



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA**

MARCOS ROBERTO WERLE

**COMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE *Trichoderma* spp. FRENTE A
DIFERENTES AGROTÓXICOS**

CERRO LARGO

2017

MARCOS ROBERTO WERLE

**COMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE *Trichoderma* spp. FRENTE A DIFERENTES
AGROTÓXICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado
como requisito para obtenção de grau de Bacharel em
Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Joner Daroit

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a Juliane Ludwig

**CERRO LARGO
2017**

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

Werle, Marcos Roberto
COMPATIBILIDADE IN VITRO DE Trichoderma spp. FRENTE A
DIFERENTES AGROTÓXICOS/ Marcos Roberto Werle. -- 2017.
49 f.:il.

Orientador: Daniel Joner Daroit.

Co-orientador: Juliane Ludwig.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia , Cerro Largo, RS, 2017.

1. Controle biológico. 2. Trichoderma spp.. 3.
Agrotóxicos. 4. Compatibilidade. I. Daroit, Daniel
Joner, orient. II. Ludwig, Juliane, co-orient. III.
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

MARCOS ROBERTO WERLE

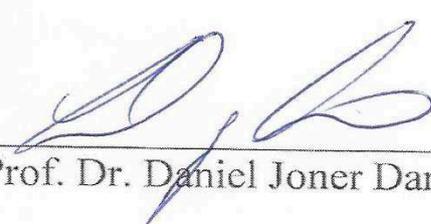
**COMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE *Trichoderma* spp. FRENTE
A DIFERENTES AGROTÓXICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

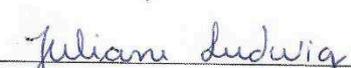
Orientador: Prof. Dr. Daniel Joner Daroit

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 27/11/2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Daniel Joner Daroit



Prof.ª Dr.ª Juliane Ludwig



Eng.ª Agr.ª Bruna Rohrig

Dedico a minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada. Irmã, sua amizade e carinho, que em todos os momentos se fizeram presentes durante esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, e por ter me dado saúde e forças para realizar este sonho.

Aos meus pais, Leopoldo José e Mercedes Maria Werle, meus pilares, aqueles que me sustentaram em todos os momentos, e não deixaram que eu desistisse em meio a essa árdua caminhada, pelos momentos de diálogo, e até pelos sacrifícios que fizeram para que eu chegasse neste momento.

À minha irmã, Ana Carolina, que sempre estava lá para me alegrar em momentos de tristeza, e que pode desfrutar os momentos de alegria junto comigo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Daroit, pela confiança depositada em mim ao aceitar este trabalho de me orientar, e pela ajuda em todos os momentos de dúvida.

À minha co-orientadora, Prof^a. Dr^a. Juliane Ludwig, pela ajuda nos momentos de dificuldade, pela parceria nos trabalhos realizados junto a universidade.

À Universidade e todo seu corpo docente, pelo trabalho estupendo na formação acadêmica durante o curso.

Aos meus amigos, em especial a Eduarda, que está junto comigo desde o ensino médio, aquela que sempre poderei contar nas horas boas e ruins, que nossa amizade seja duradoura, e que tenhamos muitos momentos de alegria juntos.

E a todos que fizeram parte direta ou indiretamente desta caminhada.

“Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz com aquilo que sabe”.
(HUXLEY)

RESUMO

A agricultura vem sofrendo mudanças ao longo do tempo, e isso requer adaptação dos agricultores. Uma dessas mudanças está relacionada a forma que os problemas fitossanitários, insetos e plantas daninhas serão resolvidos. Uma das correntes de pensamento que se originou na revolução agrícola delimita o uso de agrotóxicos para resolução destes problemas, enquanto outra é baseada em uma agricultura mais sustentável, com a utilização de produtos naturais. Embora sejam duas correntes distintas, a utilização de forma simultânea dos dois tratamentos se configura como prática comum entre agricultores. Baseado nisso, estudos são necessários para esclarecer a questão da compatibilidade entre os dois métodos, uma vez que essa possibilidade denotaria um acréscimo no sistema produtivo. Deste modo, o presente trabalho vem para contribuir com os estudos nesta área, em que se utilizou diferentes produtos agrotóxicos e avaliou-se sua interferência nas variáveis de crescimento e esporulação *in vitro* de três isolados de *Trichoderma*, sendo dois provenientes de produtos comerciais (*Trichoderma asperellum* isolado do produto comercial Quality[®]; e *Trichoderma harzianum*, obtido a partir do produto comercial StimuControl[®]), e *Trichoderma harzianum*, isolado do solo do noroeste do Rio Grande do Sul. Os produtos utilizados foram quatro para tratamento de sementes, sendo dois tratamentos fungicidas (fludioxonil + metalaxyl-M e carboxina + tiram), um inseticida (tiametoxan) e um com princípios fungicidas e inseticidas (piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil), além de dois herbicidas de pós emergência (glyphosate e paraquat). Os tratamentos de sementes obtiveram resultados negativos nas variáveis testadas, principalmente os produtos constituídos de princípios fungicidas (fludioxonil + metalaxyl-M; carboxina + tiram e piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil), que reduziram crescimento e esporulação em até 80%, o que resulta em uma classificação de produtos tóxicos aos isolados. O ingrediente tiametoxan apresentou resultados similares aos fungicidas para a variável crescimento micelial, porém para a variável esporulação, obteve as médias mais próximas a testemunha, apresentando inclusive um acréscimo de 5% para o isolado do solo de *T. harzianum*. Já os dois herbicidas (glyphosate e paraquat) foram classificados como compatíveis com o isolado do solo de *T. harzianum*, e moderadamente tóxico às linhagens de *T. asperellum* e *T. harzianum* isoladas a partir de produtos comerciais. Os dois herbicidas apresentaram uma redução do crescimento variando entre 15% e 30%, e reduzindo de 10% a 40% a esporulação das linhagens.

