLA JUNIOR, 2018).

É um microrganismo habitante do solo, que produz estruturas de resistência, os oósporos, que favorecem sua sobrevivência por vários anos, sem a presença do hospedeiro, na área de cultivo, no solo ou em plantas mortas (SCHMITTHENNER; DORRANCE, 2015).

As plantas apresentam como sintomas o apodrecimento das raízes e lesões de cor marrom que podem espalhar para o colmo e ramificações das plantas, promovendo a morte nas diferentes fases de desenvolvimento da cultura. Em condições de solos mal drenados e longos períodos encharcados a doença pode acometer plantas adultas (COSTAMILAN et al., 1996; JEE et al., 1998; WRATHER et al., 2001).

A semeadura da soja em solo úmido, com alto teor de argila e incidência de chuvas logo após a semeadura condicionam o desenvolvimento da doença, bem como solos mal drenados e de secagem lenta (FARIS; SABO, 1981). Estas condições propiciam a liberação dos zoósporos, que são flagelados, e conseqüentemente a sua movimentação até o sistema radicular e posterior infecção (DORRANCE et al., 2007). O patógeno coloniza as raízes e tecido de translocação,

restringindo a capacidade de condução de água da planta, resultando em nanismo e murcha (DORRANCE et al., 2007).

A incidência e severidade de podridão da raiz por *Phytophthora sojae* está relacionada com a densidade do inóculo na lavoura, associadas a períodos prolongados de umidade elevada do solo e da suscetibilidade da cultivar de soja, podendo promover perdas no rendimento de até 100% (SCHMITTHENNER, 1999).

A resistência genética, através do uso de cultivares com resistência completa (genes Rps) e parcial é a principal medida de controle para esta doença, sendo indicados também o tratamento de sementes, descompactação e drenagem do solo e rotação de culturas com forma de redução do inóculo no solo (COSTAMILAN, et al. 2010; MASSOLA JUNIOR, 2018; ROESE et al. 2018).

No Brasil não há registro de produtos comerciais químicos para o tratamento de sementes com indicação ao controle de *P. sojae*. Em outros países, os princípios ativos eficazes, registrados para o controle desse patógeno são metalaxil e mefenoxam, da classe fenilamidas (SCHMITTHENNER, 1999), que atuam, em média, por duas a três semanas, e têm ação fungistática e sistêmica. No Brasil, os produtos com registro para tratamento de sementes de soja formulado com metalaxil são Apron RFC® e Maxim Advanced®, no entanto não são registrados para o controle de *P. sojae*.

Ambos os fungicidas apresentam o princípio ativo Metalaxyl, sendo o fungicida Apron composto pelos princípios ativos Fludioxonil (25 g L⁻¹ i.a) + Metalaxil-M (37 g L⁻¹ i.a) e o Maxim Advanced ® contém com princípios ativos o Metalaxil-M (20 g L⁻¹ i.a) + Tiabendazol (150 g L⁻¹ i.a) + Fludioxonil (25 g L⁻¹ i.a) (AGROFIT, 2020). Esses produtos podem promover o controle da doença em cultivares com pouca resistência parcial, mas não em condições severas de doença.

Como forma alternativa de manejo, no intuito de prevenir e/ou tentar controlar o desenvolvimento e danos de *P. sojae*, pode ser utilizado o controle biológico, através da microbilização das sementes. Neste contexto, diversos microrganismos são isolados, selecionados e utilizados como agentes biocontroladores de doenças. Muitos fungos e bactérias têm sido testados no controle de doenças radiculares, alguns com sucesso comprovado, e muitos outros com grande potencial de uso como o agente de biocontrole *Trichoderma spp.* (MARIANO et al., 2005).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são os microrganismos de controle biológico de fitopatógenos mais estudados. Possuem boa adaptação e controlam eficientemente uma ampla gama de fitopatógenos, com habilidade de inibir diretamente as estruturas fúngicas, ou

colonizando as superfícies radiculares e o solo rizosférico, aumentando o crescimento da planta, a disponibilidade de nutrientes e induzindo a resistência da planta a doenças (JEGATHAMBIGAI et al., 2010; CHEN et al., 2016).

Os tratamentos biológicos com *Trichoderma* tem se mostrado eficientes para diferentes patógenos de solo. A eficiência desse fungo no controle de outras doenças deve-se ao seu poder em produzir antibióticos, enzimas degradadoras de parede celular de outros fungos e sua facilidade em colonizar diversos substratos (MACHADO et al., 2012). De acordo com Harman et al., (2004), os vários mecanismos atuando individualmente ou em conjunto, como ação de metabólitos secundários voláteis e não voláteis, podem inibir a germinação de esporos e o crescimento micelial.

Este trabalho teve como objetivo avaliar: i) o efeito fungitóxico de Maxim Advanced® e Apron RFC® sobre *P. sojae* isolados Ps.2.4 e 34.1 *in vitro* e, ii) o efeito antagonista e inibitório de metabólitos ativos de diferentes estirpes de *Trichoderma* spp., no controle de *P. sojae* isolados Ps.2.4 e 34.1 *in vitro*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo consta resultados de experimentos *in vitro*, conduzidos no Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal de Santa Maria *campus* Frederico Westphalen/RS. Todos os ensaios foram repetidos por duas vezes, sob as mesmas condições.

2.2.1 Obtenção e produção de inóculo

O inóculo de *Phytophthora sojae* consistiu dos isolados Ps 2.4 (rotina) e Ps 34.1 (agressivo), cedidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Trigo de Passo Fundo. Para a realização dos ensaios, os isolados foram repicados em meio de cultura de manutenção (V8) conforme descrito por Costamilan et al., (2016) para posterior utilização nos experimentos descritos a seguir.

2.2.2 Avaliação do efeito fungitóxico de diferentes doses de produtos comerciais químicos para o controle ou supressão de *P. sojae*, *in vitro*

Nos meios de cultura V8, após esterilização foram incorporados dois fungicidas comerciais recomendados para tratamento de sementes, isoladamente, caracterizando 2 ensaios.

O fungicida Maxim Advanced® ((Metalaxil-M (20 g L⁻¹ i.a) + Tiabendazol (150 g L⁻¹ i.a) + Fludioxonil (25 g L⁻¹ i.a)) nas concentrações de 0 (Testemunha), 169 (metade da dose), 338 (dose recomendada) e 676 (dobro da dose) ppm L⁻¹ de meio de cultura. O fungicida Apron RFC® ((Fludioxonil (25 g L⁻¹ i.a) + Metalaxil-M (37 g L⁻¹ i.a)) foi testado nas concentrações de 0 (Testemunha), 225 (metade da dose), 450 (dose recomendada) e 900 (dobro da dose) ppm L⁻¹ de meio de cultura.

Posteriormente o meio foi distribuído em placas de Petri, e depois de solidificado, adicionado no centro de cada placa um disco de micélio dos isolados de *P. sojae*. Cada ensaio foi conduzido em esquema fatorial, em delineamento inteiramente casualizado 2 x 4 (isolados de *P. sojae* x concentrações), com 6 repetições, sendo cada placa de Petri considerada uma unidade experimental. Após inoculação, as placas foram fechadas com parafilme, e incubadas em câmara tipo B.O.D., à temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

As colônias formadas a partir de cada disco do respectivo isolado foi medido diariamente, em posição ortogonal, até o sétimo dia com o auxílio de paquímetro digital, avaliando-se dessa forma o crescimento micelial (CM), e posterior determinação do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e o efeito fungitóxico dos produtos químicos através da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM).

Para a determinação do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) foi utilizada a fórmula descrita por OLIVEIRA (1991):

$$IVCM = \Sigma (D - D_a) / N$$

Sendo:

IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial

D= diâmetro médio atual da colônia

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior

N= número de dias após a inoculação

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) e a taxa de crescimento (TX), foram calculadas por meio das fórmulas apresentadas a seguir:

$$PICM = (\text{Diâmetro da testemunha} - \text{Diâmetro do tratamento}) / \text{diâmetro da testemunha} \times 100$$

$$TX = (\text{Diâmetro final da colônia} / n^\circ \text{ de dias da incubação}) \times 100$$

2.2.3 Avaliação da ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. para o controle *P. sojae*

As estirpes de *Trichoderma* utilizadas nesse ensaio foram: *Trichoderma asperellum* Isolado SF04, obtido do produto comercial Quality® na formulação de grânulos dispersíveis (WG) com 1×10^{10} UFC g⁻¹, *Trichoderma asperellum* isolado URM 591 obtido do produto comercial Organic® na formulação de pó molhável (WP) com 1×10^{10} UFC g⁻¹, *Trichoderma harzianum*, cepa CCT 7589, obtido do produto comercial Stimucontrol® na formulação líquida com 1×10^9 UFC L⁻¹ e *Trichoderma harzianum* cepa T-22 obtido do produto comercial Triatum® na formulação de grânulos dispersíveis (WG) com 1×10^8 UFC g⁻¹.

A multiplicação das estirpes de *Trichoderma* a partir dos produtos comerciais, foi realizada primeiramente a partir da aplicação direta de uma pequena fração do produto, com a ajuda de um bastão de vidro em placas de petri contendo meio BDA + Penicilina. A incubação ocorreu em BOD por 7 dias a 25°, fotoperíodo de 12 h. Após o crescimento das colônias, foram repicadas em placas de petri contendo meio BDA + Penicilina, um disco de micélio de 5mm, incubadas em BOD por 7 dias a 25°, fotoperíodo de 12 h para multiplicação e purificação das colônias, obtendo-se dessa forma colônias puras dos antagonistas.

Os ensaios de antagonismo realizados pelas metodologias CP, MV, MNV e MTL, foram conduzidos duas vezes, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 3+1 (isolados de *P. sojae* x Isolados de *Trichoderma* spp. + testemunha), com 6 repetições

2.2.3.1- Avaliação do antagonismo de *Trichoderma* spp. através do método da cultura pareada

O método de pareamento de culturas, consiste no confronto direto entre o antagonista (espécies de *Trichoderma* spp.) e o patógeno (isolados de *P. sojae*) (DENNIS; WEBSTER, 1971). A multiplicação inicial dos isolados de *P. sojae* foi realizada em placas contendo meio de manutenção (V8) e de *Trichoderma* spp. em placas contendo o meio de batata-dextrose-ágar (BDA), e após acondicionadas em incubadoras do tipo BOD, a 25 °C, fotoperíodo de 12 h, por sete dias. Discos (5 mm de diâmetro) retirados das culturas puras dos patógenos (Ps. 4.1 e Ps. 34.1) foram depositados a uma distância de 1,0 cm da borda em placas de Petri, contendo meio de manutenção (V8) e no lado oposto da placa, ao patógeno, foi posicionado o antagonista. Posteriormente as placas foram mantidas em BOD à 25 °C, e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições.

As avaliações foram realizadas através de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), com auxílio de paquímetro digital, obtendo-se uma média para cada repetição, quando toda a superfície do meio se apresentava colonizada pela *P. sojae* no tratamento testemunha (patógeno cultivado na ausência do antagonista).

Com base nas medições foram determinadas as variáveis diâmetro final das colônias (DFC), porcentagem de inibição de crescimento micelial (PICM) e a determinação da classificação do antagonismo de acordo com a escala de BELL et al. (1982).

2.2.3.2-Efeito inibitório de metabólitos voláteis (MV) de *Trichoderma* spp.

O efeito inibidor de metabólitos voláteis foi testado conforme descrito por Dennis; Webster (1971). Duas bases de placas de Petri de 90 mm de diâmetro uma contendo meio de manutenção V8 e outra contendo BDA receberam, individualmente, discos (5 mm de diâmetro) das culturas do patógeno e do antagonista, respectivamente. Após 24 h, as bases contendo antagonista e patógeno foram sobrepostas e unidas com filme de PVC. Como testemunha, foram sobrepostas uma base contendo o patógeno e outra somente meio BDA. As placas foram incubadas a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, de acordo com as descrições de Martins-Corder (1998).

2.2.3.3 Efeito inibitório de metabólitos não voláteis (MNV) de *Trichoderma* spp

Para os estudos com os metabólitos não-voláteis, os isolados de *Trichoderma* foram cultivados primeiramente em frascos Erlenmeyer contendo 250 mL de meio líquido à base de batata-dextrose. A incubação ocorreu em agitador orbital a 150 rpm, a 25 °C, em ausência de luz, durante sete dias. Após esse período, a parte líquida foi coletada por filtração em papel de filtro e centrifugada a 6.081 g. A fase líquida foi esterilizada em membrana de celulose (0,45 µm) e incorporada ao meio V8 na proporção de 25% (v/v).

Discos de 5 mm foram retirados de culturas dos patógenos (Ps. 4.1 e Ps. 34.1), e depositados no centro de cada placa de Petri contendo meio V8 suplementado com filtrado de culturas do antagonista. As placas assim preparadas foram incubadas a 25 °C com fotoperíodo de 12 h. A testemunha consistiu de cada patógeno cultivado na ausência de filtrados de culturas dos antagonistas.

2.2.3.4 Efeito inibitório de metabólitos termo lábeis (MTL) de *Trichoderma* spp.

Para a avaliação da estabilidade térmica dos metabólitos não-voláteis produzidos por *Trichoderma* spp., os filtrados fúngicos dos antagonistas foram autoclavados à 121 °C por 20 min (KUPPER et al., 2003), e após incorporados no meio V8. Os procedimentos para cultivo, incubação e montagem dos ensaios foram conduzidos como descrito no item 2.2.3.3.

As avaliações nos ensaios MV, MNV e MTL foram realizadas diariamente após 24 horas de inoculação, através de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), com auxílio de paquímetro digital, obtendo-se uma média para cada repetição, até o momento em que a testemunha de cada tratamento apresentasse colonização de 100% da superfície do meio. Com base nos valores médios do crescimento micelial foram determinados o IVC (Índice de Velocidade do Crescimento Micelial) conforme Oliveira et al., (1991) e o PICM (Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial).

2.2.4 Análise estatística

Para o experimento *in vitro*, as variáveis IVC, TX e PICM foram submetidas à análise de variância e quando significativas os dados quantitativos foram avaliados por meio de análise de regressão e os dados qualitativos foram submetidos ao teste de médias, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, através do programa estatístico Genes Software (CRUZ et al., 2016).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Avaliação do efeito fungitóxico dos produtos comerciais químicos para o controle ou supressão de *P. sojae*, *in vitro*

De acordo com a análise de variância, ambos tratamentos químicos (Maxim Advanced® e Apron RFC®) apresentaram-se eficientes no controle dos isolados de *P. sojae*, verificando-se significância para os fatores independentes (isolados de *P. sojae* e doses de cada fungicida) e para a interação, nas variáveis analisadas Índice de Velocidade de Crescimento Micelial /IVC e Taxa de Crescimento Micelial /TX. A Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial / PICM, não diferiu significativamente entre os isolados de *P. sojae*, embora as concentrações dos fungicidas, bem como a interação dos fatores interferiu nesta variável (Tabela 1). Estes

resultados indicam que os fungicidas recomendados, quando usados nas diferentes doses apresentam eficiência de controle variável para cada isolado de *P. sojae* testado.

Tabela 1 Análise de variância para as variáveis índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de *P. sojae*, submetidos a diferentes concentrações dos fungicidas Maxim Advanced® e Apron RFC® *in vitro*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Fator de variação	GL	Quadrado médio		
		Maxim Advanced®		
		IVCM	TX	PICM
Isolado	1	8.60*	27286.59*	85.38 ^{ns}
Concentração	3	1346.13**	2014146.01**	23119.14**
Isolado x Concentração	3	10.48**	26881.82**	324.14**
Resíduo	40	1,34	4567,39	46,91
Total	47			
CV(%)		16,8	20,57	10,55

Fator de variação	GL	Apron RFC®		
		IVCM	TX	PICM
Isolado	1	9.4**	11320**	4.4 ^{ns}
Concentração	3	1237.59**	1791342**	20515**
Isolado x Concentração	3	4.64**	2496**	12.5*
Resíduo	40	0,79	641	4
Total	47			
CV(%)		11,84	7,13	3,25

^{ns}, *,** Não significativo e significativo para o teste F a 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente.

No ensaio I, verifica-se que o fungicida Maxim Advanced® apresenta efeito fungitóxico a ambos isolados de *P. sojae*. O IVCM (Figura 1A) e a TX (Figura 1B) dos isolados apresentam redução conforme o aumento das dosagens do fungicida. O menor IVCM pode ser observado na dose de 338 ppm do p.c. mL⁻¹ de meio de manutenção, que corresponde à dose comercial recomendada do produto por kg de sementes tratadas, via tratamento de sementes industrial (TSI). O modelo que melhor ajustou-se para equação foi o quadrático, com os valores de R² de 0,9279 e 0,8614 para os isolados Ps 2.4 e e Ps 34.1, respectivamente.

Os resultados verificados para a variável taxa de crescimento da colônia (TX), Figura 1B, assemelha-se aos observados ao IVCM (Figura 1A), sendo a dose inibitória do crescimento micelial a de 338 ppm de Maxim Advanced®. O Modelo que melhor ajustou-se para a equação

foi o modelo quadrático, com os valores de R^2 de 0,9532 e 0,799 para os isolados Ps 2.4 e Ps 34.1, respectivamente.

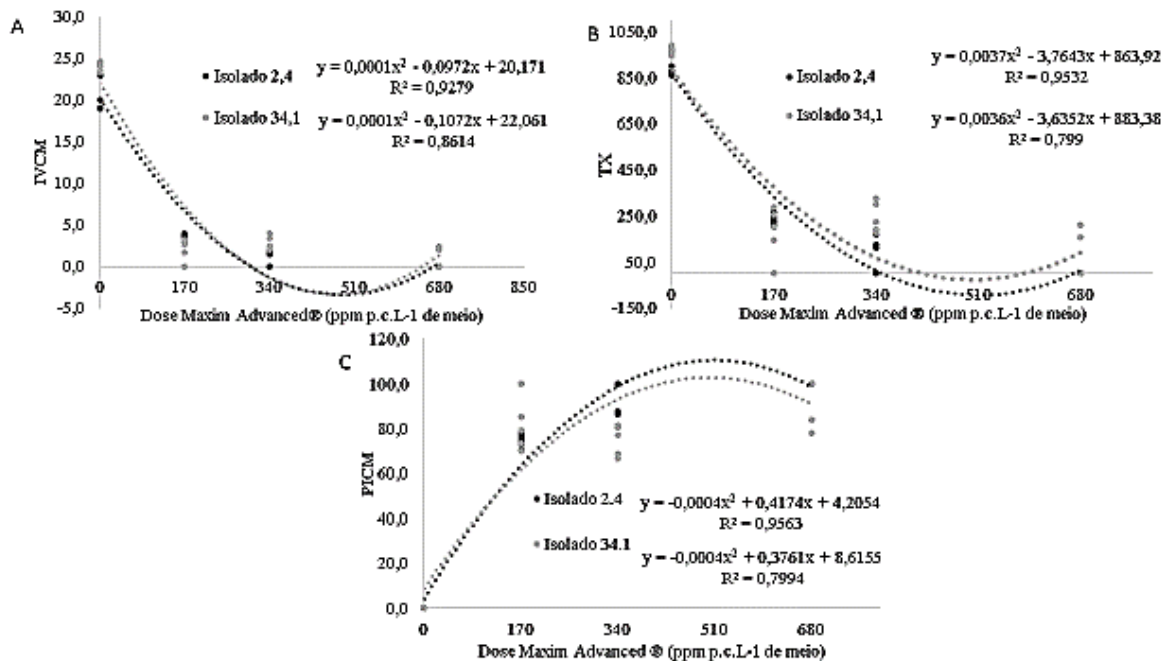


Figura 1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de *P. sojae*, submetidos a diferentes concentrações de Maxim Advanced® *in vitro*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

De acordo com a Figura 1C, o aumento das doses do fungicida Maxim Advanced® promoveu maior PICM de ambos isolados de *P. sojae*. Para o isolado Ps 2.4 e Ps 34.1 a inibição de 90,3% e 75,9% na dose de 338 ppm, respectivamente, quando comparado com a testemunha. Estes resultados confirmam o efeito fungitóxico do Maxim Advanced® à *P. sojae*.