Palavras-chave: Controle biológico, Herbicidas, Fungicidas, Tratamento de sementes.

ABSTRACT

Agriculture has been changing over time, and this requires adapting farmers. One of these changes is related to how the phytosanitary problems, insects and weeds will be solved. One of the currents of thought that originated in the agricultural revolution delimits the use of agrochemicals to solve these problems, while another is based on a more sustainable agriculture, with the use of natural products. Although they are two distinct streams, the simultaneous use of the two treatments is a common practice among farmers. Based on this, studies are needed to clarify the question of compatibility between the two methods, since this possibility would denote an increase in the productive system. Thus, the present work has contributed to the studies in this area in which different pesticides were used and their interference in the growth and in vitro sporulation variables of three *Trichoderma* isolates was evaluated, two of them being from commercial products (*Trichoderma asperellum* isolated from the commercial product Quality®, and *Trichoderma harzianum*, obtained from the commercial product StimuControl®), and *Trichoderma harzianum*, isolated from the soil of northwestern Rio Grande do Sul. The products used were four for seed treatment, two treatments fungicides (fludioxonil + metalaxyl-M and carboxin + thiram), an insecticide (thiamethoxan) and one with fungicidal principles and insecticides (pyraclostrobin + methyl thiophanate + fipronil), plus two emergency emergence herbicides (glyphosate and paraquat). Seed treatments obtained negative results on the variables tested, mainly fungicides (fludioxonil + metalaxyl-M, carboxin + thiram and pyraclostrobin + methyl thiophanate + fipronil), which reduced growth and sporulation by up to 80%. in a classification of products toxic to isolates. The thiamethoxan ingredient presented similar results to the fungicides for the mycelial growth variable, but for the sporulation variable, obtained the means closest to the control, even presenting an increase of 5% for the *T. harzianum* soil isolate. The two herbicides (glyphosate and paraquat) were classified as compatible with the *T. harzianum* soil isolate and were moderately toxic to *T. asperellum* and *T. harzianum* strains isolated from commercial products. The two herbicides presented a reduction in growth ranging from 15% to 30%, reducing sporulation of strains from 10% to 40%.

Keywords: Biological control, Herbicides, Fungicides, Seed treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenvolvimento de raízes em plantas de soja como consequência da utilização de sementes tratadas (direta) ou não tratadas (esquerda) com <i>Trichoderma harzianum</i> T-22.....	25
Figura 2 - Culturas de <i>Trichoderma harzianum</i> linhagem T-22 (KRL-AG2) crescendo em Ágar batata dextrose (BDA). As áreas brancas não contêm esporos, enquanto as áreas verdes são cobertas com densas massas de esporos (conídios).....	26
Figura 3 - Antagonismo de estirpes de <i>Trichoderma asperellum</i> contra <i>Pythium</i> após um teste de confronto direto.....	27
Figura 4 - Preparo de meio BDA em Erlenmeyers.....	30
Figura 5 - Preparação de Placas de Petri contendo os tratamentos.	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Evolução populacional e da produção agrícola mundial entre 1990 e 2014.	15
Tabela 2 - Concentrações dos princípios ativos em p.p.m. nos meios de cultura.	30
Tabela 3 - Valores “T” para a classificação do efeito de agrotóxicos sobre <i>Trichoderma</i> spp.	33
Tabela 4 - Crescimento micelial (mm) dos isolados de <i>Trichoderma</i> em função dos produtos químicos de tratamentos de sementes utilizados.	34
Tabela 5 - Esporulação dos isolados de <i>Trichoderma</i> em função dos produtos químicos de tratamentos de sementes incorporados ao meio.	37
Tabela 6 - Crescimento radial dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em função dos herbicidas de pré-emergência utilizados.....	38
Tabela 7 - Esporulação dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em função dos herbicidas utilizados.	40
Tabela 8 - Classificação da compatibilidade entre agrotóxicos e <i>Trichoderma</i> spp.	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	PANORAMA ATUAL DA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS E MUDANÇAS DA AGRICULTURA	15
2.2	UTILIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS	16
2.2.1	Herbidas	18
2.2.2	Fungidas	19
2.2.3	Insetidas	21
2.3	BIOCONTROLADORES	22
2.3.1	O gênero <i>Trichoderma</i> spp. como biocontrolador	23
2.3.1.1	<i>Trichoderma harzianum</i>	25
2.3.1.2	<i>Trichoderma asperellum</i>	26
2.4	COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E BIOCONTROLADORES.	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	FUNGOS E AGROTÓXICOS INVESTIGADOS.....	29
3.2	PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA CONTENDO AGROTÓXICOS	29
3.3	CULTIVOS DE <i>Trichoderma</i> spp. EM MEIOS CONTENDO AGROTÓXICOS	31
3.4	AVALIAÇÕES DURANTE OS CULTIVOS DE <i>Trichoderma</i> spp.	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	RESPOSTA <i>IN VITRO</i> DOS ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp A TRATAMENTO DE SEMENTES.....	34
4.1.1	Crescimento micelial	34
4.1.2	Esporulação	36
4.2	RESPOSTA <i>IN VITRO</i> DOS ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. A HERBICIDAS	38
4.2.1	Crescimento micelial	38
4.2.2	Esporulação	39