Embora o fungicida Maxim Advanced® não seja registrado para o controle de *P. sojae* em soja, a sua eficácia, demonstrada no ensaio *in vitro*, se deve provavelmente ao ingrediente ativo Metalaxil, que faz parte de sua composição juntamente com os princípios Tiabendazol e Fludioxonil. O efeito positivo do Metalaxil no controle da podridão de fitóftora também foi observado por Smith (2020) o qual relata que nos Estados Unidos, em ensaios de classificação de fungicidas para tratamento de sementes, este ingrediente ativo se mostrou excelente para o controle de *Phytophthora* e que os demais (Tiabendazol e Fludioxonil) não são recomendados. Outros autores verificaram também a eficácia de Metalaxil no controle de *P. sojae* (DORRANCE, 2018) e *P. megasperma* (ANDERSON ; BUZZELL, 1982).

O fungicida Maxim Advanced® interferiu diferentemente no crescimento fúngico dos isolados de *P. sojae*, expresso pelas variáveis IVCM e TX, conforme Tabela 2. Houve diferença

estatística nas doses 168 ppm p.c. L⁻¹ e 338 ppm p.c. L⁻¹ onde foram observados melhor controle dos isolados Ps 34.1 e Ps 2.4, respectivamente. Entretanto, a maior dose (676 ppm p/c L⁻¹) afetou de forma semelhante ambos os isolados, reduzindo ao máximo o crescimento micelial, proporcionando inibição de 100% do isolado Ps 2.4.

As diferenças de fungitoxicidade observada nas menores doses de Maxim Advanced® sobre o IVCM dos isolados de *P. sojae*, podem estar relacionadas à variabilidade genética do patógeno e, em consequência, à maior ou menor sensibilidade desses isolados as doses testadas (BAMPI et al., 2013; LOPES et al., 2015). A população de *P. sojae* é composta de cerca de 70 raças fisiológicas ou patogênicas descritas, baseadas na virulência em um conjunto de variedades de soja diferenciadoras (DORRANCE; MILLS 2009).

Tabela 2. Valores médios do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e taxa de crescimento da colônia (TX) de isolados de *P. sojae* (Ps 2.4 e Ps 34.1) submetidos a diferentes concentrações de Maxim Advanced® *in vitro*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Doses (ppm)	IVCM		TX	
	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1
0	21.34 B	24.06 A	901.85 A	966.67 A
169	3.42 A	1.75 B	229.63 A	148.15 B
338	1.05 B	2.67 A	87.04 B	233.33 A
676	0.00 A	0.72 A	0.00 A	61.11 A
CV (%)	16,8		20,57	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O produto comercial Apron RFC ® (Ensaio II), apresentou resultados semelhantes aos tratamentos realizados com o Maxim Advanced®, onde o aumento das concentrações do fungicida proporcionou maior controle dos isolados de *P. sojae* (Ps 2.4 e Ps 34.1) em relação a testemunha, expresso através da redução do IVCM (Fig. 2A) e TX (Figura 2B). A equação que melhor se ajustou a ambas variáveis foi o modelo quadrático (Figura 2).

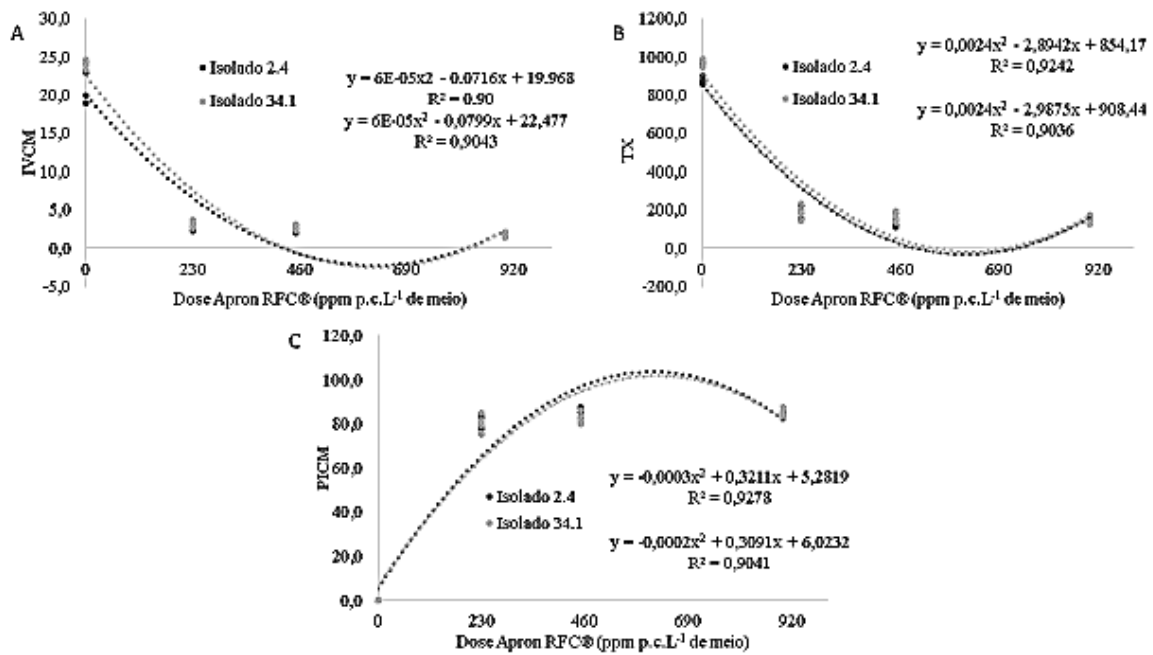


Figura 2 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), taxa de crescimento da colônia (TX) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de dois isolados de *P. sojae*, submetidos a diferentes concentrações de Apron RFC® *in vitro*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

A dose 450 ppm p.c. L⁻¹, recomendada no tratamento de sementes com o produto comercial Apron RFC® proporcionou uma redução do IVCM em relação a testemunha de 89,26 % (Ps 4.1) e 86,97% (Ps 34.1), entretanto o dobro da dose (900 ppm p.c. L⁻¹) foi o que apresentou maior efeito inibitório proporcionando os menores índices de crescimento com valores de 1,78 e 1,76, para Ps 4.1 e Ps 34.1, respectivamente (Figura 2A).

Os isolados de *P. sojae* apresentaram reduções significativas da TX em relação a testemunha (Figura 2 B) conforme a dose utilizada. Para o isolado Ps 2.4, na dose recomendada (450 ppm), a taxa de crescimento foi de 129,63 e para o isolado Ps 34.1 a menor taxa de crescimento foi observada na dose 900 ppm com valor de 152,78, demonstrando o efeito fungitóxico do Apron RFC®. Estes resultados diferem do ensaio com fungicida Maxim Advanced® onde na maior dose, não observou-se desenvolvimento do isolados Ps 2.4.

Os resultados encontrados para a variável PICM, representados na Figura 2C, indicam que os dois fitopatógenos, nas doses a partir de 230 ppm apresentaram inibição micelial semelhante chegando a 79,8% para Ps 2.4 e 80,5% para Ps 34.1.

A eficácia do fungicida Apron RFC®, demonstrada no ensaio *in vitro*, se deve provavelmente ao mesmo fato que o fungicida Maxim Advanced®, a presença do ingrediente

ativo Metalaxil, que faz parte de sua composição juntamente com Fludioxonil. Resultados coincidentes sobre a eficiência do uso de produtos com Metalaxil para o controle da podridão de fitóftora na cultura da soja já foram relatados por vários autores como Smith (2020), Dorrance (2018) e Anderson; Buzzell (1982), quando usados na forma de tratamento de sementes ou aplicados no sulco de plantio.

Na Tabela 3, ao analisarmos o comportamento dos diferentes isolados de *P. sojae*, fica evidenciado através da testemunha que estes diferem significativamente entre si quando ao desenvolvimento micelial, sendo o Ps 34.1 o que apresenta os maiores IVC M E TX, vindo ao encontro das informações da EMBRAPA Passo Fundo, a qual cedeu os isolados e descreveu o Ps 34.1 como o de maior patogenicidade. Entretanto ao compararmos dentro de cada dose testada do Apron RFC®, os isolados não diferem significativamente quando ao índice e taxa de crescimento, exceto na dose recomendada de 450ppm, a qual proporciona maior inibição da taxa de crescimento para o Ps 2.4.

Tabela 3. Valores médios de índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e taxa de crescimento da colônia (TX) de isolados de *P. sojae* (Ps 2.4 e Ps 34.1) submetidos a diferentes concentrações de Apron RFC® *in vitro*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Concentração o/Isolado	IVCM		TX	
	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1
0	21.34 B	24.06 A	901.85 B	966.67 A
230	2.76 A	3.11 A	182.41 A	188.89 A
450	2.29 A	2.78 A	129.63 B	174.07 A
900	1.78 A	1.76 A	145.66 A	152.78 A
CV (%)	11,84		7,13	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A diferença de sensibilidade dos dois isolados de *P. sojae*, mesmo que não significativa como observado para a variável IVC M e TX, e significativa apenas na dose de 450 ppm para TX, pode estar relacionado à variabilidade genética do patógeno (DORRANCE; MILLS, 2009). Segundo Lopes et al. (2015) alguns fungos quando ameaçados ativam mecanismos de variabilidade ligada a mutação ou reprodução sexual, por exemplo, para expressão de genes que ativem a insensibilidade ou resistência a fungicidas.

Nelson et al. (2008), ao testar a sensibilidade de diferentes patótipos de *P. sojae* obtidos a partir de amostras de solo da região de Dakota do Norte nos USA, ao princípio ativo Metalaxil,

constatarem que alguns apresentaram crescimento micelial, em meio de cultura tratado, no entanto o crescimento foi observado após o décimo dia de incubação, diferentemente do crescimento em meio não tratado, que ocorreu nos primeiros cinco dias após a incubação. Por outro lado, Cui et al. (2010), ao testar a sensibilidade de diferentes patótipos isolados em diferentes regiões da China, constatarem que todos os isolados apresentaram-se sensíveis ao Metalaxil.

2.3.2 Avaliação da ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. para o controle *P. sojae*

2.3.2.1 Avaliação do antagonismo de *Trichoderma* spp. à *P. sojae* pelo método da cultura pareada

No antagonismo *in vitro*, através do pareamento de culturas, verificou-se que todos os isolados de *Trichoderma* utilizados como possíveis inibidores do patógeno apresentaram nota 1, de acordo com a Escala de Bell et al., (1982), ou seja, inibiram em 100% o crescimento dos dois isolados de *P. sojae* em relação a testemunha (nota 5), demonstrando um grande potencial de controle do patógeno (Tabela 4).

Corroborando com estes resultados há relatos das interações antagônicas exercidas por isolados de *Trichoderma* spp. através do confronto com diversos patógenos tais como *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*; *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium dahliae* e *Phytophthora* spp. atribuindo a redução no crescimento à competição por espaço durante o crescimento (MELO, 1996; DIAS, 2011; CARVALHO et al., 2011; MILANESI et al., 2013; ISAIAS et al., 2014).

Tabela 4. Classificação segundo a Escala de Bell, Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial (PICM) e Diâmetro Final de Colônia (DFC) de dois isolados de *P. sojae* submetidos ao confronto direto com diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Tratamentos	Escala de Bell		PICM (%)		DFC (mm)	
	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4
TESTEMUNHA	5	5	0	0	57,5	50,75
<i>T. harzianum</i> (T-22)	1	1	100	100	0	0
<i>T. harzianum</i> (CCT 7589)	1	1	100	100	0	0
<i>T. asperellum</i> (SF04)	1	1	100	100	0	0
<i>T. asperellum</i> (URM 591)	1	1	100	100	0	0

O efeito da inibição no crescimento do patógeno pelo método da cultura pareada pode ser observado nas imagens referentes a Figura 3, para o isolado Ps 2.4 e na Figura 4 para o isolado Ps 34.1, mediante a confrontação direta com as diferentes estirpes de *Trichoderma* spp

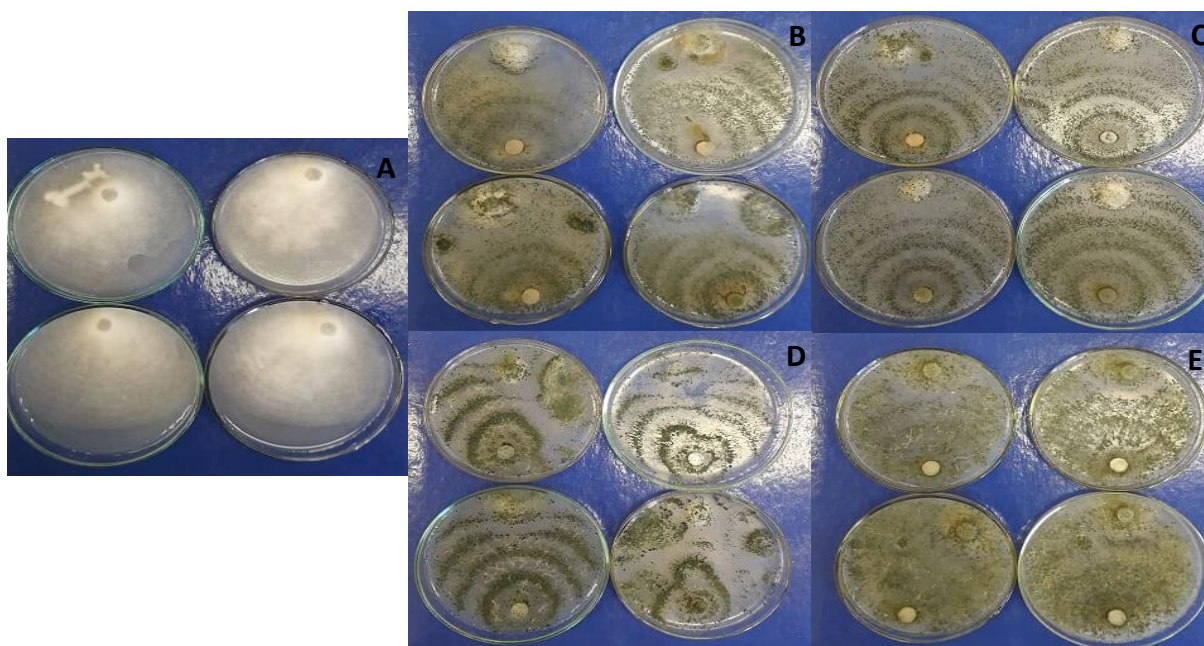


Figura 3 Inibição de crescimento micelial de *P. sojae* isolado Ps 2.4 (A) pelo método da cultura pareada com os isolados (B) *T. asperellum* (URM 591), (C) *T. asperellum* (SF04), (D) *T. harzianum* (CCT 7589) e (E) *T. harzianum* (T-22). Frederico Westphalen – RS, 2020.

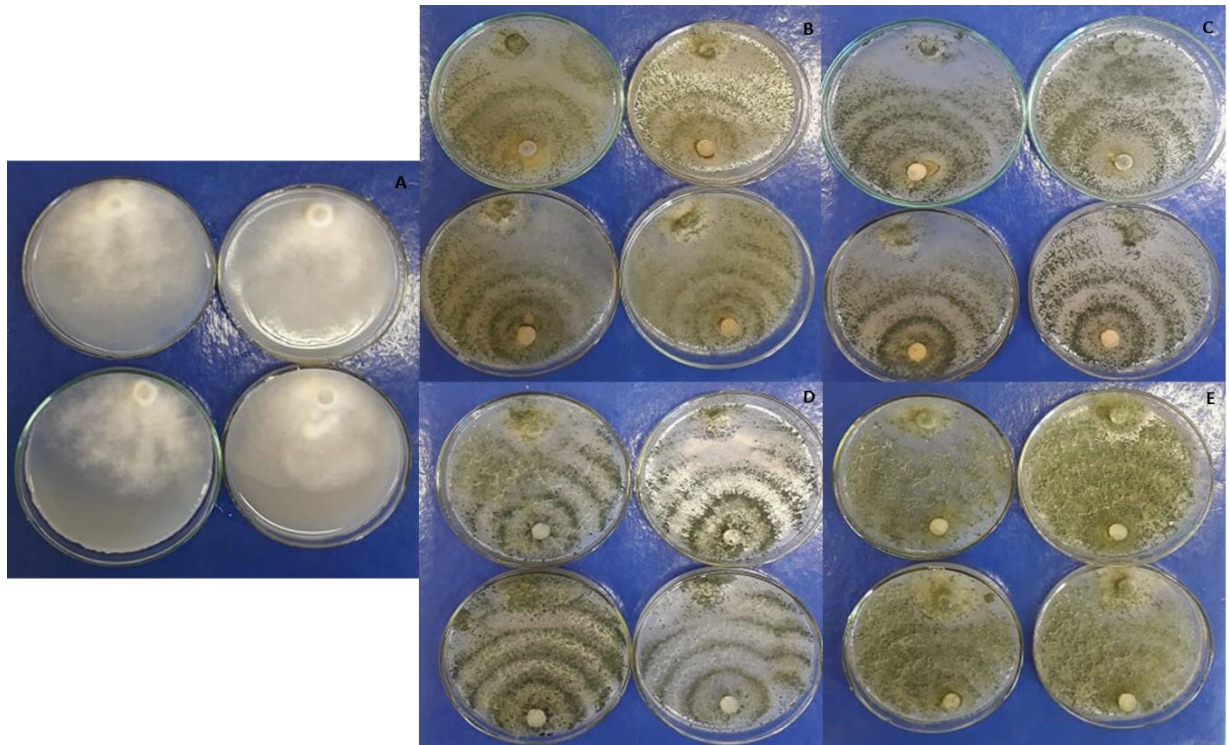


Figura 4 Inibição de crescimento micelial de *P. sojae* isolado Ps 34.1 (A) pelo método da cultura pareada com os isolados (B) *T. asperellum* (URM 591), (C) *T. asperellum* (SF04), (D) *T. harzianum* (CCT 7589) e (E) *T. harzianum* (T-22).. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Há carência de informações com relação ao antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. à *Phytophthora sojae*, embora os resultados do trabalho tenham demonstrado eficiência do uso de bioprodutos a base de *Trichoderma* para o controle deste patógeno.

No entanto, há relatos da eficiência do uso de isolados de *Trichoderma* spp. na inibição do crescimento micelial de *Phytophthora citrophthora* (AMORIM,1997; SILVA et al., 2008), *P. nicotianae* (SILVA, 2003), *P. palmivora* (CARNAUBA, 2006) e *P. parasitica* (CORRÊA et al.,2011).

Melo (2015) avaliou a inibição de crescimento micelial de *Phytophthora nicotianae* com um total de 50 isolados de *Trichoderma* spp. e todos foram capazes de inibir, significativamente, o crescimento do patógeno, com valores de inibições que variaram de 29 a 83% no tamanho da colônia. Sendo que todos os isolados de *Trichoderma* spp. cresceram sobre o fitopatógeno.

2.3.2.2 Efeito inibitório de metabólitos voláteis (MV) de *Trichoderma* spp.

De acordo com a Tabela 5, todos os isolados de *Trichoderma* spp., produzem metabólitos voláteis com ação inibitória semelhante para o isolado Ps 34.1 variando de 49 a 57% de inibição do crescimento micelial e proporcionando baixo índice de velocidade de crescimento, quando comparados a testemunha. Já o isolado Ps 2.4 apresentou menor suscetibilidade aos metabolitos voláteis, sendo apenas os produzidos pelos isolados *T. harzianum* (CCT 7589) e *T. harzianum* (T-22) que proporcionaram inibição significativa do crescimento, superior a 50% e menor IVCM.

Tabela 5. Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) de isolados de *P. sojae*, submetidos ao efeito de compostos voláteis de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	IVCM		PIC	
	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4
TESTEMUNHA	4,24 aA	3,48 aA	0 bA	0 dA
<i>T. harzianum</i> (T-22)	2,23 bA	1,89 bA	49,04762 aA	58,06686 aA
<i>T. harzianum</i> (CCT 7589)	2,16 bA	1,69 bA	50,71429 aA	52,90698 abA
<i>T. asperellum</i> (SF04)	1,96 bA	2,44 abA	55,2381 aA	31,97674 bcB
<i>T. asperellum</i> (URM 591)	1,84 bB	2,79 abA	57,85714 aA	22,09302 cdB

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A eficiência da antibiose demonstrada no trabalho pelos produtos à base de *Trichoderma harzianum* também foram evidenciadas por Carvalho et al., (2011), os quais relataram que todos os isolados de *T. harzianum* testados, produziram metabólitos secundários voláteis, com ação antifúngica e valores médios de porcentagem de inibição de *Fusarium oxysporum* f.sp *phaseoli*, próximo a de 50%. Resultado semelhante foi observado por Lopes et al. (2012) e Mesquita et.al(2017), onde os metabólitos voláteis produzidos por *T. harzianum* desempenham papel importante na supressão do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, com respectivamente 60 e 40% de inibição, indicando que ambos os fungos compartilhariam a mesma câmara de crescimento, sendo o efeito fungistático determinante no controle das doenças causadas por patógenos habitantes do solo (DE BOER et al., 2003), como é o caso de *P. sojae*.

Os isolados *T. asperellum* (URM 591) e *T. asperellum* (SF04), foram os únicos que demonstraram eficácia diferente quanto a capacidade antagonista dos dois isolados de *P. sojae*, sendo as maiores porcentagens de inibição do crescimento verificada para o isolado Ps 34.1 (Tabela 5). Resultados semelhantes quanto a variação da sensibilidade de patógenos a metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* foram observados por Isaias et al., (2014), os quais ao avaliarem 20 isolados pertencentes às espécies *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. spirale* e *Trichoderma* sp. contra *Verticillium dahliae* e *Sclerotium rolfsii*, verificaram que a maioria dos isolados demonstraram efeito inibitório dos metabólitos voláteis, embora a maior ação inibitória foi contra *V. dahliae*.

Segundo Martins-Corder & Melo (1998), a capacidade de *Trichoderma* produzir metabólitos secundários e o seu efeito fungicida pode variar entre espécies, entre isolados da mesma espécie e em função dos compostos antifúngicos secretados. GUIMARÃES et al.(2016), ao testar diferentes isolados de *Trichoderma* spp. observaram que apenas um isolado foi capaz de inibir mais que 50% do crescimento micelial de *Cladosporium herbarum* através da produção de compostos voláteis

Há vários estudos que evidenciam o efeito antagônico de metabólitos voláteis produzidos *in vitro*, de isolados de *Trichoderma* spp. contra várias espécies de *Phytophthora* spp. Amorim (1997) verificou que um isolado de *T. koningii* apresentou capacidade de produção de antibióticos, interferindo no crescimento de *P. citrophthora* e isolados de *T. harzianum* mostraram baixa capacidade. Da mesma forma, Carnauba (2006) ao avaliar quatro isolados de *Trichoderma* verificou que apenas *T. polysporum* produziu, *in vitro*, metabólitos tóxicos a *P. palmivora*. Melo (2015), obteve resultados positivos com 41 dos 50 isolados testados, que foram capazes de produzir compostos voláteis que inibiram, significativamente, o desenvolvimento da *P. nicotianae*.

Entretanto, nem todos os isolados de *Trichoderma* tem habilidade de produzirem metabólitos voláteis tóxico. Alvim (2011) estudando isolados de *Trihcoderma* (*T. harzianum* e *T. koningii*) no controle de doenças, observou que estes não produziam antibióticos capaz de inibir o crescimento micelial de *Phytophthora* spp.

Dentre os metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. citam-se: ácido harziânico, alameticinas, antraquinonas, azafilonas, daucanas, harzialactonas, bisorbicillinoides, butenolides, tricholina, glisopreninas, ácido heptelídico, gliovirina, pironas, tricotecenos, isocianatos, trichosetina, viridina, peptaiboles, entre outros (REINO et al., 2008).

2.3.2.3 Efeito inibitório de metabólitos não voláteis (MNV) de *Trichoderma* spp.

Os compostos não voláteis de *Trichoderma* spp. utilizados no presente trabalho apresentaram diferença significativa quanto ao controle dos diferentes isolados de *P. sojae* nos ensaios *in vitro*. Na Tabela 6, para o isolado Ps 34.1 é possível verificar que os compostos não voláteis formados pelos isolados *T. harzianum* CCT7589 e *T. asperellum* URM 591, respectivamente, inibiram 100% o crescimento micelial nos testes *in vitro* (PIC). Entretanto, a cepa T-22 de *T. harzianum* não produziu compostos não voláteis inibitórios, com IVCM igual a 4,52, proporcionando inclusive um estímulo ao crescimento quando comparado a testemunha.

Para o isolado PS 2.4 (Tabela 6) a maior inibição do crescimento micelial foi proporcionada pelos isolados, Stimucontrol® e Organic® (R) com 100 e 69,41%, respectivamente, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Os isolados de *Trichoderma* que compõem o bioprodutos Quality® (*T. asperellum*) e o Trianum® (*T. harzianum*) não sintetizaram metabólitos não voláteis tóxicos a este isolado.

Tabela 6. Índice de Velocidade de crescimento micelial (IVCM) e Porcentagem de Inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados de *P. sojae*, submetidos ao efeito de compostos não-voláteis de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. Frederico Westphalen, 2020.

Tratamentos / Isolados	PIC		IVCM	
	Ps 34.1	Ps 2.4	Ps 34.1	Ps 2.4
<i>T. asperellum</i> (URM 591)	100 aA	69.41 bB	0.00 cB	1.55 bA
<i>T. asperellum</i> (SF04)	83.33 aA	0.04 cB	2.69 bB	5.19 aA
<i>T. harzianum</i> (CCT 7589)	100 aA	100 aA	0.00 cA	0.00 cA
<i>T. harzianum</i> (T-22)	0.00 bA	0.00 cA	4.52 aB	5.57 aA
TESTEMUNHA	0.00 bA	0.00 cA	1.18 cB	5.07 aA
CV (%)				

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Resultados coincidentes foram encontrados por Carnáuba (2006) cuja análise dos dados demonstraram que dos 4 isolados de *Trichoderma* testados, apenas três isolados (*T. koningii*, *T. harzianum* e *T. polysporum*) não produziram metabólitos não voláteis em meio BDA, não interferindo no crescimento micelial de *Phytophthora palmivora*. Da mesma forma Carvalho et al. (2011) ao avaliarem isolados de *T. harzianum* inferiram que a maioria dos isolados apresentaram baixo efeito tóxico e que um dos isolados não produziu metabólitos tóxicos

biologicamente difusíveis no meio de cultivo para inibir o desenvolvimento de *F. oxysporum*, demonstrando de fato, que a capacidade para produzir metabólitos tóxicos com efeito fungicida ou fungistático pode variar entre isolados da mesma espécie (MARTINS-CORDER; MELO, 1998).

A grande variabilidade entre os isolados de *Trichoderma* spp. também foi relatada por Louzada et al., (2016) que ao avaliarem o antagonismo de 16 isolados de *Trichoderma* spp. através da produção de metabólitos não voláteis verificaram que apenas seis isolados proporcionaram inibição, com índice de crescimento da colônia de *S. sclerotiorum* que variaram de 0,3 à 5%.

Ao compararmos a eficácia dos metabólitos não voláteis quando a inibição do crescimento dos isolados de *P. sojae*, verificamos resultados semelhantes ao dos compostos voláteis, onde somente os isolados *T. asperellum* (URM 591) e *T. asperellum* (SF04) proporcionaram diferenças estatísticas, ocasionando maior inibição para o isolado Ps 34.1 em relação ao isolado Ps 2.4 (Tabela 6). Corroborando com estes resultados Dennis & Webster (1971) relataram que a habilidade de espécies de *Trichoderma* produzirem substâncias não voláteis (antibióticos) varia entre os isolados e que a suscetibilidade dos fungos também é variável.

Da mesma forma Isaias et al., (2014), verificaram que apenas os isolados *T. harzianum* e *T. koningiopsis* apresentaram resultados positivos com os seus metabólitos não voláteis inibindo completamente o crescimento de *S. rolfsii*. No entanto *T. koningiopsis* e *Trichoderma* spp. mostraram performances semelhantes, com aproximadamente 60% de inibição do patógeno, enquanto outros isolados testados nesse trabalho não mostraram ação inibitória. Diversos estudos têm mencionado variação de sensibilidade dos fungos fitopatogênicos a metabólitos produzidos por antagonistas (DUFFY et al., 2003).

2.3.2.4 Efeito inibitório de metabólitos não voláteis termoestável (MNVT) de *Trichoderma* spp.

Os metabólitos não voláteis termoestáveis não apresentaram efeito inibitório ao crescimento dos isolados de *P. sojae*. Com relação à produção de compostos antifúngicos por *Trichoderma* spp. que suportam altas temperaturas, vários autores relatam que há uma variabilidade quanto ao nível de antagonismos. Segundo Melo (2015) ao avaliar o antagonismo, in vitro, de 50 isolados de *Trichoderma* spp. à *P. nicotianae*, observou que em relação à produção de compostos antifúngicos termoestáveis os resultados obtidos indicaram que apenas sete isolados produziram substâncias que inibiram o crescimento do fitopatógeno com valores

de inibição variando de 10 à 48%. No mesmo estudo também foi relatado que alguns isolados não diferiram da testemunha, semelhante ao que foi observado neste trabalho.

Louzada et al., (2016) ao avaliarem a antibiose através da produção de metabólitos não voláteis termoestáveis, relataram que vários isolados de *Trichoderma* spp demonstraram níveis de antagonismo a *S sclerotiorum*, com valores de crescimento do patógeno variando de 21 à 36,75% e que o melhor resultado foi do isolado CEN654, que diferiu estatisticamente dos demais, permitindo apenas 9,5% de crescimento do patógeno em relação à testemunha

Segundo Isaias et al., (2014), no teste de termoestabilidade, apesar de ter havido uma diminuição nas porcentagens de inibição, os metabólitos de *Trichoderma* spp. se mantiveram ativos mesmo após autoclavagem, pois inibiram o crescimento micelial dos patógenos (*Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*), indicando o potencial desses metabólitos antifúngicos, nas condições experimentais utilizadas.

Nesse aspecto, os testes de produção de metabólitos não voláteis termoestáveis permitem inferir sobre a termoestabilidade de tais metabólitos frente a altas temperaturas do solo em regiões tropicais. De acordo com Jayaprakashvel et al., (2010), a autoclavagem (121°C por 15 minutos) de metabólito proveniente de um agente de biocontrole pode reduzir em 24% a sua atividade antifúngica quando comparada a não autoclavagem. Já Carvalho et al. (2007) postularam que moléculas bioativas, presentes em metabólitos de origem microbiana, podem se decompor em outras moléculas menos ativas ou mesmo inativas, quando submetidas a condições inadequadas que levem à degradação das moléculas.

2.4 CONCLUSÃO

(i) Maxim Advanced® e Apron® são fungitóxicos para os dois isolados de *Phytophthora sojae*, nos testes *in vitro*.

(ii) O crescimento dos isolados de *P. sojae* é inversamente proporcional à dose dos fungicidas utilizados, isto é, quanto maior a dose do fungicida, menor o crescimento micelial do isolado. O isolado de *P. sojae* Ps 2.4 foi mais sensível aos fungicidas testados.

(iii) Os diferentes isolados de *Trichoderma* spp. apresentam efeito inibitório sobre o crescimento dos isolados de *P. sojae*, Ps 2.4 e Ps 34.1, *in vitro*.

(iv) Os bioprodutos formados a partir de *T. harzianum* CCT7589 (Stimucontrol®) e *T. asperellum* URM591 (Organic® (R)) foram os mais eficazes no controle a *P. sojae* pois seus isolados foram capazes de atuar por mais de um mecanismo antagônico, conferindo vantagem ao agente de biocontrole quando liberado no ambiente.

(v) Os metabólitos não-voláteis termoestáveis não apresentaram resultados consistentes nos ensaios conduzidos, sendo necessários estudos complementares.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIM, F. A. **Controle de *Phytophthora nicotianae* Toker em mudas de fumo (*Nicotiana tabacum*)**. 2011, 41f. Trabalho de conclusão de curso (TCC) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2011.

AMORIM, E. P. R. **Controle biológico de *phytophthora parasítica* var. *nicotinae* Dastur e *P. citrophthora* (Smith & Smith) Leoniam em plântulas de citros**. Botucatu, 1997. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”. 1997.

ANDERSON, T.R., AND R.I. BUZZELL. 1982. Efficacy of methalaxyl in control of *Phytophthora* root and stalk rot of soybean cultivars differing in tolerance. **Plant Disease**. 66:1144–1145.

BAMPI, D., CASA, R. T., WORDELL FILHO, J. A., BLUM, M. M. C., & de CAMARGO, M. P. (2013). Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas. **Bioscience Journal**, 29(4). Retrieved from <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15022>.

BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHAM, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n.1, p.379-382, 1982.

CARNAÚBA, J.P. **Controle biológico, físico e químico de *Phytophthora palmivora* em plântulas de mamoeiro cv. Sunrise solo**. Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2006.

CARVALHO, D. D. C. et al. Rhizobacteria able to produce phytotoxic metabolites. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, p. 759-765, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000400032>

CARVALHO, D. D. C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 28-34, 2011.

CHEN, J. L., SUN, S. Z., MIAO, C. P., WU, K., CHEN, Y. W, XU, L. H, GUAN, H.L., ZHAO, L. X. Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile Organic® (R) compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. **Journal of Ginseng Research**. Volume 40, Issue 4, Pages 315-324, 2016.

CORRÊA, E.B.; KUPPER, K.C.; GOES, A. Controle biológico da podridão radicular em plantas de limão cravo. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, São Paulo, v.32, n.3, p.127-132, 2011.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; CLEBSCH, C. C. Resistência completa e parcial em linhagens de soja à *Phytophthora sojae*. In *Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 41., Passo Fundo, 2016. Atas e Resumos. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2016.

COSTAMILAN, L.M., BONATO, E.R., URBEN, A.F., MATSUOKA, K., VANETTI, C.A. Ocorrência de *Phytophthora sojae* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. 21, 395. 1996.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**. v 38, n.4, p.574-552, 2016.

CUI, L., YIN, W., TANG, Q., DONG, S., ZHENG, X., ZHANG, Z., AND WANG, Y. 2010. Distribution, pathotypes, and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora sojae* from Heilongjiang and Fujian provinces in China. **Plant Disease**. 94:881-884.

DE BOER, W. et al. Microbial community composition affects soil fungistasis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 835-844, 2003. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.2.835-844.2003>.

DEBIASI, H. et al. Diversificação de espécies vegetais como fundamento para a sustentabilidade da cultura da soja. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2015. 60 p. (Embrapa Soja. Documentos Online, 366). Disponível <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/138867/1/doc366-OL.pdf>

DENNIS C, WEBESTER J 1971. Antagonistic properties of species group of *Trichoderma*, 1. Production of non-volatile antibiotics. **Transaction British Microbiology Society**. 57: 25-39.

DIAS, P.P. **Controle biológico de fitopatógenos de solo por meio de isolados de fungos do gênero *Trichoderma* e sua contribuição para o crescimento de plantas**. Tese (Doutorado em Agronomia Ciências do Solo) Instituto de Agronomia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Seropédica, 2011.

DOORRANCE, A. E. Management of *Phytophthora sojae* of soybean: a review and future perspectives. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 40, n. 2, p. 210-219, 2018.

DORRANCE, A. E.; MILLS, D. *Phytophthora* Damping Off and Root Rot of Soybean. FACT SHEET: **Agriculture and Natural Resources**, Ohio, 4p, 2009..

DORRANCE, A. E.; MILLS, D.; ROBERTSON, A. E.; DRAPER, M. A.; GIESLER, L.; TENUTA, A. *Phytophthora* root and stem rot of soybean. **The Plant Health Instructor**, v. 1, 2007.

DUFFY, B.; SCHOUTEN, A.; RAAIJMAKERS, J.M. Pathogen Self-Defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, p.501-538, 2003.

FARIS, M.A., SABO, F.E. Effect of *Phytophthora megasperma* on yield and survival of resistant and susceptible alfalfa cultivars. **Canadian Journal Plant Science** 61, 955e960. 1981.

GUIMARÃES, G.R., FERREIRA, D.DA S., GALVÃO, C. DOS S., MELLO, S.C.M., CARVALHO, D.D.C. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa agropecuária pernambucana.**, Recife, v. 21, n. 1, p. 7-11, jan./dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.12661/pap.2016.002>

HARMAN G. E., HOWELL C. R., VITERBO A., CHET I., LORITO M. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Microbiology. Review**, 2:43–56. ,2004.

ISAIAS, C.O.; MARTINS, I.; SILVA, J.B.T.; SILVA, J.P.; MELLO, S.C.M. Ação antagonística e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.34-41, 2014.

JAYAPRAKASHVEL, M., SELVAKUMAR, M., SRINIVASAN, K., RAMESH, S., MATHIVANAN, N. Control of sheath blight disease in rice by thermostable secondary metabolites of *Trichothecium roseum* MML003. **Europe Journal Plant Pathology**. 126: 229-239. 2010.

JEE, H., KIM, W., CHO, W., Occurrence of Phytophthora root rot on soybean (*Glycine max*) and identification of the causal fungus, and identification of the causal fungus. **Crop Protection**. 40, 16e22. 1998.

JEGATHAMBIGAI, V., WILSON WIJERATNAMR. S. and WIJESUNDERA, R. L. C. Effect of *Trichoderma* sp. on *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of collar rot on *Zamioculcas zamiifolia* and an on farm method to mass produce *Trichoderma* species, **Plant Pathology Journal**, 9:47-55. 2010.

LOPES, F. A. C. et al. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, Oxford, v. 116, p. 815-824, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2012.04.015>.

LOPES, L. N. da S., SILVA, A. S. , PEREIRA, C.C de O., MENEZES, I. P. P de , MALAFAIA, G., LIMA, M. L. da P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal** 2015; 1(1):106-114

LOUZADA, G.A. DE S., BARBOSA, H.N., CARVALHO, D.D.C., MARTINS, I., LOBO JUNIOR M. e MELLO, S.C.M. Relações entre testes com metabólitos e seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotinia sclerotioru*. **Revista brasileira Biociência.**, Porto Alegre, v. 14, n.1, p. 9-14, jan./mar. 2016

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.251-257, 2003.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. D.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MARIANO, R.L.R, SILVEIRA, E.B, GOMES, A.M.A. Controle biológico de doenças radiculares. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) Ecologia e manejo de

patógenos radiculares em solos tropicais. Recife, Brasil. Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2005 pp. 303-322.