4.3	CLASSIFICAÇÃO DE COMPATIBILIDADE.....	41
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos é um assunto amplamente discutido na área acadêmica e nos órgãos governamentais. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) alerta que o consumo de alimentos vem crescendo exponencialmente, com previsão de valores ainda maiores para os anos subsequentes. Esta crescente demanda altera o processo de produção de alimentos, e esta alteração é uma adaptação intrínseca da civilização humana aos problemas enfrentados para a sucessão da espécie. Desde os primórdios da utilização de alimentos cultivados, o sistema agrário passou por várias transformações com o intuito de atender a estas necessidades (MAZOYER e ROUDART, 2008).

A última grande transformação, que trouxe várias inovações no campo da agricultura, está ligada à Segunda Revolução Agrícola Capitalista, que ocorreu principalmente nos anos de 1980 até final da década de 90 (MAZOYER e ROUDART, 2008). Esta revolução foi caracterizada pela ascensão do uso de produtos químicos industriais, cuja concepção perdurou por mais de 20 anos, mas acabou revelando que o uso abusivo destes insumos também pode ser prejudicial aos agroecossistemas.

Neste sentido, estratégias que contraponham a hegemonia de utilização de produtos químicos vêm ganhando força. Especialmente, há uma área que apresenta significativa relevância no contexto de novas concepções para a produção agrícola: os biocontroladores. A utilização de biocontroladores sugere a aplicação de gêneros fúngicos e bacterianos, que possam substituir os produtos químicos, como herbicidas, fungicidas e inseticidas, no controle de pragas e doenças de plantas. Dentre os biocontroladores, fungos do gênero *Trichoderma* vêm apresentando resultados promissores no controle de doenças fúngicas de várias culturas (MACHADO et al., 2012).

Embora a alternativa do biocontrole ainda seja recente, já há visíveis avanços nesta linha. Este progresso também provoca indagações aos produtores no que diz respeito à utilização simultânea de biocontroladores e produtos químicos. Estudos de compatibilidade são importantes, visto que conciliar tratamentos químico e biológico poderia ser vantajoso visando um sistema produtivo menos dependente de agrotóxicos (MORANDI e BETTIOL, 2009). Algumas pesquisas vêm sendo realizadas com este intuito, como a verificação da compatibilidade de *Trichoderma* com nematicidas (DIAS NETO, 2014), herbicidas (REIS et al., 2013) e também com alguns princípios fungicidas (RIBAS, 2010). Estes autores realizaram testes sobre as variáveis de crescimento e esporulação de isolados, devido a sua importância no contexto da utilização de gêneros fúngicos biocontroladores. A influência negativa dos

agrotóxicos nestas variáveis, em uma produção em que as duas linhas são conciliadas, acarreta na eliminação desta possibilidade

Deste modo, o trabalho tem por objetivo avaliar a compatibilidade de três isolados de *Trichoderma* spp. frente a seis diferentes agrotóxicos. Estas avaliações terão por base as variáveis de crescimento micelial e esporulação dos isolados em testes *in vitro*, bem como a classificação quanto a compatibilidade dos produtos em relação aos isolados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PANORAMA ATUAL DA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS E MUDANÇAS DA AGRICULTURA

A crescente demanda por alimentos em âmbito mundial está acarretando em mudanças na forma com que a agricultura mundial se comporta frente a esse movimento. Levantamento realizado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO; Tabela 1) aponta para uma variação de 36% na população mundial em 24 anos, e que neste mesmo período de tempo, a produtividade média mundial de alimentos por hectare também teve um acréscimo significativo, chegando a 129% de acréscimo. Em contraponto, a oferta anual de alimento por pessoa não seguiu a mesma tendência, apresentando uma elevação de apenas 27%. Segundo a FAO, a estimativa é de que até 2050, a demanda alimentar se eleve em até 70%. Dados desta Organização confirmam esta tendência de futura falta de alimento para a população mundial dentro de alguns anos.

Tabela 1 - Evolução populacional e da produção agrícola mundial entre 1990 e 2014.