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, jan./abr. 1998.

MASSOLA JUNIOR N. S. A. Fungos Fitopatogênicos. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A (Eds.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5ª. Ed. São Paulo, Brasil. **Agronômica Ceres**. 2018. V1, pp. 107-141.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 261-295, 1996.

MELO, J.F. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Phytophthora nicotianae***. 2015. 31p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista Campus de Jaboticabal, Jaboticabal. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

MESQUITA, D.C. M., FERREIRA, F. A., MARTINS, I., MELLO, S. C. M., DANIEL DIEGO COSTA CARVALHO, D. D. C. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum* do feijão comum. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Centro de Saúde e Tecnologia Rural ACSA, Patos-PB, v.13, n.1, p.1-4, janeiro-março, 2017.

MILANESI, P. M. et al. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 36, n. 3, Jul. 2013.

NELSON, B. D., MALLIK, I., MCEWEN, D. and CHRISTIANSON, T. Pathotypes, Distribution, and Metalaxyl Sensitivity of *Phytophthora sojae* from North Dakota. **Plant Disease** / July 2008.

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

REINO, J.L.; GUERRERO, R.F.; HERNÁNDEZ-GALÁN R.; COLLADO, I.G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytoche mistry Reviews**, New York, v. 7, p. 89–123, 2008.

SCHMITTHENNER, A.F. 1999. *Phytophthora* root rot. In G.L. Hartman et al. (ed.) Compendium of soybean diseases, 4th ed. **American Phytopathological Press**, St. Paul, MN.

SILVA, K. S. et al. Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 749-754, out./dez. 2008.

SMITH, M. B. March's advanced Organic® (R) chemistry: Reactions, mechanisms, and structures. John Wiley & Sons. 2020.

WRATHER, J.A., ANDERSON, T.R., ARSYAD, D.M., GAI, J., PLOPER, L.D., PORTA-PUGLIA, A., RAM, H.H., YORINORI, J.T., 1997. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean producing countries in 1994. **Plant Diseases**. 81, 107e110.

WRATHER, J.A., ANDERSON, T.R., ARSYAD, D.M., TAN, Y., PLOPER, L.D., PORTA-PUGLIA, A., RAM, H.H., YORINORI, J.T., 2001. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean producing countries in 1998. **Canadian Journal Plant Pathology**. 23, 115e121.

3 CAPITULO II – TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE SEMENTES NO CONTROLE DA PODRIDÃO RADICULAR DE *Phytophthora sojae* EM CULTIVARES DE SOJA

3.1 INTRODUÇÃO

A expansão das áreas cultivadas com soja no Brasil aliada com seu cultivo intensivo favorece a sobrevivência de patógenos de solo, como a *Phytophthora sojae*, agente causal da doença podridão radicular.

A doença é favorecida por água livre no solo, podendo ocorrer após chuvas constantes ou excesso de irrigação, que promovem períodos prolongados de saturação de umidade, associados à textura argilosa e compactação do solo (COSTAMILAM et al., 2018). A severidade da podridão-radicular pode ser maior em solos com plantio direto, monocultura da soja, altas doses de fertilizantes orgânicos e potássicos antes da semeadura. A disseminação não ocorre por sementes, e a fonte de inóculo inicial é o solo e os restos culturais de soja contaminados (WORKNEH et al., 1999; DORRANCE, 2003).

O patógeno pode infectar plantas de soja em qualquer estágio de desenvolvimento desde a emergência até plantas adultas. Em plantas jovens, observa-se um rápido amarelecimento e murcha, acompanhados por uma podridão mole e um colapso da raiz. Nas plantas mais velhas ocorre redução de vigor, um amarelecimento generalizado das folhas mais baixas que progride por toda a planta, seguida de murchamento e morte (TYLER, 2007; DORRANCE; MILLS 2009; COSTAMILAN et al.,2010).

A principal forma de controle da doença é a resistência genética que pode ser classificada com resistência completa (raça específica) ou resistência parcial (não específica). A resistência completa, é regida por genes Rps do hospedeiro, não há aparecimento de sintomas, mas o uso intensivo da mesma cultivar resistente, pode ocasionar quebra de resistência.

Existem quatorze genes de resistência dominante, genes Rps: Rps1a, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7 e 8, além de mais dois recentemente descritos, mas ainda não incorporados à série diferencial. Já a resistência parcial, também chamada de resistência de campo, resistência geral ou resistência de planta adulta ou tolerância expressa-se pela redução do dano no tecido radicular, é durável, sendo avaliada pela capacidade de resistir a penetração, a colonização ou a multiplicação do patógeno (DORRANCE et al., 2003; COSTAMILAN, 2007; COSTAMILAN, et al., 2010).

A resistência parcial não é funcional nas fases de germinação de semente e de plântula, desenvolvendo-se progressivamente com o crescimento da planta, sendo efetiva contra todos os patótipos de *P. sojae* (MIDEROS et al., 2007).

Além da utilização de cultivares resistentes, requer outras estratégias que visam proteger a semente e a plântula do processo de infecção deste patógeno, já que nem sempre é possível identificar a raça específica de *P. sojae*. O tratamento de sementes pode ser uma alternativa à proteção de plantas no período inicial de estabelecimento da cultura, fase considerada crítica ao ataque de *P. sojae* (RADMER et al., 2017). De acordo com as indicações técnicas não há produto comercial registrado para o controle desse patógeno no Brasil (AGROFIT, 2020), no entanto, alguns trabalhos citam que produtos formulados com Metalaxyl e Mefenoxam possam ser eficiente no controle de *P. sojae* (COSTAMILAN et al, 2007; RADMER et al., 2017; SYNGENTA, 2017; COSTA et al., 2018). De acordo com Costamilan et al. 2013 para áreas onde a doença é severa, indica-se conjugar as estratégias de resistência completa e de resistência parcial com tratamento de sementes com fungicida.

Reassalta-se no entanto que o controle de *P. sojae* apresenta limitações, tais como escassez de materiais resistentes e poucas moléculas químicas disponíveis e com baixa eficiência. Com isso, tem surgido estratégias alternativas de manejo, como o controle biológico. Dentre os agentes de biocontrole, espécies de fungos do gênero *Trichoderma* spp. têm sido amplamente estudadas, como antagonistas de vários patógenos de solo, dentre os quais *Phytophthora sojae*. (AYOUBI et al., 2012; MARTINS et al., 2016; BEVILAQUA et.al., 2017).

A importância mundial do gênero *Trichoderma* no controle biológico de doenças de plantas, se deve a sua alta versatilidade em seus mecanismos de ação, como por exemplo, o parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência (BETTIOL et al., 2009). Estes microrganismos podem ser encontrados em diversos ambientes, apresentam rápido crescimento em diversos meios facilitando a produção massal. Além disso, os pertencentes desse gênero são capazes de atuar como bioestimulantes, promovendo crescimento vegetal pela liberação de fitohormônios e solubilização de nutrientes (MACHADO et al., 2012). Existem no mercado alguns produtos disponíveis para tratamento de sementes que contém o fungo *Trichoderma* para controle de alguns patógenos de solo, contudo sem informações para controle da podridão radicular causada pela *Phytophthora sojae*.

Diante do exposto, objetivamos analisar a resistência de cultivares modernas de soja quanto à ocorrência da podridão-radicular e o efeito de tratamentos de sementes no controle desta doença. Nossas questões científicas basearam-se em: i) avaliar a resistência parcial de seis

cultivares comerciais de soja, ii) avaliar o efeito do tratamento de sementes na qualidade fisiológica das sementes e iii) avaliar a eficiência de controle de tratamentos químicos e biológicos em sementes para isolados de *P. sojae*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Condições do experimento e obtenção do inoculo

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia pertencente à Universidade Federal de Santa Maria, campus de Frederico Westphalen/RS, e em casa de vegetação no Instituto Federal Farroupilha, *campus* de Frederico Westphalen. Todos os ensaios foram repetidos duas vezes.

As cultivares de soja selecionadas para este ensaio foram: Conrad, 55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO e 57HO121 RR. As sementes foram adquiridas em sementeiras da região.

Os isolados de *Phytophthora sojae* foram cedidos pela Embrapa Trigo, e recebem a codificação Ps 2.4 e Ps. 34.1.

Os produtos comerciais Apron RFC®, Maxim Advanced®, Trianum®, Stimucontrol®, Quality® e Organic® foram adquiridos em comércio local. Apron RFC® é composto pelos ingredientes ativos Fludioxonil (25 g.L⁻¹ i.a) + Metalaxil-M (37 g.L⁻¹ i.a); Maxim Advanced® composto por Metalaxil-M (20 g.L⁻¹ i.a) + Tiabendazol (150 g.L⁻¹ i.a) + Fludioxonil (25 g.L⁻¹ i.a); Os produtos biológicos comerciais testados são Quality®, composto por *Trichoderma asperellum* Isolado SF04, na formulação de grânulos dispersíveis (WG) com 1 x10¹⁰ UFC g⁻¹, Organic® composto por *Trichoderma asperellum* isolado URM 591 na formulação de pó molhável (WP) com 1 x10¹⁰ UFC g⁻¹, Stimucontrol® (*Trichoderma harzianum*, cepa CCT 7589 na formulação líquida com 1x10⁹ UFC/L e Trianum® composto por *Trichoderma harzianum* cepa T-22 na formulação de grânulos dispersíveis (WG) com 1 x 10⁸ UFC g⁻¹.

3.2.2 Teste de confirmação da resistência parcial de cultivares de soja à isolados de *P. sojae*

As colônias dos isolados de *P. sojae* foram multiplicadas em placas de Petri (Prolab® 90x15mm), contendo o meio de cultura V8, e crescidas em B.O.D na temperatura de 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias.

Para avaliar a resistência de cultivares de soja aos isolados de *P. sojae*, utilizaram-se copos plásticos descartáveis contendo uma camada de 1 cm de vermiculita umedecida, discos de micélio, nova camada de 5 a 7 cm de vermiculita umedecida, cinco sementes distanciadas entre si na superfície e cobertura de 1 a 2 cm de substrato vegetal umedecido (COSTAMILAN & CLEBSCH, 2016) (Figura 1). O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x3, utilizando seis cultivares de soja (55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR e Conrad) e três inóculos (isolado Ps. 2.4, isolado Ps. 34.1 e sem inóculo). Foram utilizadas cinco repetições para cada tratamento, sendo considerado cada copo descartável uma repetição. Uma visão geral do experimento pode ser observada na Figura 1.



Figura 1 Visão geral do experimento; montagem do teste de resistência parcial das cultivares de soja (A, B e C). Frederico Westphalen – RS, 2020.

Os copos plásticos foram acondicionados em casa de vegetação com temperatura controlada ± 25 °C, e irrigados diariamente durante 21 dias a fim de simular as condições favoráveis para a infecção do patógeno.

Aos 21 dias após semeadura as plantas foram avaliadas quanto à emergência e a infecção, através da contagem do número de plântulas emergidas e sintomáticas, respectivamente.

As raízes das plantas foram cortadas, lavadas e avaliou-se o grau de infecção (GI) da doença de acordo com a escala modificada proposta por Dorrance et al. (2003), sendo: (1) sem raízes apodrecidas; (2) traços de apodrecimento; (3) massa de raízes com terço inferior apodrecido, (4) massa de raízes com dois terços inferiores apodrecidos; (5) todas raízes podres, além de 10% de plântulas mortas; (6) 50% de plântulas mortas, além de diminuição moderada de crescimento da parte aérea; (7) 75% de plântulas mortas, além de severa diminuição de crescimento e (8) de 90% a 100% de plântulas mortas.

A partir do grau de infecção anteriormente descrito, as cultivares de soja foram classificadas quanto a sua resistência a ocorrência da podridão radicular de *P. sojae*, de acordo com Costamilan; Clebsh (2016), sendo: alta resistência parcial quando obtêm nota média até 4,0; com moderada resistência parcial, apresentando nota de 4,1 a 5,0; moderadamente suscetíveis, com nota até 6,0; e altamente suscetíveis, com nota acima de 6,0.

As plantas separadas em parte aérea e sistema radicular foram colocadas e mantidas em sacos de papel na estufa de secagem à 65 °C até adquirir massa constante. As massas foram pesadas em balança de precisão (0,0001 g) e os resultados foram expressos em g por 5 plantas.

Dessa forma, as variáveis obtidas foram número de plantas emergidas (NPE), número de plantas sintomáticas (NPS), grau de infecção (GI), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA).

3.2.3 Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com produtos químicos e biológicos

As sementes de soja foram tratadas via úmida em laboratório e homogeneizadas em copos plásticos descartáveis. Os produtos químicos utilizados foram o Apron RFC® e Maxim Advanced® nas doses comerciais recomendadas para o tratamento de sementes de soja, tais como 2 mL p.c Kg⁻¹ de semente e 1 mL p.c Kg⁻¹ de semente, respectivamente. Os produtos biológicos utilizados como Trianum® e Stimucontrol® foram inoculados na concentração de 25 g p.c. por kg de semente e 4 mL kg semente⁻¹, respectivamente.

Já os produtos biológicos Quality® e Organic® foram multiplicados primeiramente em meio de cultura BDA, e incubados em B.O.D a 25°C com fotoperíodo de 12 h, durante oito dias, devida a pequena quantidade disponível do produto comercial para o tratamento direto das sementes. Posteriormente, as placas foram lavadas com água destilada estéril e calibrou-se uma suspensão de conídios calibradas para a concentração de 1 x 10⁹ UFC. As sementes foram tratadas na dose de 2 mL de suspensão para cada kg de semente.

Com base nos resultados do ensaio I, descrito no Item 3.2.1, foram selecionadas apenas três cultivares, relacionadas às suas características de resistência parcial à *P. sojae* isolados Ps 2.4 e Ps 34.1. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x7, sendo três cultivares de soja (Conrad, 55I57RSF IPRO e NS 5445 IPRO) e sete tratamentos de sementes (Quality®, Organic®, Trianum®, Stimucontrol®, Apron RFC®, Maxim advanced® e testemunha). Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes.

A avaliação da fitotoxicidade dos produtos na qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas foi determinada através dos testes de germinação e vigor. No teste de germinação (G)

foram utilizadas 200 sementes por tratamento, com 50 sementes tratadas por repetição, distribuídas em substrato rolo de papel, sendo utilizadas três folhas de papel *Germitest*, umedecido com 2,5 vezes o seu peso com água destilada. Após confecção dos rolos, estes foram colocados no germinador à temperatura constante de 25 (± 2) °C, com umidade relativa do ar variando entre 80-85% e fotoperíodo de doze horas. As contagens foram realizadas no quinto e oitavo dia, contabilizando-se, na contagem final, a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Como teste de vigor foi considerado o teste de primeira contagem (PC). Este teste foi realizado em conjunto com o teste de germinação, onde foram contabilizadas as plântulas normais germinadas, aos cinco dias após a instalação do teste, e o resultado expresso em porcentagem (BRASIL, 2009).

3.2.4 Efeito do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos no controle de isolados de *P. sojae*, para diferentes cultivares de soja.

Neste ensaio realizou-se a avaliação da eficiência de fungicidas e agentes de biocontrole usados em tratamento de sementes de soja visando proteção contra *P. sojae*. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x7, sendo três cultivares de soja (Conrad, 55I57RSF IPRO e NS 5445 IPRO) e sete tratamentos de sementes (Quality®, Organic®, Trianum®, Stimucontrol®, Apron RFC®, Maxim Advanced® e testemunha), com cinco repetições, sendo cada copo considerado uma unidade experimental. Os tratamentos foram testados para dois isolados de *P. sojae* (Ps. 2.4 e Ps. 34.1), através de ensaios individuais. As cultivares selecionadas ficaram com notas entre 1 e 4 de acordo com a escala de agressividade proposta por Dorrance et al., (2003), ou seja, alta resistência parcial.

As sementes tratadas, conforme item 3.2.2 foram semeadas em copos, seguindo a metodologia dos copos plásticos descartáveis citados no item 3.2.1, segundo Costamilan; Clebsch (2016). Foram dispostas cinco sementes tratadas com os respectivos produtos em cada copo, cobertas com substrato e irrigadas diariamente. As unidades experimentais foram alocadas em casa de vegetação com controle de temperatura em torno de 25 °C.

Aos 21 dias após a semeadura, as raízes foram lavadas e avaliadas quanto ao grau de infecção de acordo com a escala modificada de Dorrance et al., (2003). Avaliou-se ainda a porcentagem de plantas mortas e emergidas a partir da análise visual. Além disso, as plantas foram separadas em parte aérea e raiz, secadas em estufa de secagem 65 °C até adquirir massa

constante, pesadas em balança de precisão (0,0001g), a fim de obter a massa seca de parte aérea e raiz, os resultados foram expressos em g por 5 plantas.

Dessa forma, obtiveram-se as variáveis grau de infecção (GI), porcentagem de plantas mortas (PM), porcentagem de emergência (EM), massa seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR).

3.2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativo procedido o teste de médias. Quando os dados apresentaram-se anormais, procedeu-se a transformação: raiz quadrada de $x + 0,5$. As médias dos experimentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Teste de confirmação da resistência de cultivares de soja à isolados de *P. sojae*

De acordo com a análise de variância foi possível observar interação entre os fatores isolados e cultivares para as variáveis MSR, GI e NPI. O fator cultivar apresentou significância para as variáveis MSPA, GI, NPI e NPE. O fator isolado foi significativo para todas as variáveis analisadas (Tabela 1).

Tabela 1 Análise de variância da massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA), grau de infecção (GI), número de plantas infectadas (NPI) e número de plantas emergidas (NPE) para cultivares de soja inoculadas com isolados de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Fator de variação	GL	QM				
		MSR	MSPA	GI	NPI	NPE
ISOLADO	2	0,168**	0,131*	20,477**	2,344**	4,077**
CULTIVAR	5	0,181ns	0,238*	5,264**	1,004**	1,424**
ISOLADO*CULTIVAR	10	0,070*	0,060ns	6,451**	1,291**	0,691ns
RESÍDUO	18	0,024	0,027	1,166	0,170	0,433
TOTAL	35					
CV (%)		22,89	10,8	67,98	167,01	14,28

* Significativo a 5% de probabilidade de erro; ** Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns não significativo.

A interferência da inoculação com os isolados de *P. sojae* na massa seca de raiz das cultivares de soja (Tabela 2), somente foi verificada nas cultivares NS 5445 IPRO e Conrad onde o isolado Ps. 34.1 interferiu negativamente reduzindo a MSR quando comparado com a testemunha e o isolado Ps. 2.4. As demais cultivares embora quando inoculadas com *P. sojae* tenham em geral apresentado redução do desenvolvimento radicular em relação a testemunha, não houve diferença estatística.

A menor MSR da cultivar Conrad inoculada com Ps. 34.1 se deve ao fato desta cultivar apresentar alta suscetibilidade a este patógeno como pode ser verificada pela variável grau de infecção (Tabela 2). Estes resultados vão ao encontro da maioria dos trabalhos que relatam que *P. sojae* pode infectar plantas de soja em qualquer estágio de desenvolvimento causando podridão de sementes, tombamento pré e pós-emergente, podridão de caules e raízes (CHANG et al., 2017; COSTAMILAN; CLEBSCH, 2015). A doença promove a destruição quase completa de raízes secundárias e apodrecimento da raiz principal, que adquire coloração marrom-escura (TYLER, 2007; DORRANCE; MILLS 2009).

Tabela 2 Massa seca de raiz (MSR) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Cultivar	Massa seca de RAIZ		
	P.S 2.4	P.S 34.1	TESTEMUNHA
55I57RSF IPRO	0.675 aA	0.7 abA	1.05 aA
NS 5445 IPRO	0.885 aA	0.255 bB	0.965 abA
53I54 IPRO	0.38 aA	0.48 abA	0.325 cA
58I60RSF IPRO	0.68 aA	0.68 abA	0.85 abA
57HO121 RR	0.85 aA	0.815 aA	0.89 abA
CONRAD	0.75 aA	0.315 bB	0.545 bcAB

* Letras minúsculas iguais entre cultivares e maiúsculas iguais entre inóculo representam semelhança estatística pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

A inoculação dos isolados de *P. sojae* não afetou significativamente a massa seca da parte aérea (MSPA) das cultivares de soja (Tabela 3), a qual não diferiu da testemunha (sem inoculação). Entretanto, verificou-se diferença significativa entre os isolados de *P. sojae* uma vez que Ps. 34.1 em relação ao isolado Ps 2.4 proporcionou maior redução da MSPA, demonstrando maior agressividade. A redução da MSPA está relacionada ao fato de que este patógeno ao ocasionar a podridão do sistema radicular, compromete o funcionamento normal das raízes e conseqüentemente o desenvolvimento das plantas, principalmente em cultivares suscetíveis (CHANG et al., 2017; COSTAMILAN ; CLEBSCH, 2015; DORRANCE ; MILLS, 2009).

Tabela 3 Massa seca de parte área (MSPA) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Isolados	MS parte aérea
Ps 2.4	1.1175 a
Ps 34.1	0.9125 b
Testemunha	0.9775 ab

* Letras minúsculas iguais representam semelhança estatística entre cultivares (A) e isolados (B) pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

A cultivar 57HO121 RR se destacou por apresentar maior MSPA, além de maior MSR (Tabelas 3 e 4). Este resultado pode estar atrelado às características da cultivar, pois apresenta resistência à infecção de *Phytophthora sojae*, conforme descrição da mesma no site da Sementeira Lagoa Bonita (2020).

Tabela 4 Massa seca de parte área (MSPA) de cultivares de soja quando inoculadas com isolados de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Cultivar	MSPA
57HO121 RR	1.285 a
58I60RSF IPRO	1.083 ab
NS 5445 IPRO	1.08 ab
CONRAD	0.947 bc
53I54 IPRO	0.93 bc
55I57RSF IPRO	0.69 c

* Letras minúsculas iguais representam semelhança estatística entre cultivares (A) e isolados (B) pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

A rapidez, porcentagem e uniformidade da emergência de plântulas é dependente da qualidade fisiológica das sementes, principalmente de seu poder germinativo e vigor. De acordo com a Tabela 5, podemos verificar que as cultivares apresentaram em média 4,64 plantas emergidas o que representa 92,8% emergência. O maior número de plantas emergidas foi observado para a cultivar 57HO121 RR (4,93) e NS 5445 IPRO (4,8), diferindo apenas de Conrad (4,07) (Tabela 5), o que caracteriza a alta viabilidade das sementes.

Tabela 5 Número de plantas emergidas para diferentes cultivares de soja submetidas a diferentes inóculos de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

CULTIVAR	EMERGIDAS
57HO121 RR	4.933333 a
NS 5445 IPRO	4.8 a
53I54 IPRO	4.733333 ab
58I60RSF IPRO	4.666667 ab
55I57RSF IPRO	4.466667 ab
CONRAD	4.066667 b

* Letras minúsculas iguais representam semelhança estatística entre cultivares pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Os dois isolados de *P. sojae* diferiram estatisticamente entre si quanto a interferência no número de plantas emergidas (NPE), o Ps 2.4 em relação ao isolado Ps 34.1, sendo que o isolado Ps. 34.1 ocasionou menor emergência de plantas (Tabela 6), com uma redução de 14,8%. Este fato pode ser atribuído a variabilidade genética dos isolados (DORRANCE et al., 2003) e ao apodrecimento das sementes (CHANG et al., 2017; COSTAMILAN; CLEBSCH, 2015; DORRANCE ; MILLS 2009). De acordo com Costamilan et al. (2010), cultivares de soja suscetíveis sofrem danos como apodrecimento de sementes e morte de plântulas em áreas onde ocorrerem chuvas fortes ou acúmulo de umidade no período de germinação e emergência de plântulas, levando, inclusive, à necessidade de ressemeadura.

Tabela 6 Número de plantas emergidas para diferentes inóculos de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

ISOLADOS	EMERGIDAS
Ps 2.4	1.1175 a
Ps 34.1	0.9125 b
Testemunha	0.9775 ab

* Letras minúsculas iguais representam semelhança estatística entre os isolados) pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

A interferência da inoculação com os isolados de *P. sojae* no número de plantas de soja com sintomas (Tabela 7), somente foi verificada na cultivar Conrad onde o isolado Ps. 34.1 interferiu negativamente infectando grande número de plantas quando comparado com o isolado Ps. 2.4 e a testemunha. Não foi observada ação patogênica do isolado Ps. 2.4 as cultivares de soja avaliadas, as quais apresentaram-se na maioria assintomáticas.

Os sintomas da podridão radicular de fitóftora podem ser observados desde a pré-emergência até a fase adulta de plantas, sendo que as mais jovens são mais suscetíveis e morrem mais rapidamente. No início do ciclo da soja ocorre a podridão de sementes ou flacidez na radícula, progredindo ao cotilédono, ocorrendo morte de plântulas em pré e pós-emergência e, em plantas adultas ocorre apodrecimento de raízes, levando ao amarelecimento, murcha, seca e morte das mesmas (COSTAMILAN et al., 2013).

De acordo com Schmitthenner (1999), a incidência e severidade da podridão radicular de fitóftora estão relacionadas à presença de inóculo no campo, à alta umidade do solo e à suscetibilidade da cultivar de soja, podendo os oósporos (esporos de resistência) sobreviver por muitos anos em resíduos de culturas e no solo.

Tabela 7 Grau de infecção e número de plantas sintomáticas para diferentes cultivares de soja e inóculos de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Cultivar	GRAU DE INFECÇÃO			NUMERO PLANTAS SINTOMÁTICAS		
	P.S 2.4	P.S 34.1	TESTEMUNHA	P.S 2.4	P.S 34.1	TESTEMUNHA
55I57RSF IPRO	1.00 aA	2 bA	1.00 aA	0.0 aA	0.2 bA	0.0 aA
NS 5445 IPRO	1.00 aA	2.6 bA	1.00 aA	0.0 aA	0.4 bA	0.0 aA
53I54 IPRO	1.80 aA	1.6 bA	1.00 aA	0.2 aA	0.2 bA	0.6 aA
58I60RSF IPRO	1.00 aA	1.00 bA	1.00 aA	0.0 aA	0.2 bA	0.0 aA
57HO121 RR	1.60 aA	1.80 bA	1.00 aA	0.2 aA	0.2 bA	0.0 aA
CONRAD	1.00 aB	6.2 aA	1.00 aB	0.0 aB	2.2 aA	0.0 aB

* Letras minúsculas iguais entre cultivares e maiúsculas iguais entre inóculo representam semelhança estatística pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Ao analisarmos a suscetibilidade das cultivares a cada isolado verificamos que quando inoculadas com o Ps. 2.4, todas apresentaram notas menores que 2, que significa sem raízes apodrecidas e portanto, com alta resistência parcial. Para o isolado Ps. 34.1, com exceção da cultivar Conrad que se mostrou suscetível, as demais cultivares 55I57 RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60 RSF IPRO, 57HO121 RR demonstraram alta resistência parcial, com notas inferiores a 3.

Segundo Embrapa (2010), a doença é predominantemente controlada através de cultivares resistentes, podendo a resistência à podridão radicular ser completa, radicular ou parcial para cultivares de soja. A resistência completa é controlada por genes maiores, denominados Rps, que estão inseridos em uma série diferencial, composta por quatorze genes: Rps1a, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7 e 8. Os genes Rps1a, 1c, 1k, 3a e 6 são amplamente

utilizados em cultivares comerciais de soja nos EUA. A resistência completa pode ser superada pelo uso intensivo da mesma cultivar resistente, e é variável de acordo com o gene Rps utilizado. Nos EUA, a duração da efetividade da resistência completa variou entre 8 anos, para Rps1a, e 20 anos, para Rps1k. O segundo tipo é a chamada resistência radicular, regida pelo gene Rps2, quando as raízes permanecem saudáveis, embora haja sintomas no hipocótilo da soja. É pouco explorado, no Brasil. O terceiro tipo é a resistência parcial, que é durável e não-específica a raça ou a patótipos de *P. sojae*. É efetiva a partir do desenvolvimento da primeira folha trifoliolada, e genótipos de soja podem apresentar diferentes níveis de desenvolvimento de sintomas, desde muito baixo até alto (SCHMITTHENNER et al., 1994; DORRANCE et al., 2003; SCHMITTHENNER; DORRANCE, 2015).

A resistência parcial ou resistência de raiz (Schmittener, 1999) é um caráter poligênico, sendo expressa e herdada quantitativamente e o número exato de genes envolvidos na resistência parcial ainda não é conhecido (COSTAMILAN et al., 2007). Esse tipo de resistência também é denominado tolerância ou resistência de campo e foi caracterizado pelo menor grau de apodrecimento de raízes e progressão da doença, ocorrendo a uma taxa mais lenta do que em cultivares suscetíveis (DORRANCE et al., 2008; SLAMINKO et al., 2010).

Vários trabalhos têm relatado a grande variabilidade patogênica dos isolados de *P. sojae*, bem como dos genótipos de soja testados (COSTAMILAN et al. 1996; 2001; 2007; 2009; 2012; 2013; 2016; 2017; 2018). Bordon (2013) ao avaliar a resistência de cultivares comerciais de soja recomendados para a região Sul do Brasil, na safra de 2012/2013, para os isolados obtidos, identificou seis cultivares de soja (CD 230, TMG 7161, SD 688 RR, SD 615 RR, BMX Alvo RR e SD 60A02i) resistentes a todos os isolados de *P. sojae* e a cultivar BRS 282 suscetível a todos. Para os isolados do Paraná Ps. 9.1, Ps. 24.1 e Ps. 15.2, observou-se maior porcentagem de cultivares suscetíveis, correspondendo a 61, 55,5 e 52% respectivamente.

Em 2017, de 870 genótipos de soja avaliados em pré-seleção para podridão-radicular de *Phytophthora*, 628 (72%) foram considerados resistentes, 62 (7%) apresentaram reação intermediária, e 180 (21%), foram suscetíveis.

Costamilan et al., (2015) citam a utilização da cultivar Conrad como testemunha nos experimentos de resistência, pois a mesma apresenta alta resistência parcial à podridão radicular. Contudo, neste ensaio verificamos alta suscetibilidade de Conrad ao isolado Ps. 34.1, além de baixa emergência de plântulas. A maior virulência do isolado Ps. 34.1 é explicada devido a este isolado ser um dos que apresentam fórmula de virulência mais completa entre os demais patótipos brasileiros, e o isolado Ps.2.4 ser um isolado de rotina. O isolado Ps.2.4 apresenta virulência nos genes Rps1d, 2, 3b, 3c, 4, 5, 6 e 7, e estas são as fórmulas mais

frequentemente virulentas nas populações brasileiras deste patógeno, segundo COSTAMILAN et al. (2013).

Mais de 55 raças de *P. sojae* foram relatadas e novas raças geralmente se desenvolvem em resposta à pressão de seleção resultante do cultivo de cultivares resistentes de soja (CUI et al., 2010, STEWART et al., 2014, TIAN et al., 2016). A implantação de cultivares com resistência a um único gene a *P. sojae* geralmente não fornece controle a longo prazo da podridão radicular (SCHMITTHENNER, 1985).

Estes resultados nos permitem uma visão geral da resistência das cultivares a isolados altamente estudados. Contudo, é importante considerar a variabilidade populacional de *Phytophthora sojae* no solo brasileiro, além da contínua produção de soja, que permite a virulência dos isolados à cultivares com genes Rps (COSTAMILAN et al., 2015).

Hobe (1981) afirma que a ampla gama de raças pode existir numa população natural que podem se expressar quando uma cultivar de soja resistente é introduzida. A grande diversidade e o aumento contínuo de raças com introdução de cultivares resistentes podem ser explicadas por mutações aleatórias, dispersão e resseleção natural pela cultivar de soja resistente (ERWIN et al., 1983).

O plantio de cultivares de soja geneticamente resistentes representa a estratégia mais eficaz para o manejo da doença (DORRANCE et al., 2008). Entretanto, a eficácia da resistência pode ser reduzida como resultado de mudanças na população de patógenos em direção a novas raças de *P. sojae* que podem superar a resistência (ANDERSON ; BUZZELL, 1992, ZHANG et al., 2010). Deve-se evitar a confiança em qualquer medida para gerenciar a podridão das raízes de fitóftora. Em vez disso, uma abordagem integrada, baseada em uma combinação de medidas de controle deve ser estrategicamente implementada (SCHMITTHENNER, 1985; NELSON et al., 2008; DORRANCE et al., 2009). Portanto, o uso de cultivares de soja com resistência completa à podridão radicular de *Phytophthora* (TIAN et al., 2016), a rotação de cultivares portadoras de genes diferentes de resistência (STEWART et al., 2014) e o tratamento de sementes (RADMER et al., 2017) são estratégias recomendadas.

Nesta etapa do trabalho confirmou-se a alta resistência parcial das cultivares de soja 55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR. A cultivar Conrad apresentou-se suscetível à doença.

3.3.2 Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com produtos químicos e biológicos

De acordo com a análise de variância, as variáveis primeira contagem (PC) e germinação (G) foram significativas para a interação entre cultivares e tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 Análise de variância para o teste de primeira contagem (PC%) e germinação (G%) de sementes submetidas a diferentes tratamentos para controle de *P. sojae*. Frederico Westphalen – RS, 2020.

Fator de Variação	GL	QM	
		PC (%)	G(%)
CULTIVAR	2	330,15 ^{ns}	1107,25 ^{ns}
TRATAMENTOS	6	5095,65 ^{ns}	3466,71 ^{ns}
CULTIVARXTRATAMENTOS	12	1060,86**	421,17**
ERRO	40	39,77	4,1
TOTAL	62		
CV		8,96	2,42

* Significativo a 5% de probabilidade de erro; ** Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns não significativo.

O tratamento químico de sementes de soja é uma técnica economicamente recomendada, desde que utilizados produtos ou misturas de produtos adequados com a finalidade de proteger as sementes e as plântulas na fase inicial do crescimento contra patógenos, sem interferência na qualidade fisiológica das sementes. Ao analisarmos a Tabela 9, verificamos que tanto os produtos (químicos e biológicos), quanto as cultivares interferiram de forma significativa na qualidade fisiológica das sementes de soja avaliadas, proporcionando, em geral, maior germinação e vigor.

No teste de primeira contagem da germinação (Tabela 9), é possível constatar que os diferentes tratamentos de sementes diferiram entre si para as três cultivares, proporcionaram resultados semelhantes ou superior quando comparados a testemunha, exceto no caso dos produtos Triatum® que reduziu o vigor em todas cultivares e o produto Stimucontrol® influenciou também negativamente as sementes de Conrad e NS 5445 IPRO, demonstrando assim efeito fitotóxico. Vários outros autores, tais como Farias et al. (2003); Martin-Corder; Melo (1997); Cassiolato et al. (1998) constataram efeito positivo no tratamento químico de sementes avaliado pelo teste de primeira contagem da germinação, onde as sementes tratadas expressaram maior vigor que as não tratadas.

O tratamento com Apron RFC® assegurou 100% de germinação das sementes na primeira contagem para a cultivar Conrad, diferindo dos demais tratamentos. Independente da

cultivar, sementes tratadas com Apron RFC® apresentaram valores superiores a 86% de germinação na primeira contagem, demonstrando o maior vigor das mesmas (Tabela 9). Além do Apron RFC®, para a cultivar NS5445 IPRO, também proporcionaram resultados positivos o Maxim Advanced® (89%) e os biológicos Quality® (84%) e o Organic® (86%). Para cultivar 55I57 RSF IPRO também resultaram em aumento do número de plântulas normais germinadas, o tratamento de sementes com os produtos Organic® (89%) e o Stimucontrol® (81%).

Tabela 9 Primeira contagem e teste de germinação de sementes de três cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos Quality®, Organic®, Trianium®, Stimucontrol®, Apron RFC®, Maxim Advanced® e testemunha. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	PC(%)			G(%)		
	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO
QUALITY®	91 Ab	84 Aa	72 Bb	100 Aa	89 Bc	81 Cd
ORGANIC®	88 Ab	86 Aa	82 Aa	90 Ab	93 Ab	91 Ab
TRIANUM®	60 Ac	8 Bd	18 Bc	77 Ac	24 Be	19 Ce
STIMUCONTROL®	13 Cd	44 Bc	81 Aa	89 Ab	74 Bd	88 Ac
APRON RFC®	100 Aa	92 Ba	86 Ba	100 Aa	96 Aa	90 Bb
MAXIM ADVANCED®	90 Ab	89 Aa	73 Bb	100 Aa	92 Bb	96 Ba
TESTEMUNHA	82 Ab	66 Bb	70 Bb	89 Ab	90 Ac	86 Bc
CV (%)	8,96			2,42		

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Ao analisarmos o efeito dos tratamentos entre as cultivares, verificamos que apenas o tratamento com Organic® permitiu desempenho semelhante das cultivares na primeira contagem das sementes, com valores acima de 82% de germinação. Produtos como o Quality® e Maxim Advanced® proporcionaram valores superiores nas cultivares Conrad e NS 5445 IPRO, diferindo estatisticamente da 55I57 RSF IPRO (Tabela 9).

Os tratamentos com Trianium®, Apron RFC® proporcionaram maior germinação de sementes na primeira contagem para a cultivar Conrad, diferindo significativamente das demais cultivares. Stimucontrol® proporcionou maior porcentagem de germinação na cultivar 55I57 RSF IPRO, diferindo da NS 5445 IPRO e de Conrad, sequencialmente (Tabela 9).

Como visão geral, o Trianum® proporcionou baixos percentuais de germinação na primeira contagem para todas as cultivares, demonstrando sua influência negativa no vigor das sementes de soja (Tabela 9).

Através do teste de germinação (Tabela 9), verificamos que os tratamentos de sementes (químicos e biológicos) diferiram entre si para as três cultivares de soja, as quais apresentam alta potencial fisiológico, com média de 88,33% de germinação (testemunhas). As sementes da cultivar Conrad quando tratadas com os produtos químicos (Apron RFC® e Maxim Advanced®) e o biológico Quality®, atingiram 100% de germinação, demonstrando o efeito positivo deste produtos. Os produtos Organic® e Stimucontrol® proporcionaram em média 89% de germinação, não diferindo da testemunha e as menores porcentagens de germinação foram verificadas com Trianum® (77%), o qual demonstrou efeito fitotóxico, ocasionando uma redução de 13% da germinação em relação a testemunha.

Os tratamentos com os químicos (Apron RFC® e Maxim Advanced®) e o biológico Organic® demonstraram efeito positivo para as sementes da cultivar NS5445 IRPO (Tabela 9), promovendo maior percentagem de germinação em relação a testemunha. Já os produtos Trianum® e Stimucontrol® demonstraram fitotoxidez nas sementes ocasionando redução de 73% e 17%, respectivamente. O tratamento de sementes com Quality® não interferiu na percentagem de germinação, proporcionando em média 89% de germinação.