Indicadores	1990	2014	Variação (%)
População total (milhões)	5.320,8	7.243,8	36,1
Produção (milhões de toneladas)	2.771,8	4.809,7	73
Área cultivada (milhões de hectares)	1952	2.781	42
Produtividade média (mil kg/hectare)	1,42	3,26	129
Oferta per capita anual (kg)	520,00	663,00	27.5

Fonte: Adaptado de FAO, 2017.

Estudo realizado por SOUZA et al. (2013) aponta que o brasileiro consome preferencialmente cereais e leguminosas, especialmente arroz e feijão, bem como pão de sal e carne bovina. Todos os produtos citados anteriormente estão diretamente ligados à produção agrícola nacional e mundial, e por isso, o próprio aumento da demanda destes alimentos acarretaria em uma necessidade do aumento da produção e/ou produtividade.

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) e a FAO publicaram relatório conjunto sobre as perspectivas agrícolas mundiais no período 2015-2024, discutindo inclusive sobre a agricultura brasileira e seus problemas. Neste relatório, a FAO aponta como principal desafio para a produção brasileira “[...] conseguir manter a produtividade

e o crescimento da produção, e ao mesmo tempo garantir que estes avanços permaneçam alinhados aos objetivos de redução da pobreza e da desigualdade no país com base na sustentabilidade ambiental” (OECD/FAO, 2015).

A atividade agrícola a nível mundial passou por várias mudanças desde seu início. A adaptação desta atividade aos anseios de seus utilizadores provocou ao longo do tempo a diferenciação de vários sistemas. Dentre esses podemos citar os mais relevantes, como a domesticação de animais, o sistema de derrubada-queimada, os sistemas pós-florestais, os cultivos irrigados (Rio Nilo), os subsistemas escalonados no território Inca, o sistema de alqueive com tração animal, a primeira revolução agrícola e a instituição de novos meios de transporte, e posteriormente a segunda revolução agrícola com o incremento dos insumos industriais (MAZOYER e ROUDART, 2008).

O relativo aumento da produção de alimentos deve-se principalmente ao aprimoramento das técnicas já existentes, ou a utilização de inovações, que alteram a forma de pensar do agricultor e a forma com que ele lida com a produção alimentar. Um exemplo claro deste processo é o da modernização da agricultura, que consiste na aquisição de tecnologias que substituem a mão-de-obra, como descreve Teixeira (2005). Este autor indica também que o processo de modernização contempla mais do que apenas a utilização de novas tecnologias, como também “[...] deve levar em conta todo o processo de modificações ocorrido nas relações sociais de produção”.

Este processo de modernização, mais especificamente o uso de insumos oriundos da indústria, se iniciou no século XIX, mas foi apenas após a Segunda Guerra Mundial, já no século XX que os insumos se difundiram de forma espantosa (MAZOYER e ROUDART, 2008). Assim, indicam estes autores, tal aspecto propiciou aos agricultores aderir ao sistema de grandes monocultivos, o que aumentou ainda mais a dependência do arsenal industrial.

2.2 UTILIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS

Um dos pontos considerados fundamentais para o aumento da produção de alimentos no mundo todo, no contexto dos processos de modernização da agricultura, foi a inclusão de produtos químicos em partes ou etapas do processo produtivo. Esses produtos químicos, conhecidos como agrotóxicos, atualmente apresentam-se no centro de várias polêmicas. A utilização dos agrotóxicos remete aos três principais problemas encontrados na manutenção e incremento da produtividade: os insetos, as doenças fúngicas e as plantas daninhas.

A prevenção ou o tratamento destes problemas vem sendo comumente realizado com a aplicação de produtos comerciais produzidos por grandes corporações, pois como mostra o site da FAO (2017), foram utilizadas 395.646 toneladas de princípios ativos de agrotóxicos no ano de 2015 no Brasil. Deste total, 220 mil toneladas foram de herbicidas, 71 mil de inseticidas e 66 mil de fungicidas. Uma correlação com a área cultivada no ano de 2015, que foi de 57,7 milhões de hectares, segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), revela que foram aplicados 6,85 kg de ingrediente ativo por hectare.

Essa discrepância nos valores de ingredientes ativos ressalta o fato das plantas espontâneas adquirir resistência ao mecanismo de ação dos herbicidas. Vargas et al. (2016) afirmam que esta resistência decorre do uso contínuo do mesmo mecanismo de ação, principalmente em casos de rotas com altas taxas de mutação. Aliado a isto, os autores colocam que o fato da dose recomendada por fabricantes não ser capaz de controlar as plantas espontâneas, acarreta em um uso indiscriminado pelos produtores. Dois conceitos foram citados como fundamentais neste processo: resistência e tolerância. A resistência caracteriza-se pela capacidade de determinada planta sobreviver a dose recomendada e registrada na bula sem aparecimento de injúrias. Já a tolerância acontece em plantas que sofrem injúrias, porém não suficientes para resultar na sua morte, utilizando-se as doses registradas. (VARGAS et al., 2016)

Em contraponto a esta realidade de resistência e tolerância, alguns resultados positivos alcançados conferiram aos agrotóxicos algumas vantagens frente aos outros métodos utilizados. Na atualidade, isto resulta na aquisição destes insumos para incremento da produtividade, e o custo relativo dos agrotóxicos seria compensado por este acréscimo (SOARES, 2010). Porém, este custo é meramente a quantificação de valores mercantis, em função do seu repasse para o próprio consumidor, o que não vale para questões sociais e de saúde pública, que são majoritariamente ignoradas por todos os segmentos. Deste modo, o autor coloca que “[...] o benefício privado não se reflete em benefício social [...]”, e que o resultado destas ações do uso de agrotóxicos se reflete nas áreas da saúde e até na previdência, na concessão de benefícios.