Para as sementes da cultivar 55I57RSF IPRO (Tabela 9), os produtos químicos (Apron RFC® e Maxim Advanced ®) e o Organic® foram os que ocasionaram incremento na germinação em relação a testemunha e os produtos Trianum® e Quality®, demonstraram efeito fitotóxico reduzindo a percentagem de germinação em 77% e 6%, respectivamente. O Stimucontrol® não diferiu da testemunha.

Ao analisarmos o potencial germinativo das cultivares frente ao tratamento de sementes com cada produto (Tabela 9), verificamos que apenas sementes tratadas com Organic® apresentaram comportamento semelhante entre as cultivares de soja, com valores superiores a 91% de germinação. Constata-se que os produtos químicos Maxim Advanced® e Apron RFC® afetaram positivamente o potencial germinativo das cultivares Corand, NS5445 IPRO e 55I57RSF IPRO, proporcionando em média 100%, 94% e 93% de germinação, respectivamente. O produto Quality® promoveu maior germinação das sementes da Conrad, diferindo estatisticamente das demais, e o Trianum® afetou negativamente a germinação das sementes de todas cultivares, as quais apresentaram germinação abaixo do padrão de comercialização, sendo a menor germinação observada na cultivar 55I57RSF IPRO , com 19%.

O Stimucontrol® não interferiu na germinação da Conrad e 55I57RSF IPRO, mas afetou negativamente a NS 5445 IPRO, proporcionando 74% de germinação.

O tratamento químico de sementes de soja é uma técnica economicamente recomendada, desde que utilizados produtos ou misturas de produtos adequados com a finalidade de proteger as sementes e as plântulas na fase inicial do crescimento contra patógenos. Contudo, não devem interferir de forma negativa sobre a qualidade fisiológica dos lotes de sementes, seja imediatamente após o tratamento ou durante o período de armazenamento.

De maneira geral, não houve interferência negativa dos tratamentos de sementes com os produtos químicos e biológicos em relação às variáveis fisiológicas (primeira contagem/vigor e germinação), independente da cultivar com exceção do tratamentos de sementes com o produtos Trianium® e Stimucontrol®. Todas as cultivares tiveram redução do seu potencial fisiológico quando submetidas ao produto biológico Trianium® e o Stimucontrol® interferiu negativamente nas sementes das cultivares NS5445 IPRO e Conrad.

Os produtos químicos Apron RFC® e Maxim®, são registrados para o tratamento de sementes de soja e no ensaio não demonstraram nenhuma interferência negativa nas variáveis fisiológicas avaliados e sim proporcionaram diferenças significativas em relação a testemunha, com aumento da porcentagem de germinação e vigor para todas cultivares. Estes resultados são similares aos encontrados por Pereira et al.(2011) que relatam que a porcentagem de emergência das plântulas, para as sementes tratadas, foi, em média, 44,3 % superior às das sementes não tratadas, confirmando a importância do tratamento mesmo quando as condições de germinação da semente e de emergência da plântula são ideais. A maioria dos trabalhos que avaliam a viabilidade do tratamento químico de sementes em soja concluem que não há interferência negativa sobre o potencial fisiológico das mesmas (GOULART et al.,1999; BAIL, 2013; HENNING et al., 2000; KROHN; MALAVASI, 2004; CARVALHO ;NAGAKAWA, 2000; BARROS et al.,2005; OLIVEIRA et al. ,1993; SCHONS et al., 2018).

Tavares et al., (2014) verificaram ausência de influência dos fungicidas fludioxonil + metalaxil-M no tratamento de sementes para a germinação e vigor das sementes de soja quando comparados com a testemunha

Embora Apron RFC® tenha proporcionado maior qualidade fisiológica em sementes de soja, importante salientar que estes fungicidas precisam ter boa associação com os microrganismos noduladores, como o *Bradyrhizobium* sp. Neste sentido, Costa et al. (2009) verificaram efeito negativo de produtos como o Maxim Advanced®no tratamento de sementes

por reduzir a nodulação em raízes de soja. Dessa forma, tratamento de sementes com os produtos biológicos seriam promissores.

Dos produtos bioprotetores utilizados, se destacaram neste ensaio, o Organic® e Quality®, ambos a base de *Trichoderma asperellum* e que não interferiram negativamente no potencial fisiológico das sementes, proporcionando aumento na germinação e vigor, para algumas das cultivares de soja. De forma similar aos resultados encontrados vários trabalhos relatam uma variabilidade muito grande nos resultados do tratamento de sementes com espécies de *Trichoderma sp.*. Farias et al.(2003) relataram que sementes de algodão submetidas ao tratamento com *T. harzianum* apresentaram porcentagem de germinação superior a testemunha. Sementes de feijão tratadas com isolados de agentes biológicos (*Trichoderma spp*) tiveram incremento de 20-24% (ISHIZUKA, 2016). Outros autores relatam o efeito positivo de isolados de *Trichoderma spp.* sobre a germinação de sementes, emergência e vigor de plântulas de berinjela (MARTINS CORDER; MELO, 1997) e alface (CASSIOLATO et al., 1998).

Já Rezende et al (2011) relatam que o tratamento de sementes com *Trichoderma spp.* não interfere no vigor e germinação das sementes de soja sem inoculação do patógeno. Resultados contraditórios foram verificados por Mertz et al. (2009), os quais observaram que sementes de soja com protetores biológicos apresentaram redução acentuada da germinação e emergência de plantas. Marrioni et al., (2012) recomendam o tratamento químico carbendazim + thiram e carboxin + thiram, por apresentarem plantas mais vigorosas em relação ao tratamento biológico em sementes de mamona.

O produto biológico Trianium® composto pela cepa T-22 de *Trichoderma harzianum*, foi o único que interferiu negativamente nas sementes tratadas de todas cultivares de soja sendo que é classificado como um fungicida e nematicida microbiológico, indicado para o tratamento de sementes para o controle da podridão-cinzenta-do-caule (*Macrophomina phaseolina*), do nematoide-das-lesões (*Pratylenchus brachyurus*), do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e da murcha-de-fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) (BRASIL, 2020).

O efeito negativo do Trianium® sobre o potencial fisiológico das sementes pode estar correlacionado com a eficiência do isolado, quantidade de esporos viáveis e a formulação. Outra hipótese levantada é sobre o tratamento de sementes ter sido realizado à seco, sem ter dissolvido o produto em água antes da inoculação, interferindo na homogeneização do produto sobre a semente, de modo que os acúmulos tenham proporcionado alguma fitotoxidez.

Atualmente, os produtos microbiológicos são indicados por alvo e não por cultura. Contudo, subentende-se que as indicações-alvo ocorram em campos de soja, e por isso, produtores utilizariam este produto para o tratamento de sementes em soja.

A não interferência negativa do tratamento de sementes com fungicidas e bioprotetores, exceto Trianium®, no potencial fisiológico das sementes de soja, verificada nos resultados deste ensaio, sugerem a possibilidade da realização dos ensaios *in vivo*, com o objetivo do controle da podridão radicular de fitoftora.

3.3.3 Efeito do tratamento de sementes com produtos químicos e biológicos no controle de isolados de *P. sojae*, para diferentes cultivares de soja.

De acordo com a análise de variância, as variáveis MSPA e MSR foram significativas para o isolado Ps. 34.1 quanto ao efeito de cultivares e interação entre cultivares e tratamentos. O efeito isolado de tratamento foi verificado apenas para a MSPA. Para a MSR os tratamentos não foram significativos para ambos isolados. Para o isolado Ps. 2.4, apenas o efeito de cultivar foi significativo para os resultados da MSPA, e para MSR nenhum fator apresentou significância (Tabela 10).

Tabela 10 Análise de Variância para massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de plantas oriundas de diferentes tratamentos de sementes para controle de *P. sojae* isolados Ps. 34.1 e Ps. 2.4. Frederico Westphalen – RS, 2020.

FV	QM				
	GL	Ps 2.4		Ps 34.1	
		MSPA	MSR	MSPA	MSR
CULTIVAR	2	0,7190**	0,5882 ^{ns}	2,1404**	2,1518**
TRATAMENTOS	6	0,1319 ^{ns}	0,8133 ^{ns}	0,6305**	0,5313 ^{ns}
CULTIVARXTRATAMENTOS	12	0,1083 ^{ns}	0,6409 ^{ns}	0,2982**	0,7355*
ERRO	40	0,086	0,4539	0,1074	0,2751
TOTAL	62				
CV		20,2	44,43	11,58	19,59

* Significativo a 5% de probabilidade de erro; ** Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns não significativo.

As sementes das diferentes cultivares de sojas submetidas aos tratamentos com fungicidas e bioprodutos para o controle da *P. sojae* não apresentaram o mesmo desempenho ($p < 0,05$) nos testes avaliados pela massa seca de parte aérea e raiz. Não foi observado efeito significativo dos tratamentos de sementes para o isolado Ps. 2.4 nos testes de MSR.

Na avaliação da MSPA foi verificada diferença significativa somente para cultivares (Tabela 11). Estes resultados demonstram que as sementes, de todas as cultivares, tratadas com os bioprodutos ou produtos a base de metalaxyl apresentaram desempenho semelhante ao da testemunha quanto ao desenvolvimento radicular. As cultivares apresentaram diferenças quanto a massa seca de parte aérea, sendo a cultivar NS 5445 IPRO a que apresentou maior biomassa, diferindo estatisticamente das demais.

Estes resultados refletem o fato de todas as cultivares de soja apresentarem resistência parcial ao isolado Ps. 2.4, o nível de vigor das sementes serem alto e de o experimento ter sido conduzido em casa de vegetação com as condições ambientais controladas, que foram propícias para uma rápida germinação das sementes e desenvolvimento das plantas. De acordo com Farias et al., (2003) o nível de vigor das sementes, por ocasião da semeadura, tem efeito pronunciado sobre sua resposta ao tratamento com fungicida, onde sementes com nível de vigor alto apresentam resposta praticamente nula ao tratamento químico.

Tabela 11 Massa seca de parte aérea de cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha; e inoculadas com o isolado de *P. sojae* Ps. 2.4. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	CULTIVARES		
	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO
QUALITY®	1,54 Aa	1,72 Aa	1,1 Ba
ORGANIC®	1,49 Aa	1,26 Aa	1,22 Aa
TRIANUM®	1,53 Aa	1,71 Aa	1,41 Aa
STIMUCONTROL®	0,94 Ba	1,68 Aa	1,34 Aa
APRON RFC ®	1,31 Aa	1,69 Aa	1,42 Aa
MAXIM ADVANCED ®	1,33 Aa	1,54 Aa	1,31 Aa
TESTEMUNHA	1,46 Ba	2,05 Aa	1,45 Ba
CV (%)	20,2		

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O efeito da interação entre os tratamentos e cultivares para a variável MSPA de plantas inoculadas com o isolado de *P. sojae* Ps. 34.1 é apresentado na Tabela 12. Para a variável MSPA o efeito dos tratamentos de sementes com fungicidas e produtos biológicos diferiram entre si apenas nas cultivares Conrad e NS5445 IPRO. Para a cultivar Conrad, o único tratamento que apresentou efeito positivo foi Apron RFC®, o qual proporcionou maior MSPA, diferindo

significativamente dos demais tratamentos, os quais apresentaram desenvolvimento de parte aérea semelhante a testemunha.

Os tratamentos com os produtos químicos (Apron RFC® e Maxim Advanced®) foram os que se destacaram estatisticamente dos demais, promovendo maior MSPA da cultivar NS 5445 IPRO. As sementes da cultivar 55I57RSF IPRO tratadas com esses produtos apresentaram desempenho semelhante à testemunha (Tabela 12), demonstrando a baixa eficiência do tratamento de sementes. Portanto, foram os produtos químicos Apron RFC® e Maxim Advanced® que se mostraram mais eficientes para o controle da podridão radicular de fitoftora.

Ao analisarmos a MSPA das cultivares de soja frente ao tratamento de sementes com cada produto (Tabela 12), verificamos diferença significativa na testemunha (água) onde a cultivar 55I57RSF IPRO apresenta maior MSPA (1,31g), diferindo estatisticamente das demais que são semelhantes entre si. Além da presença do isolado Ps. 34.1, devemos considerar na avaliação desta variável que o desenvolvimento das plantas está relacionado também com as características genéticas de cada cultivar, onde as cultivares Conrad, NS5445 IPRO e 55I57 RSF IPRO, apresentaram média de MSPA das plantas iguais a 0,947g, 1,08g e 0,69g/planta (Tabela 2), respectivamente.

Assim, as cultivares apresentaram valores semelhantes de MSPA para o tratamento de sementes com Apron RFC® e Trianium®. Os produtos Organic® e Maxim Advanced® proporcionaram maiores valores de MSPA para as cultivares NS 5445 IPRO e 55I57 RSF IPRO e o produto Quality® apenas para a cultivar 55I57 RSF IPRO (Tabela 12).

Tabela 12 Massa seca de parte aérea e raiz para cultivares de soja submetidas a tratamento de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, e inoculadas com o isolado de *P. sojae* Ps. 34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	MSPA						MSR					
	CONRAD		NS 5445 IPRO		55I57 RSF IRPO		CONRAD		NS 5445 IPRO		55I57 RSF IRPO	
QUALITY	0,36	Bb	0,53	Bb	1,16	Aa	0,07	Bb	0,26	Ba	0,92	Ab
ORGANIC	0,37	Bb	0,91	Ab	1,24	Aa	0,32	Ab	0,72	Aa	0,83	Ab
TRIANUM	0,49	Ab	0,83	Ab	1,07	Aa	0,29	Ab	0,1	Aa	0,65	Ab
STIMUCONTROL	0,22	Bb	0,5	Bb	1,37	Aa	0,25	Ab	0,68	Aa	0,95	Ab
APRON RFC ®	1,41	Aa	1,51	Aa	1,08	Aa	1,54	Aa	0,87	Aa	0,54	Ab
MAXIM ADVANCED ®	0,75	Bb	1,55	Aa	1,31	Aa	0,59	Ab	0,75	Aa	1,2	Ab
TESTEMUNHA	0,48	Bb	0,34	Bb	1,31	Aa	0,28	Ba	0,18	Ba	2,25	Aa
CV (%)	11,58						19,59					

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Transformação por raiz quadrada de $x + 0,5$ para teste de média, graficamente são apresentados os dados originais.

A eficiência do tratamento de sementes para o controle do isolado Ps. 34.1 (Tabela 12), expressa pela variável MSR somente foi evidenciada na cultivar Conrad, onde o fungicida Apron RFC® proporcionou maior MSR, diferindo dos demais tratamentos, os quais foram semelhantes a testemunha. Já a MSR das plantas da cultivar NS 5445 IPRO não foram influenciadas pelos tratamentos, os quais evidenciaram efeito negativo para a cultivar 55I57 RSF IPRO, proporcionando redução da MSR em relação a testemunha (água).

O produto bioprotetor Quality® foi único que demonstrou efeito diferencial entre as cultivares, proporcionando maior valor de MSR para a cultivar 55I57 RSF IPRO, embora as plantas tenham apresentado menor desenvolvimento de raiz em relação a testemunha (Tabela 12).

Com base na análise da Tabela 12, fica evidenciado o efeito positivo do tratamento de sementes com o fungicida Apron RFC®, ao proporcionar maior desenvolvimento das plantas de soja da cultivar Conrad, a qual no ensaio de avaliação da resistência parcial demonstrou suscetibilidade ao isolado Ps. 34.1.

De acordo com a Tabela 13 verificamos que não houve interferência do tratamento de sementes com fungicidas e produtos biológicos sobre a severidade da podridão radicular causada pelo isolado Ps. 2.4 em todas cultivares de soja, uma vez que todos os tratamentos apresentaram grau de infecção baixo, semelhante a testemunha (água). Este resultado provavelmente se deve ao fato de todas as cultivares apresentarem alta resistência parcial a este isolado, conforme classificação descrita no item 3.3.1 deste trabalho.

Em relação ao efeito dos tratamentos sobre a severidade do isolado Ps. 34.1 verificamos que apresentam variação quanto a sua eficiência para as cultivares Conrad e NS 5445 IPRO e não influenciaram no grau de infecção para a cultivar 55I57 RSF IPRO. Para a cultivar Conrad foram os tratamentos com os fungicidas químicos Apron RFC® (nota 1,60) e Maxim Advanced® (nota 2,40) que demonstraram maior controle (Tabela 13), proporcionando as menores notas de agressividade em relação a testemunha (nota 4,0), enquanto os tratamentos biológicos proporcionaram os maiores índices de infecção com nota 8, que significa 90% a 100% de plântulas mortas segundo a escala proposta por Dorrance et al., (2003).

Entretanto, para a cultivar NS 5445 IPRO observa-se que além dos fungicidas, os produtos biológicos Quality® e Organic® também proporcionaram menor ocorrência da doença e os produtos Triatum® e Stimucontrol® se igualaram a testemunha (Água), portanto, estes últimos demonstram-se pouco eficientes (Tabela 13).

Tabela 13 Grau de infecção de isolados Ps. 2.4 e Ps. 34.1 de *Phytophthora sojae* em cultivares de soja submetidas a tratamentos de sementes com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	Ps 2.4			Ps 34.1		
	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO
QUALITY®	1 Aa	1,4 Aa	1,4 Aa	8 Aa	5,4 Bb	1,4 Ca
ORGANIC®	1 Aa	1,6 Aa	1,4 Aa	8 Aa	4,4 Bb	1,2 Ca
TRIANUM®	1 Aa	1,8 Aa	1,8 Aa	8 Aa	6,4 Aa	2,2 Ba
STIMUCONTROL®	1 Aa	1,2 Aa	2,2 Aa	8 Aa	6,8 Aa	2,2 Ba
APRON RFC®	1,8 Aa	1,2 Aa	1,2 Aa	1,6 Ac	1,6 Ac	2,2 Aa
MAXIM ADVANCED®	1,4 Aa	1,6 Aa	1,6 Aa	2,4 Ac	1,6 Ac	1,4 Aa
TESTEMUNHA	1 Aa	1,2 Aa	1,6 Aa	4 Bb	8 Aa	1,4 Ca
CV (%)	17,7			17,3		

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

De acordo com estes resultados (Tabela 13) fica evidenciado que o tratamento de sementes com fungicidas, principalmente quando se trata de uma cultivar suscetível ao isolado de *P. sojae*, como a cultivar Conrad (item 3.3.1), há controle do patógeno, aumentando as chances de sucesso também de uma cultivar resistente,

Através da (Tabela 13) também verificamos que os tratamentos biológicos apresentam eficácia diferente para cada cultivar analisada, onde os bioprodutos Quality® e Organic® demonstram maior eficiência para NS5445 IPRO em relação a Conrad e 55I57RSF IPRO, diminuindo o grau de infecção em relação a testemunha.

A viabilidade dos tratamentos de sementes como forma de controle da podridão radicular de fitofora, expressa pela variável número de plantas mortas variou em função do isolado de *P. sojae* (Tabela 14). Para o isolado Ps. 2.4 não houve diferença significativa entre sementes tratadas e não tratadas das cultivares Conrad, NS5445 IPRO e 55I57RSF IPRO, exceto no caso do tratamento com o bioproduto Stimucontrol® que teve efeito negativo, proporcionando maior número de plantas mortas, na cultivar 55I57RSF IPRO em relação a testemunha. Estes resultados estão relacionados com o fato de ser um isolado com baixa agressividade e todas cultivares de soja apresentaram alta resistência parcial.