Soares (2010) também alerta sobre a deposição dos resíduos de agrotóxicos dentro da cadeia produtiva. O autor comenta que estas moléculas podem absorvidas pelo sistema solo, nos animais que consomem alimentos contaminados e até no homem, podendo inclusive acarretar uma maior incidência de câncer.

Os agrotóxicos podem ser classificação quanto à sua finalidade. Para controle de plantas daninhas são utilizados herbicidas, para o controle de doenças fúngicas os fungicidas, e para o controle de insetos praga utilizam-se os inseticidas.

2.2.1 Herbicidas

Um dos potenciais problemas que atingem as culturas é a presença de plantas daninhas durante o ciclo produtivo. Brighenti e Oliveira (2011) colocam que plantas invasoras de áreas produtivas podem causar alguns problemas, tais como a redução da produtividade e em casos extremos inviabilizar a produção de determinada área. Dentro desta problemática, uma das alternativas é o uso de herbicidas, definidos por Oliveira Jr. (2011) como moléculas capazes de selecionar algumas populações de plantas, ou seja, a seleção consiste na capacidade do herbicida em levar à morte determinadas espécies de plantas, não afetando outras populações de interesse agrícola.

Os herbicidas possuem uma ampla gama de classificações. Podem ser classificados quanto à seletividade (seletivos ou não); quanto à translocação (sistêmica ou de contato); quanto à época de aplicação (pré-plantio, pré-emergência ou pós-emergência) e, por último, quanto ao seu mecanismo de ação (OLIVEIRA JR., 2011).

Entre os herbicidas amplamente difundidos está o glyphosate. Consiste em um sal de isopropilamina de N-(fosfometil)glicina, sendo um herbicida sistêmico de amplo espectro, utilizado no controle de plantas mono e dicotiledôneas anuais e perenes (KRUSE; TREZZI; VIDAL, 2000). Atuando como inibidor da enzima 5-enolpiruvilshiquimato 3-fosfato sintase (EPSPS), o glyphosate, grupo das glicinas substituídas, resultando no bloqueio da rota de síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais, tais como fenilalanina, tirosina e triptofano, que são precursores de outros produtos, como lignina, alcalóides, flavonóides e ácidos benzóicos (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

O glyphosate vem sendo amplamente empregado na pré- e pós-emergência de culturas anuais, especialmente de soja transgênica resistente a este princípio ativo. Estudo realizado por Santos et al. (2007) apontou que o intervalo mínimo é de sete dias entre a aplicação do herbicida glyphosate e o plantio da soja, e que a aplicação em pós-emergência só deverá ser feita por recomendação, dependendo das plantas infestantes e real necessidade de aplicação.

Porém, como colocam Vargas e colaboradores (2016), o uso contínuo deste herbicida ao longo do processo de plantio direto ocasionou em um processo de seleção de plantas resistentes. Isto se deve ao fato de que há rotas alternativas para a produção dos aminoácidos aromáticos essenciais, não sendo unicamente exclusiva aquela realizada pela enzima EPSPS. Outro ponto é o de que qualquer alteração potencial na própria enzima EPSPS, pode resultar em resistência a molécula do herbicida, e posteriormente tornar-se um biótipo resistente (CHRISTOFFOLETTI & LÓPEZ-OJEVERO, 2003). Assim, nos últimos anos, o herbicida

glyphosate vem sendo descartado no manejo de plantas invasoras devido a isto. (VARGAS et al., 2016)

Outra molécula utilizada frequentemente no controle de plantas daninhas é o paraquat. O paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto) do grupo dos bipyridílios, princípio ativo deste produto comercial, é um herbicida usado na pós-emergência de plantas daninhas, cujo mecanismo de ação é a inibição do fotossistema I, o que torna sua eficiência muito maior na presença de luz. É uma molécula de contato não seletiva, devido a sua ação na produção aumentada de radicais livres. Vem sendo empregado, entre outras, em culturas de abacaxi, arroz, batata, cana-de-açúcar, citros, feijão, milho, soja e trigo (MARTINS, 2013). É indicado para o controle de um amplo espectro de plantas, como por exemplo, o picão-preto (*Bidens pilosa*), amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), caruru (*Amaranthus retroflexus*) e beldroega (*Portulaca oleraceae*). Seu uso é dirigido para o controle das plantas citadas anteriormente tanto em culturas anuais quanto perenes (AGROFIT, 2017).

Por atuar no fotossistema I das plantas, os registros de resistência ao paraquat são raros, quase inexistentes. Isto acontece porque não há rotas alternativas a este sistema, ou seja, o fotossistema I é essencial para a sobrevivência da planta. (TAIZ & ZEIGER, 2013)

2.2.2 Fungicidas

Em solos tropicais, a microbiota do solo apresenta uma vasta quantidade de espécies de fungos, e isto significa que o que há no solo pode ser benéfico quanto maléfico. Os principais gêneros fúngicos encontrados no solo são *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Plasmodiophora*, *Rhizopus*, *Sclerotium*, *Scopulariopsis* e *Trichoderma* spp. (STAMFORD et al., 2005).

Dentre estes gêneros, com exceção do *Trichoderma* spp., o restante pode constituir-se de fungos fitopatógenos, que geralmente atuam nas raízes das plantas (STAMFORD et al., 2005). Embora doenças radiculares sejam frequentes, na visão dos agricultores estas doenças não representam um fator limitante no desenvolvimento de plantas. Isso ocorre, segundo Michereff et al. (2005), devido à incapacidade de visualização dos sintomas no decorrer do período crítico, ao contrário das doenças foliares, que são facilmente observadas nas plantas de interesse agrícola.

Especificamente, o gênero *Fusarium* spp. é encontrado nos solos associado a hospedeiros específicos, causando geralmente o tombamento de mudas no início dos ciclos das culturas. Dentre as plantas suscetíveis à patogenicidade de *Fusarium* spp. estão, por exemplo, o tomateiro e o pepineiro, uma solanácea e uma cucurbitácea, respectivamente. Ethur et al.

(2008), ao analisar solos de estufa e em horta destas culturas, mostraram que o gênero está mais presente na região rizosférica, e que a maioria dos isolados não é patogênica, porém os isolados patogênicos presentes causaram moléstias às mudas. Milanesi et al. (2013a) observaram a presença de fungos deste gênero em solo rizosférico de oito genótipos de soja tanto em plantas com e sem sintomas da Síndrome da Morte Súbita.

Já os gêneros *Pythium* spp. e *Phytophthora* spp. são responsáveis por podridões radiculares em várias plantas de interesse agrônômico. Patrício et al. (2007), em teste realizado com amostras de solo infestados por *Pythium* spp., concluíram que a solarização acrescida de controle químico produziu um efeito satisfatório no controle do patógeno. Lasca et al. (2005) inferiram que o controle químico de sementes apresenta os melhores resultados no controle de *Pythium*.

Neste sentido, dentre os processos eficientes para o controle de doenças fúngicas e para o controle de insetos, está o tratamento das sementes, visto que atua de forma preventiva, como indicam os resultados obtidos por Cunha et al. (2015) em estudo utilizando diferentes fungicidas e inseticidas como tratamento de sementes de soja. Contudo, mesmo com o tratamento de sementes sendo eficaz, muitas vezes há a possibilidade que ele não seja suficiente quanto à presença de fitopatógenos fúngicos.

Geralmente, a utilização do tratamento de sementes compreende o uso de dois ou mais princípios ativos com mecanismo de ação e translocação diferentes. Isto acontece para que se obtenha o máximo de eficácia no controle de patógenos. Um exemplo prático pode ser visto na utilização de dois princípios ativos: a carboxina e o tiram. A carboxina é uma molécula do grupo das carboxanilidas, que atua na inibição da succinato desidrogenase, enzima localizada na membrana interna da mitocôndria que participa do ciclo de Krebs e está relacionada ao transporte de elétrons na cadeia de transporte de elétrons da respiração (FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE - FRAC, 2017).

A molécula de tiram pertence ao grupo dos ditiocarbamatos, classificado pelo Fungicide Resistance Action Committee (2017) como um fungicida de contato multissítio, que incluem moléculas capazes de atuar em mais de um sítio de ação. Estes sítios de ação podem envolver processos básicos como respiração, mitose e meiose, síntese de ácidos nucleicos, entre outros (FRAC, 2017). A união das duas moléculas (carboxina e tiram) apresenta uma dupla ação no controle de fitopatógenos, uma vez que a molécula de carboxina é sistêmica, ou seja, translocada pela semente e posteriormente na planta, enquanto a molécula de tiram caracteriza-se por um efeito preventivo, pela sua característica de contato, que permanece envolto à semente protegendo-a de invasores.

Para a cultura da soja, esta mistura de moléculas é recomendado para controle de alguns fungos de armazenamento, como *Aspergillus* sp. e *Penicilium* sp. Além disso, é indicado para o controle de *Fusarium pallidoroseum* (podridão da semente), *Cercospora kikuchii* (mancha púrpura da semente), *Phytium* sp. (podridão de raízes e tombamento de mudas), entre outros (AGROFIT, 2017). Percebe-se que pelo fato de ser um fungicida de tratamento de sementes, tem seu espectro de ação mais voltado a fungos intrínsecos da semente e fungos de solo, onde sua eficiência será maior.