Tabela 14 Porcentagem de plantas mortas a partir de sementes tratadas com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, para controle de *P. sojae* isolado Ps. 2.4 e Ps. 34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	Ps 2.4			Ps 34.1		
	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO	CONRAD	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO
QUALITY®	4 Aa	0 Aa	0 Ab	45 Aa	40 Ab	4 Ba
ORGANIC®	0 Aa	0 Aa	0 Ab	50 Aa	28 Bb	4 Ba
TRIANUM®	0 Aa	0 Aa	0 Ab	55 Aa	56 Aa	0 Ba
STIMUCONTROL®	0 Ba	0 Ba	8 Aa	65 Aa	56 Aa	0 Ba
APRON RFC®	4 Aa	0 Aa	0 Ab	0 Ac	0 Ac	0 Aa
MAXIM ADVANCED®	0 Aa	0 Aa	0 Ab	15 Ab	0 Bc	0 Ba
TESTEMUNHA	0 Aa	0 Aa	0 Ab	20 Bb	64 Aa	0 Ca
CV (%)	83,26			48,3		

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Com relação ao isolado Ps. 34.1 foi observada variação dos efeitos dos tratamentos de sementes, somente para as cultivares Conrad e NS5445 IPRO. Para cultivar Conrad que é suscetível a este isolado, apenas o tratamento com fungicida Apron RFC® proporcionou ausência de plantas mortas. Já as sementes tratadas com o fungicida Maxim Advanced® e os biológicos ocasionaram igual (15 plantas) ou maior número de plantas mortas (média de 54 plantas) que a testemunha (20 plantas), respectivamente (Tabela 14).

Para a cultivar NS5445 IPRO (Tabela 14) os tratamentos com Apron RFC® e Maxim Advanced® proporcionaram ausência de sementes mortas e os biológicos Quality® e Organic® (R) reduziram o número de sementes mortas, diferindo estatisticamente da testemunha. Já as sementes desta cultivar tratadas com os bioprodutos Trianium® e Stimucontrol® não diferiram das não tratadas (Água).

A maioria dos tratamentos utilizados, com exceção do Apron RFC®, diferem quanto a sua eficácia entre as cultivares (Tabela 14) onde o tratamento com os produtos Quality®, Trianium® e Stimucontrol® mostraram menor eficiência para as sementes das cultivares Conrad e NS5445 IPRO do que para a cultivar 55I57 RSF IPRO. Contudo, os tratamentos com Organic® e Maxim Advanced® demonstraram os melhores resultados para as cultivares NS5445 IPRO e 55I57RSF IPRO em relação a Conrad, ocasionando menor número de sementes mortas.

Os resultados apresentados na Tabela 15, evidenciam a porcentagem de plantas emergidas a partir de sementes tratadas com fungicidas e produtos biológicos com forma de

controle da podridão radicular de fitofthora causada por dois isolados (Ps. 2.4 e Ps. 34.1). Independente das cultivares de soja, o efeito positivo do tratamento de sementes expresso pela emergência de plantas, ficou pouco evidenciado, pois a maioria dos tratamentos não diferiram da testemunha (água) a qual apresentou 100% de emergência, fato este que se deve a alta resistência parcial de todas as cultivares ao isolado Ps. 2.4, como verificado no item 3.3.1. Entretanto, alguns tratamentos demonstraram efeitos negativos, reduzindo o número de plantas emergidas como podemos verificar para cultivar Conrad, quando tratada com o Stimucontrol® e Apron RFC® e para a cultivar 55I57RSF IPRO quando tratada com Organic®, Stimucontrol® e Maxim Advanced®.

Os tratamentos de sementes não influenciaram na porcentagem de plantas emergidas para a cultivar NS 5445 IPRO (Tabela 15). Considerando-se o controle do isolado Ps. 34.1, não houve diferença significativa entre sementes tratadas e não tratadas das cultivares NS 5445 IPROe 55I57RSF IPRO. Para a cultivar Conrad, que demonstrou suscetibilidade a este isolado, os tratamentos com Trianium®, Stimucontrol® e os fungicidas não diferiram da testemunha, exceto no caso do tratamento com os bioprodutos Quality® (55%) e Organic® (60%) que interferiram negativamente, proporcionando menor número de plantas emergidas em relação a testemunha e as demais cultivares (Tabela 15). De maneira geral, este isolado promoveu menor porcentagem de plantas emergidas a partir de sementes tratadas com os produtos biológicos, quando comparado ao isolado Ps. 2.4, demonstrando maior agressividade.

Tabela 15 Porcentagem de plantas emergidas a partir de sementes tratadas com os produtos fungicidas e bioprotetores e a testemunha, para controle de *P. sojae* isolado Ps.2.4 e Ps.34.1. Frederico Westphalen – RS, 2020.

TRATAMENTOS	Ps 2.4			CONRAD	Ps 34.1		
	CONRA D	NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO		NS 5445 IPRO	55I57 RSF IRPO	
QUALITY®	100 Aa	100 Aa	96 Aa	55 Bb	88 Aa	100 Aa	
ORGANIC®	95 Aa	96 Aa	80 Ab	60 Bb	84 Aa	92 Aa	
TRIANUM®	95 Aa	100 Aa	96 Aa	70 Aa	76 Aa	88 Aa	
STIMUCONTROL®	45 Bb	92 Aa	76 Ab	80 Aa	60 Aa	84 Aa	
APRON RFC ®	60 Bb	96 Aa	100 Aa	100 Aa	96 Aa	88 Aa	
MAXIM ADVANCED ®	90 Aa	84 Aa	80 Ab	95 Aa	96 Aa	88 Aa	
TESTEMUNHA	100 Aa	100 Aa	100 Aa	85 Aa	92 Aa	96 Aa	
CV (%)	18,43			19,76			

*Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas entre cultivares e minúsculas entre tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O uso de cultivares de soja com resistência genética é o principal método de controle da doença. Esta resistência pode ser completa (genes maiores) ou parcial (conhecida como tolerância ou resistência de campo), que limita o dano à raiz (SCHMITTHENNER et al., 1994; DORRANCE et al., 2003; COSTAMILAN et al., 2013; SCHMITTHENNER; DORRANCE, 2015).

Entretanto, como *P. sojae* é um patógeno de solo, com estruturas de resistência (oósporos), com alta variabilidade genética e pouca disponibilidade de cultivares resistentes (COSTAMILAN et al., 2013), torna seu controle mais complexo, exigindo outras estratégias de controle associadas, como o controle químico, com o uso de fungicidas que podem ser adicionados ao sulco de plantio ou no tratamento de sementes.

Assim, o tratamento de semente pode ser uma das estratégias que visam proteger a semente e a plântula do processo de infecção por *P. sojae*. Segundo Radmer et al., (2017), atualmente, os métodos de controle da podridão radicular de *Phytophthora sojae* são principalmente por meio do tratamento de sementes com os fungicidas formulados com e metalaxil, dois compostos muito semelhantes, que tem demonstrado ser eficaz no controle da deterioração e podridão radicular causada por *P. sojae* (DORRANCE et al., 2007). Estes compostos são conhecidamente eficazes contra oomicetos (OLIVER ; HEWITT, 2014).

Especificamente para o controle de *P. sojae* não existem produtos registrados para uso no tratamento de sementes de soja, segundo as indicações técnicas da cultura, demonstrando a importância da realização deste ensaio para avaliar a eficiência de fungicidas e agentes de biocontrole usados em tratamento de sementes de soja visando proteção de sementes e plântulas contra *P. sojae*.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho sobre a eficiência do tratamento de sementes ficou evidenciado que os produtos químicos foram mais eficientes do que os biológicos, principalmente quando o isolado apresenta maior agressividade (Ps. 34.1) e a semente é de cultivar com baixa resistência parcial.

O fungicida que se destacou foi o Apron RFC®, composto pelos princípios ativos Fludioxonil (25 g/L i.a) + Metalaxil-M (37 g/L i.a); proporcionando redução da severidade da doença para a maioria das cultivares de soja estudadas, com menor número de plantas mortas e maior emergência. Estes resultados vem ao encontro de vários trabalhos citados na literatura que relatam como princípios ativos eficazes o metalaxil e mfenoxam, da classe fenilamidas (SCHMITTHENNER, 1999; DORRANCE et al., 2007), que atuam, em média, por duas a três semanas, e tem dois modos de ação: fungistática (inibindo a síntese de rRNA de *P. sojae*) e sistêmica (induzindo a formação da fitoalexina gliceolina). No entanto, segundo Costamilan et

al., (2007) altas doses de metalaxil controlam a doença em cultivares com pouca resistência parcial, mas não em condições severas de doença. O tratamento pode ser realizado via semente ou diretamente na linha de semeadura, no solo.

Martins et al. (2016) ao avaliarem a viabilidade do tratamento de sementes para o controle de *P. sojae* observaram em relação ao peso da massa seca de raízes, que nenhum tratamento foi similar à testemunha sadia, tendo apenas os tratamentos T5 (piraclostrobina+tiofanato metílico+fipronil), T7 (fludioxonil+mefenoxan) e T8 (metalaxyl+fludioxonil+tiabendazole) com desempenho superior à testemunha doente. Bevilaqua (2017) em estudo semelhante relatou que o uso de fungicidas contendo mefenoxam+fludioxonil na dose de 7,5+5,0 g de ingrediente ativo por 100 kg de sementes, respectivamente, são os mais indicados para o manejo de *P. sojae* via tratamento de sementes.

De acordo com Tavares et al., (2014), tratamento de sementes com fungicidas fludioxinil + metalaxil-M apresentaram resultados positivos para as cultivares de soja CD 233 RR e BMX POTENCIA RR, condicionando maior massa seca de parte aérea quando comparado com outros fungicidas, como carbendazim + tiram e difeconazol. Além disso, tratamento de sementes com Fludioxinil + metalaxil-M proporcionaram incremento da massa seca de caule e número de sementes por vagem de soja (CUNHA et al., 2015). Outro estudo mostrou que o tratamento de sementes com fludioxonil + metalaxil-M também condicionou maior comprimento de plântulas de soja (COSTA et al., 2018).

Costamilam et al. (2009) relatam que para a cultivar de soja BRS Taura RR, que apresenta resistência parcial à *P. sojae*, o produto comercial Apron RFC® aplicado em plantas inoculadas proporcionou maior biomassa seca de raízes, com resultados semelhantes aos tratamentos sem inoculação. Apron RFC foi mais efetivo que Maxim XL para uso em sementes de soja visando controle inicial de podridão radicular de fitóftora. Este resultado é explicado devido ao fato da concentração do ingrediente ativo metalaxil-M do Apron RFC® ser 3,5 vezes maior do que a do Maxim XL. Salienta-se ainda que o produto comercial Maxim Advanced® utilizado no presente trabalho é uma melhoria do Maxim XL, pois contém além de metalaxil-M e fludioxonil, o ingrediente ativo tiabendazol. Embora o ingrediente ativo Tiabendazol (grupo químico dos Benzimidazois) não seja eficiente no controle de oomicetos, auxilia no controle de outros fungos de solo.

Fungicidas como fludioxonil + metalaxil-M são importantes para a aplicação em sementes de soja, pois combatem o tombamento, a antracnose, mancha púrpura e queima das hastes. O ingrediente ativo fludioxonil é um fungicida de contato de amplo espectro com atividade residual, no entanto, tem limitada absorção pela semente e uma pequena translocação

dentro da plântula. Já o metalaxil-M penetra no tegumento da semente e é sistemicamente translocado a todas as partes da planta durante a germinação (SYNGENTA, 2017).

De acordo com Dorrance (2018) além de fungicidas à base de metalaxil, atualmente, existem duas novas moléculas químicas de tratamento de sementes, ethaboxam e oxathiapiprolin, com eficácia em relação a *P. sojae*.

Além do controle químico das sementes, o uso de sementes tratadas com agentes de biocontrole é uma das recomendações para controle de patógenos de solo, além de contribuir para uma maior densidade de plantas na lavoura. Entre os agentes biocontroladores mais utilizados, estão as espécies de *Trichoderma como* potenciais antagonistas de diversos fungos fitopatogênicos, relatado na literatura ocasionando modificações na rizosfera, impedindo a colonização de plantas por patógenos através da liberação de antibióticos e metabolitos tóxicos (ISHIZUKA, 2016; MERTZ et al., 2009; DALACOSTA, 2019; HARMAN et al., 2004), mas são poucos os trabalhos encontrados relatando resultados com o uso de *Trichoderma spp.* no controle de *Phytophthora sojae* que causa podridão de raiz e caule em soja.

Para verificação do efeito de produtos bioprotetores compostos por espécies de *Trichoderma* no controle de *P. sojae*, via tratamento de sementes de soja, neste estudo, o uso dos biocontroladores apresentaram resultados semelhantes a testemunha (inoculada sem tratamento), para maioria das variáveis analisadas. Estes resultados contradizem Bettiol; Morandi (2009), os quais relatam que produtos à base de *Trichoderma* são eficientes na redução da incidência de tombamento de plantas, diminuindo também a severidade de doenças ocasionadas por patógenos habitantes no solo, como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* e *Sclerotinia*

Entretanto, alguns produtos biológicos usados no trabalho, tais como Quality® e Organic® (R), ambos compostos por *Trichoderma aesperellum*, para a cultivar NS5445 IPRO demonstraram resultados positivos reduzindo o grau de infecção e número de plantas mortas. Resultados similares quanto ao tratamento de sementes como bioproduto Quality® (*Trichoderma aesperellum*) para o controle de *P. sojae* foram relatados por Martins et al., (2016) os quais observaram para as plantas de soja desempenho superior a testemunha doente em relação ao peso da massa seca de raízes, embora nenhum tratamento foi similar à testemunha sadia. Bevilaqua et al. (2017) verificaram que o tratamento de sementes com o mesmo produto visando o controle de *P. sojae* resultou em maior comprimento de parte aérea do que a testemunha sadia e quanto ao comprimento do sistema radicular os fungicidas demonstraram melhores resultados.

Outras espécies de *Trichoderma* também foram relatadas como eficientes no controle de *P. sojae*. Ayoubi et al. (2012) relataram que *T. brevicompactum* é a segunda espécie mais comum após *T. harzianum* no Irã, e foi a espécie de maior sucesso aplicada individualmente e em combinação com *B. japonicum*, como agente de biocontrole para *P. sojae* e também foi capaz de promover o crescimento das plantas.

Guareschi et al. (2012) verificaram incremento de 23,70 e 44,90% da massa seca de raízes de soja aos 45 e 60 dias após emergência, quando aplicado *Trichoderma* spp. Além disso, aplicações de *Trichoderma* spp. promoveram crescimento de parte aérea e do sistema radicular de plântulas de girassol e soja.

Cadore et al. (2014) verificaram incremento no crescimento de raízes de soja quando tratadas com um produto comercial a base de *Trichoderma* spp. Segundo Altomare et al. (1999), as espécies de *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole que apresentam, também, atividade de promoção de crescimento. Neste sentido, Mwangi et al. (2011) destacam que *T. harzianum* pode ser usado como promotor do crescimento, como já verificado para plântulas de tomate.

Desde muitos anos o uso de *Trichoderma* vem sendo estudado. Burr et al. (1978) embora ainda sem conhecer como ocorria o fenômeno, observava que plantas de tomate tratadas com *Trichoderma harzianum* cepa T22 apresentavam maior sistema radicular, bem como plantas mais desenvolvidas. Em um compilado de informações sobre o *Trichoderma harzianum* isolado T22, Harman (2000) cita, dentre outras diversos potenciais, seu efeito promotor de crescimento de plantas de soja (*Glycine max* L.) e milho (*Zea mays* L.), além de aumentar o rendimento de pimenta (*Capsicum annuum* L.), em comparação às plantas não tratadas com este fungo.

Seis linhagens de *Trichoderma* utilizadas no tratamento de sementes de trigo promoveram supressão da severidade da podridão radicular causada por *Fusarium graminearum*, além de aumentar o rendimento da cultura (XUE et al., 2017).

Ensaio de infecção em plantas de milho sob condições controladas de estufa mostraram que uma cepa comercial de *Trichoderma harzianum* aplicada às sementes é capaz de reduzir tanto a incidência (3,1 e 30,7%) de *F. verticillioides* e *F. graminearum*, respectivamente, e severidade (32,6% e 43,4%, respectivamente) (FERRIGO et al., 2020). A partir de análises de expressão gênica, os autores verificaram que genes codificadores de vias da resistência sistêmica adquirida (SAR) e da induzida (ISR), demonstrando a ocorrência da indução de resistência, além de outros mecanismos de controle de doenças (FERRIGO et al., 2020). Os mesmos autores citam que *Trichoderma harzianum* coloniza a rizosfera das plantas e apresenta um bom desenvolvimento. A cepa T22 de *Trichoderma harzianum* induz a resistência

relacionada ao ácido abscísico (ABA) em plantas de tomate contra o vírus do mosaico do pepino (VITTI et al., 2016).

Trichoderma possui muitos mecanismos úteis na promoção de uma agricultura mais sustentável. Os mecanismos compreendem parasitismo, produzindo metabólitos secundários, antibiose e enzimas, induzindo a defesa e resistência da planta, melhorando o crescimento da planta. O uso deste biocontrole é difundido para controle de patógenos de solo, sementes, raízes, caule, folhas, frutos, pós-colheita, insetos e ervas daninhas. Portanto, são explorados, tanto quanto possível, entomopatógenos, nematófagos, herbicidas e biofertilizantes. Finalmente, *Trichoderma* é útil para proteger e controlar doenças de plantas e salvar uma chance para o ecossistema de reduzir qualquer resíduo de pesticidas e fertilizantes químicos sintéticos (AL-ANI ; MOHAMMED, 2020).

A partir do exposto e de nossos resultados, pode-se inferir que os tratamentos biológicos podem contribuir com o desenvolvimento da planta não só nos estádios iniciais do desenvolvimento da soja. Embora nosso estudo tenha sido breve e com objetivos mais de curto prazo (identificar cultivares resistentes à podridão radicular, interferência do TS na qualidade fisiológica de sementes e no controle de doença), seria interessante testar estes produtos como tratamento de sementes e acompanhar o desenvolvimento da cultura para obter resultados mais concretos.

O insucesso do controle biológico nestes experimentos pode estar relacionado a variabilidade das espécies de *Trichoderma*, doses, época de aplicação, onde o tempo de colonização não foi suficiente para que os agentes de controle biológico conseguissem inativar a infecção por *P. sojae*. Segundo (HOWELL, 2003), o tipo de aplicação (tratamento de substrato ou das sementes) pode afetar a eficácia do agente de biocontrole, onde a aplicação de *Trichoderma* por meio da inoculação de sementes ou tratamento de substrato depende de fatores como temperatura, umidade, nutrientes, tipo de solo, microbiota, aeração, pH e teor de matéria orgânica, os quais influenciam na sobrevivência de *Trichoderma* no solo ou substrato.

3.4 CONCLUSÃO

(i) As cultivares de soja 55I57RSF IPRO, NS 5445 IPRO, 53I54 IPRO, 58I60RSF IPRO, 57HO121 RR apresentam alta resistência parcial à podridão radicular dos isolados Ps.2.4 e Ps.34.1 *P. sojae*. A cultivar Conrad apresentou-se suscetível ao isolado Ps.34.1 *P. sojae*.