Outros dois princípios utilizados de forma concomitante para o tratamento de sementes são o fludioxonil, do grupo dos fenilpirróis, e o metalaxil-M, do grupo dos acilalaninatos. De forma similar à mistura anterior, em que uma molécula (fludioxonil) é imóvel e de contato, enquanto a outra (metalaxil-M) apresenta características sistêmicas e de translocação, tornando-se complementares.

Especificamente, o fludioxonil é uma molécula fungicida que atua em um sistema de transdução de sinais relacionado à regulação osmótica nas células fúngicas, induzindo lise celular (KANETIS et al., 2008). A molécula de metalaxil-M pertence ao grupo das fenilamidas, agindo sobre a síntese de ácidos nucleicos, mais especificamente sobre a RNA polimerase I (FRAC, 2017). A mistura dos dois princípios ativos, um agindo sobre a parte gênica e a outra sobre a resposta do fungo a condições adversas torna o produto eficiente à campo, segundo dados da empresa (DE MARCHI, 2010).

Esta mistura é indicada para o controle de fungos de solo, como *Rizochtonia* sp. e fungos de armazenamento de sementes como *Penicilium* sp. e *Cercospora kikuchii*, similar a mistura de carboxina e tiram.

2.2.3 Inseticidas

O ataque de insetos praga durante o ciclo das culturas também acarreta em perdas para os agricultores. Os insetos de lavouras de soja podem surgir durante todo o ciclo da cultura, desde a germinação até o evento da colheita, sendo que os mesmos podem atacar diversas partes da planta, como folhas, raízes, vagens e caule (HOFFMAN-CAMPO, 2000). Deste modo, uma das alternativas consiste na aplicação de tratamento de sementes com princípios inseticidas, para evitar o ataque dos mesmos.

Um dos ingredientes difundidos para o controle de insetos com o tratamento de sementes é o tiametoxando grupo dos neonicotinóides. Os neonicotinóides foram classificados por Faria (2009) como inseticidas da quarta geração. O seu modo de ação se resume a imitar a molécula de acetilcolina e competir pelos seus receptores. Assim, a acetilcolina é degradada pela enzima

acetilcolinesterase, enquanto que o neonicotinoide não, fazendo com que os receptores de acetilcolina estejam sempre ativados, causando uma hiperexcitabilidade do sistema nervoso do inseto (FARIA, 2009). Esta molécula é recomendada para o controle de pragas da soja como *Diabrotica speciosa* e *Elasmopalpus lignosellus*, a vaquinha e a broca-do-colo, respectivamente (AGROFIT, 2017).

Há no mercado algumas misturas que apresentam mais de um alvo, onde há a presença de princípios ativos que agem sobre organismos diferentes, como fungos e insetos. Sendo assim, correspondem a produtos mais completos quanto ao espectro de ação.

Uma destas misturas apresenta dois princípios ativos fungicidas, sendo eles a piraclostrobina, que é uma estrobirulina; o tiofanato metílico, do grupo do benzimidazóis; e o fipronil, inseticida do grupo dos pirazóis. A piraclostrobina atua no processo respiratório, mais exatamente no complexo III, no citocromo *bc1*, sendo considerado um inibidor extracelular de quinona. O tiofanato metílico é um componente que tem por objetivo inibir a formação de β -tubulina durante o processo mitótico. Estes dois fungicidas têm efeitos complementares, pois a piraclostrobina tem uma ação protetora externa, enquanto que o tiofanato metílico é uma molécula sistêmica, que é transportada dentro da semente (FRAC, 2017).

O fipronil é, principalmente, um inseticida de ingestão, ou seja, o inseto deve ingeri-lo para que aconteça a ação do mesmo. Este princípio atua no sistema nervoso central do inseto, inibindo os receptores do ácido gama aminibutírico (GABA). Quando a função do sistema receptor-GABA, que é a prevenção de estímulos neuronais excessivos, é bloqueada pelo fipronil, ocorre hiperexcitação neural e morte do inseto (COUTINHO et al., 2005).

2.3 BIOCONTROLADORES

O homem, ao manipular fatores bióticos e abióticos dos ecossistemas, acaba provocando desequilíbrios nas relações e na dinâmica destes ambientes. Um dos principais pontos atrelados à agricultura é a simplificação ecológica dos agroecossistemas, que pode sujeitá-los a perturbações por agentes como insetos-praga e fitopatógenos. No momento em que uma determinada população, seja ela de insetos, fitopatógenos ou plantas invasoras, se torna nociva aos interesses humanos de aumento de produtividade, o próprio homem tem o dever de consertar o desequilíbrio, a fim de controlá-lo, evitando problemas futuros (MENEZES, 2003; MICHEREFF et al, 2005).

Em contraponto à perspectiva de utilização de agrotóxicos, novas ideias surgiram e surgem para controle de pragas, fitopatógenos e plantas na agricultura mundial. O tema que está difundindo-se amplamente é a utilização de controle biológico, ou de biocontroladores. O

controle biológico caracteriza-se pela regulação de uma população por outra, e este conceito se aplica a todos os organismos presentes em determinado ambiente (MENEZES, 2003). Cook & Baker (1983) ainda colocam que o controle biológico se caracteriza pela redução de inóculo de determinado patógeno, realizado por organismos que não sejam o homem.