(ii) Tratamentos de sementes com Apron RFC e Maxim Advanced asseguram o vigor e germinação de sementes de soja. Os produtos biológicos, exceto Trianum®, não influenciam a qualidade fisiológica nas cultivares de soja testadas.

(iii) O tratamento químico de sementes é uma estratégia viável na proteção de sementes e plântulas de soja ao processo de infecção de *P. sojae*, com destaque para o uso do fungicida Apron RFC®.

(iv) Os tratamentos de sementes com os produtos biológicos Quality® e Organic® (R) são promissores no controle da podridão radicular em soja por *P. sojae*.

(v) O estudo deve ser replicado e também há necessidade de testar novos ingredientes ativos, diferentes antagonistas e realizar estudos de associação de produtos químicos e biológicos.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT – CONSULTA ABERTA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO -Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS – DISPONÍVEL EM: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Consultado em 18/05/2020

AL-ANI, L.K.T.; MOHAMMED, A.M. Versatilidade de *Trichoderma* no manejo de doenças de plantas. IN: Aspectos moleculares de micróbios benéficos para plantas na agricultura (pp. 159-168). Academic Press, 2020.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W.A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G.E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant- growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.7, p. 2926-2933, 1999.

ANDERSON, T.R.; BUZZELL, R.I. Diversity and frequency of races of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea* in soybean field in Essex county, Ontario, **Plant Disease**, v. 76, n. 6, p. 1980-1989, 1992.

AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control os *Phytophthora sojae* and soybean growth. **Journal of Crop Protection**, v.1, n.1, p.67-79, 2012.

BAKER, R. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. **Trends of biotechnology**, v.7, p.34-38, 1989.

BAIL, J. L. **Relações entre o tratamento de sementes de soja, os parâmetros fisiológico e sanitário e a conservação das sementes**. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA, Ponta Grossa, 2013.

BARROS, R. G.; BARRIGOSI, J. A. F.; COSTA, J. L. S. Efeito do armazenamento na compatibilidade de fungicidas e inseticidas, associados ou não a um polímero no tratamento de sementes de feijão. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 459-465, 2005.

BEGUM, MF, RAHMAN, M.A.; ALAM, M.F. Biological control of *Alternaria* fruit rot of chili by *Trichoderma* species under field conditions. **Mycobiology**, v. 38, n. 2, p. 113-117, 2010.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. *Trichoderma* in Brazil: history, research, commercialization and perspectives. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (*ALICE*). In: Meeting of the working group on biological control of fungal and bacterial plant pathogens, 10., 2008, **Interlaken**, Switzerland. IOBC WPRS Bulletin, v. 43, p. 235-237, 2009.

BEVILAQUA, D.; FIORENTIN, O. A.; KUHNEM JÚNIOR, P. R., MARTINS, P.C., CASA, R.T. Tratamento de sementes de soja e proteção contra *Phytophthora sojae*. 27º Seminário de Iniciação Científica (SIC) UDESC. 2017.

BORDON, C. D. M. Análise molecular, características morfológicas e reações de cultivares de soja à *Phytophthora sojae* (Master's thesis, Universidade Estadual de Maringá). 2013.

BRANTNER, J.R.; WINDELS, C.E. Variabilidade na sensibilidade ao metalaxil *in vitro*, patogenicidade e controle de *Pythium* spp. na beterraba sacarina. **Plant Disease**, v. 82, n. 8, p. 896-899, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários — AGROFIT. Brasília, 2018. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 02/07/2019.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Secretaria de defesa agropecuária. Brasília, 2009. DF: mapa/acs,. 395p.

BURR, T. J.; SCHROTH, M. N.; SUSLOW, T. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. **Phytopathology**, v. 68, p. 1377-1383, 1978.

CADORE, L.; MACHADO, J. P., DE OLIVEIRA JUNIOR, W. C.; BANDEIRA, C. T.; ETHUR, L. Z. Crescimento inicial em soja tratada com diferentes doses de *Trichoderma* spp. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 6, n. 2, 2014.

CARVALHO, D. D C.; OLIVEIRA D.F.; CAMPOS, V. P.; PASQUAL, M.; GUIMARÃES, R.M.; CORRÊA, R.S.B. Avaliação da capacidade de produzir fitotoxinas *in vitro* por parte de fungos com propriedades antagônicas a nematóides. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1230-1235, 2006.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JUNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 36-42, 2011.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, **Jornal de Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CASSIOLATO, A. M. R.; BAKER, R.; MELO, I. S. Promoção de crescimento de plantas de alface por *Trichoderma harzianum*. **Revista de Agricultura**, v. 71, n. 1, p. 55-65, 1998.

CHANG, B.Y., JUNG, Y.S., YOON, C.S., OH, J.S., HONG, J.H., KIM, Y.C., KIM, S.Y., Fraxin prevents chemically induced hepatotoxicity by reducing oxidative stress. **Molecules** **22** (4), E587. 2017.

COHEN, Y.; COFFEY, M. D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. **Annual review of phytopathology**, v.24, n. 1, p. 311-338, 1986.

COSTA, E. M.; VENTURA, M. V. A.; ARANTES, B. H. T.; DE MORAES NUNES, B.; CHAGAS, J. F. Efeito Fisiológico De Inseticidas E Fungicida Sobre A Germinação E Vigor De Sementes De Soja. **Anais da Semana Agrônômica da Faculdade Evangélica de Goianésia**, v. 8, 2018.

COSTA, M. R.; KAWSKI, N. L.; GIL, F. K. U.; GOULART, A. C. P.; MERCANTE, F. M. Aplicação de fungicidas em sementes de soja e seus efeitos na nodulação e fixação biológica de nitrogênio. **Embrapa Agropecuária Oeste-Documentos (INFOTECA-E)**, 2009.

COSTAMILAN, L. M. A podridão de raiz e de haste de soja. In: LUZ, E. D. M. N. et al. (Org.). Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. **Seropédica: Rural**, 2001, p. 678-730.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; CLEBSCH, C. C. Resistência completa e parcial em linhagens de soja à *Phytophthora sojae*. In *Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 41., Passo Fundo, 2016. Atas e Resumos. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2016.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. H.; MORAES, R. M. A. **Podridão Radicular de Fitóftora em soja**. Embrapa Trigo: Documentos Online, Passo Fundo, 2007. 23 p. Disponível em: < http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do79.htm >. Acesso em 10 de maio 2020.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; MORAES, R. M. A. de. **Podridão radicular de fitóftora em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 23 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 79). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do79.htm

COSTAMILAN, L. M.; BONATO, E. R. Identificação de raça de *Phytophthora sojae* e avaliação da resistência de cultivares de soja à podridão da raiz e da haste. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 1996. Campo Grande. Anais... Brasília: Fitopatologia Brasileira, 1996, p. 353.

COSTAMILAN, L.; BERTAGNOLLI, P.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SBALCHEIRO, C. Avaliação de resistência à podridão-radicular de *Phytophthora* em linhagens de soja da Embrapa Trigo, em 2017. **Embrapa Trigo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2018.

COSTAMILAN, L., BERTAGNOLLI, P., CLEBSCH, C., SOARES, R., SEIXAS, C., & GODOY, C. (2015). Tipos de resistência à *Phytophthora sojae* em linhagens de soja da Embrapa Trigo. In: *Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 7.; MERCOSOJA, 2015, Florianópolis. Tecnologia e mercado global: perspectivas para soja: anais. Londrina: Embrapa Soja, 2015.

COSTAMILAN, L.M., CLEBSCH, C.C., SOARES, R.M., SEIXAS, C.D.S., GODOY, C.V., DORRANCE, A.E. Pathogenic diversity of *Phytophthora sojae* pathotypes from Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v.135, p. 845-853, 2013.

COSTAMILAN, L.M.; CLEBSCH, C.C.; VERSARI, A. C. Efeito de doses de metalaxil e de mefenoxam para controle inicial de podridão radicular de fitóftora em soja. Apresentado em XXXVII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul. 2009.

COSTAMILAN, L.; BERTAGNOLLI, P.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SBALCHEIRO, C. Avaliação de resistência à podridão-radicular de *Phytophthora* em linhagens de soja da Embrapa Trigo, em 2017. **Embrapa Trigo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2018.

CUI, L.; YIN, W.; TANG, Q.; DONG, S.; ZHENG, X.; ZHANG, Z.; WANG, Y. Distribution, pathogenicity, pathotypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora sojae* from Heilongjiang and Fujian provinces in China. **Plant Disease**, v. 94, p. 881-884, 2010.

CUNHA, R. P. D.; CORRÊA, M. F.; SCHUCH, L. O. B.; OLIVEIRA, R. C. D.; ABREU JUNIOR, J. D. S.; SILVA, J. D. G. D.; ALMEIDA, T. L. D. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1761-1767, 2015.

DALACOSTA, Nean Locatelli. **Compatibilidade de agentes de *Trichoderma harzianum* ao controle químico no tratamento de sementes de soja**. 56 f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

DAN, L.G.M. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do Armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p.131-139, 2010.

DORRANCE, A. E.; BERRY, S. A.; ANDERSON, T. R.; MEHARG, C. Isolation, storage, pathotype characterization, and evaluation of resistance for *Phytophthora sojae* in soybean. **Plant Health Progress**, v. 9, n. 1, 2008.

DORRANCE, A. E.; MCCLURE, S. A. Beneficial effects of fungicide seed treatments for soybean cultivars with partial resistance to *Phytophthora sojae*. **Plant Disease**, v. 85, p.1063-1068, 2001.

DORRANCE, A. E.; MCCLURE, S. A.; ST. MARTIN, S. K. Effect of partial resistance on *Phytophthora* stem rot incidence and yield of soybean in Ohio. **Plant Disease**, v. 87, n. 3, p. 308-312, 2003.

DORRANCE, A. E.; MILLS, D. *Phytophthora* Damping Off and Root Rot of Soybean. FACT SHEET: **Agriculture and Natural Resources**, Ohio, 2009. 4p.

DORRANCE, A. E.; MILLS, D.; ROBERTSON, A. E.; DRAPER, M. A.; GIESLER, L.; TENUTA, A. *Phytophthora* root and stem rot of soybean. **The Plant Health Instructor**, v. 1, 2007.

DORRANCE, A. E. Management of *Phytophthora sojae* of soybean: a review and future perspectives. *Canadian Journal of Plant Pathology*. v.40, n2, p. 210-219, 2018.

ERWIN, D. C.; BARTNICKI-GARCIA, S.; TSAO, P. H.; *Phytophthora*: its biology, taxonomy, ecology, and pathology. Saint Paul: **The American Phytopathological Society**, 1983.

FARIAS, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. C. D. F.; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 121-127, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERRIGO, D.; MONDIN, M.; EDITH, L.; FABIO, F.; CAUSIN, R.; RAIOLA, A. Effect of seed bioprimer with *Trichoderma harzianum* strain INAT11 on Fusarium ear rot and Gibberella ear rot diseases. **Biological Control**, 104286, 2020.

GASSEN, D. Tratamento de sementes: importante estratégia de proteção nas fases de germinação e de plântula. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, n.93, 1996.

GOULART, A. C. P.; FIALHO, W. F. B.; FUJINO, M. T. Viabilidade técnica do tratamento de sementes de soja com fungicidas antes do armazenamento. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1999. 41p. (Boletim de Pesquisa)

GUARESCHI, R. F.; PERIN, A.; MACAGNAN, D.; TRAMONTINI, A.; GAZOLLA, P. R. Emprego de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e na promoção de crescimento vegetativo nas culturas de girassol e soja. **Global Science and Technology**, v. 5, n. 2, 2012.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E., HOWELL, C. R., VITERBO, A., CHET, I., LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plants symbionts. **Nature Review Microbiology**. 2:43-56. 2004.

HENNING, A. A. et al. Avaliação de fungicidas e suas misturas no tratamento de sementes de soja. Resultados da pesquisa agropecuária. EMBRAPA CNPSO. Londrina, 2000.

HOBE, M. A. Pathogenic variability of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea* isolated from northwest Ohio soils. 1981. 32f. Dissertação (Mestrado). Ohio State University, Columbus, 1981.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v.87, n.1, p.4-10, 2003.

ISHIZUKA, M. S., 2016 Compatibilidade entre tratamentos químico e biológico de sementes de feijão para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

JAVAID, A.; ALI, S. Alternative management of a problematic weed of wheat *Avena fatua* by metabolites of *Trichoderma*. **Chilean Journal Of Agricultural Research**, v.2, n.71, 2011.

KROHN, Nádia Graciele and MALAVASI, Marlene de Matos. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com fungicidas durante e após o armazenamento. **Rev. bras. Sementes** [online]. 2004, vol.26, n.2, pp.91-97. ISSN 0101-3122. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222004000200013>.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. D.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MARRONI, I. V.; MOURA, A. B.; UENO, B. Chemical and biological treatments of castor bean seeds: effects on germination, emergence and associated microorganisms. **Revista Brasileira de Sementes, Londrina**, v.34, n.1, 2012.

MARTIN-CORDER, M.P.P.; MELO, I.S. de. Influência de *Trichoderma viride* e *T. koningii* na emergência de plântulas e no vigor de mudas de berinjela. **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, n.1, p.39-45, 1997.

MARTINS, F. C., FIORENTIN, O. Q., KUHNEM JÚNIOR, P. R., BEVILAQUA, D., CASA, R. T. Tratamento de sementes de soja e proteção contra *Phytophthora sojae*. 26º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – UDESC. 2016.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, 13-18, 2009.

MWANGI, M. W.; MONDA, E. O.; OKOTH, S. A.; JEFWA, J. M. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma Harzianum* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.42, n.2, p.508-513, 2011.

MYCOBANK Database. Exeter: International Mycological Association, 2018. Disponível em: <http://www.mycobank.org/> . Acesso em: 23 de mar de 2020.

NASCIMENTO, W.M.O.; OLIVEIRA, B.J.; FAGIOLI, M.; SADER, R. Fitotoxicidade do inseticida carbofuran 350 FMC na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.2, p.242-245, 1996.

NELSON, B. D.; MALLIK, I.; MCEWEN, D.; CHRISTIANSON, T. Pathotypes, distribution, and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora sojae* from North Dakota. **Plant Disease**, v. 92, n. 7, p. 1062-1066, 2008.

OLIVER, R.P.; HEWITT, H.G. **Fungicides in Crop Protection**. 2nd ed. CABI, Boston, 190 p. (2014)

PEREIRA, C. E. et al. Tratamento fungicida e peliculização de sementes de soja submetidas ao armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 158-164, 2011.

RADMER, L.; ANDERSON, G.; MALVICK, D. M.; KURLE, J.E.; RENDAHL, A. E.; MALLIK, A. *Pythium*, *Phytophthora* e *Phytophythium* spp. associados à soja em Minnesota, sua relativa agressividade à soja e ao milho e sua sensibilidade aos fungicidas no tratamento de sementes. **Plant Disease**, v. 101, n. 1, p. 62-72, 2017.

REZENDE, ANAKELY ALVES. Eficiência de diferentes produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. no controle da podridão branca da haste da soja. UFU, 2011. 120p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia

ROCHA, G. C., RUBIO NETO, A., CRUZ, S. J. S., CAMPOS, G. W. B., CASTRO, A. C. de O., SIMON, G. A. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas e armazenadas. Physiological Quality® of treated and stored soybean seeds. v. 4 n. 1 (2017): **Científica - Multidisciplinary Journal** - ISSN 2358-260X, 2017.

SCHMITTHENNER, A. F. Problems and progress in control of *Phytophthora* root rot of soybean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, n. 4, p. 362-368, 1985.

SCHMITTHENNER, A. F.; DORRANCE, A. E. **Phytophthora root and stem rot**. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). Compendium of soybean diseases and pests. 5th ed. St. Paul: APS Press, 2015. p. 73-76.

SCHMITTHENNER, A.F. 1999. *Phytophthora* root rot. In G.L. Hartman et al. (ed.) Compendium of soybean diseases, 4th ed. **American Phytopathological Press**, St. Paul, MN.

SCHMITTHENNER, A.F.; HOBE, M.; BHAT, R.G. *Phytophthora sojae* races in Ohio over a 10-year interval. **Plant Disease**, v. 78, p. 269-276, 1994.

SCHONS, A.; SILVA, C. M. D.; PAVAN, B. E.; SILVA, A. V. D.; MIELEZRSKI, F. Respostas do genótipo, tratamento de sementes e condições de armazenamento no potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 111-120, 2018.

SOFO, A.; MILELLA, L.; TATARANNI, G.; Effects of *Trichoderma harzianum* strain T- 22 on the growth of two *Prunus* rootstocks during the rooting phase. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 85, p. 497-502, 2010.

SRIWATI, R.; MELNICK, R. L.; MUARIF, R.; STREM, M. D.; SAMUELS, G. J.; BAILEY, B. A. *Trichoderma* from Aceh Sumatra reduce *Phytophthora* lesions on pods and cacao seedlings. **Biological control**, v. 89, p. 33-41, 2015.

STEWART, S.; ABEYSEKARA, N.; ROBERTSON, A. E. Pathotype and genetic shifts in a population of *Phytophthora sojae* under soybean cultivar rotation. **Plant Disease**, v. 98, p. 614-624, 2014.

SYNGENTA (2017) – *Maxim XL: Fungicida/Tratamento de sementes*. [cit. 2017-06-25]. <https://www.syngenta.com.br/product/crop-protection/fungicidatratamento-de-sementes/maxim-xl>

TAVARES, L. C.; MENDONÇA, A. D.; ZANATTA, Z. C. N.; BRUNES, A. P.; VILLELA, F. A. Efeito de fungicidas e inseticidas via tratamento de sementes sobre o desenvolvimento inicial da soja. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 10, n. 18, p. 1400-1409, 2014.

TIAN, M.; ZHAO, L.; LI, S.; HUANG, J.; SUI, Z.; WEN, J.; LI, Y. Pathotypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora sojae* in Heilongjiang, China 2011-2015. **Journal Gen. Plant Pathology**, v. 82, p. 132-141, 2016.

TYLER, B. M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2007.

VITTI, A.; PELLEGRINI, E.; NALI, C.; LOVELLI, S.; SOFO, A.; VALERIO, M.; SCOPA, A.; NUZZACI, M. *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic resistance in tomato infected by Cucumber mosaic virus. **Front. Plant Sci.** 7, 1520, 2016.

WEILAND, J. E.; SANTAMARIA, L.; GRÜNWARD, N. J. Sensitivity of *Pythium irregulare*, *P. sylvaticum*, and *P. ultimum* from forest nurseries to mefenoxam and fosetyl-Al, and control of *Pythium* damping-off. **Plant disease**, v. 98, n. 7, p. 937-942, 2014.

WORKNEH, F.; TYLKA, G. L.; YANG, X. B.; FAGHIHI, J.; FERRIS, J. M. Regional assessment of soybean brown stem rot, *Phytophthora sojae*, and *Heterodera glycines* using area-frame sampling: prevalence and effects of tillage. **Phytopathology**, v. 89, n. 3, p. 204-211, 1999.

XUE, A. G.; GUO, W.; CHEN, Y.; SIDDIQUI, I.; MARCHAND, G.; LIU, J.; REN, C. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma* spp. on establishment and yield of spring wheat. **Crop protection**, v. 96, p. 97-102, 2017.

ZHANG, S.Z.; XUE, A. G.; ZHANG, J. X.; COBER, E.; ANDERSON, T. R.; POYSA, V.; RAJCAN, I. Reactions of Canadian short-season soybean cultivars to three races of *Phytophthora sojae*. **Canadian Journal Plant Science**, v. 90, 207-210, 2010.