Basicamente, o biocontrolador atua na regulação populacional de patógenos e pragas através de mecanismos antagônicos, como a competição, antibiose e parasitismo (BETTIOL e GHINI, 2009). Ainda, há que se considerar a eficiência dos biocontroladores em testes à campo, visto que os mesmos são menos efetivos que os agrotóxicos, quando mal manejados, porém apresentam bons resultados quando bem manejados. Esta eficiência deriva da pouca persistência quando utilizado para controle de doenças de final de ciclo, ou de planta em processo de maturação (HARMAN, 2000). Outro ponto crucial se refere ao espectro de ação dos biocontroladores, tendo em vista que cada linhagem possui características específicas, o que torna a sua aplicação mais limitada a locais específicos. Neste sentido, consórcios de linhagens diferentes que tenham função de controle biológico, mas com alvos diferenciados, pode agir de forma sinérgica e ampliar a eficiência dos mesmos (HARMAN, 2000).

A problemática dos patógenos de solo e radiculares não têm recebido a devida importância. Neste sentido, muitas empresas e até produtores, vêm procurando alternativas ao controle, objetivando também proporcionar equilíbrio ao ambiente. Uma das possibilidades encontradas, no campo dos biocontroladores, é a utilização de isolados da própria rizosfera ou endofíticos, usando o princípio da regulação populacional. Dentre os isolados que têm apresentado bons resultados no controle biológico estão fungos do gênero *Trichoderma* que, por este motivo, vem sendo utilizados em pesquisas para obtenção de novos produtos (SILVA e MELLO, 2007).

A substituição do controle químico pelo controle biológico não necessariamente resulta em maiores produtividades, mas representa um passo na direção de uma produção mais limpa e sustentável, como afirmam Morandi e Bettiol (2009). Saito et al. (2009) constatam que o controle biológico é promissor enquanto estratégia para o manejo integrado de pragas, patógenos e plantas invasoras na agricultura.

2.3.1 O gênero *Trichoderma* spp. como biocontrolador

Fungos do gênero *Trichoderma* spp., pertencentes ao Filo Ascomycota, são a forma anamórfica do gênero *Hypocrea*. Assim, os fungos filamentosos do gênero *Trichoderma* spp. reproduzem-se assexuadamente pela produção de conídios (SAMUELS, 2006). Este gênero compreende fungos de vida livre, facilmente encontrados em solos de regiões de clima

temperado e tropical (RIBEIRO, 2009; MACHADO et al. 2012). Pertencente à microbiota do solo, apresenta importante função ecológica, pois participa da decomposição e mineralização dos resíduos vegetais e outros materiais orgânicos, contribuindo com a disponibilização de nutrientes para as plantas (SAITO et al., 2009).

A eficiência de *Trichoderma* spp. vem sendo demonstrada em estudos de laboratório, casa de vegetação e campo, mostrando-se como competentes agentes de biocontrole de patógenos em diferentes culturas de interesse agrícola (MACHADO et al., 2012). Lohmann et al. (2007) observaram que a inoculação de três linhagens de *Trichoderma* spp. em bandejas contendo sementes de soja em solo infestado com *Sclerotium rolfsii*, reduziram a incidência de damping-off provocado pelo fitopatógeno.

Os isolados *T. koningii* LCB49 e *T. polysporum* LCB50 apresentaram potencial para aplicação como biocontroladores de patógenos de solo em meloeiro, resultando em maior número de plantas no estande e em incremento na produtividade de frutos (GAVA; MENEZES, 2012). No entanto, a utilização de fungicidas químicos para o tratamento de sementes de soja resultou em estande adequado de plantas, enquanto o tratamento com *Trichoderma* spp. não ofereceu proteção às sementes no solo, provocando redução drástica na germinação e emergência de plantas. Este dado remete ao fato de que este gênero também apresenta características decompositoras, e sementes não sadias são alvos fáceis de deterioração pelos fungos (MERTZ; HENNING; ZIMMER, 2009).

Assim, cada espécie de *Trichoderma* spp. apresenta características únicas, e estas que definem qual a potencialidade do gênero quanto à sua atuação como biocontroladores. Harman (2000) cita que o mecanismo de ação dos organismos é importante no entendimento do fenômeno do biocontrole. *Trichoderma* spp pode atuar por antibiose, devido a produção de algumas substâncias, como a trichodermina e a dermadina (MACHADO et al., 2012).

A atividade antagonista de *Trichoderma* spp. também está relacionada à produção de enzimas hidrolíticas extracelulares (THRANE, JOHNSON & TRONSMO, 2000 *apud* MACHADO et al., 2012). O biocontrolador pode degradar enzimas sintetizadas pelo fitopatógeno, devido à sua capacidade de sintetizar proteases (HARMAN, 2000). Além disso, podem competir com outros microrganismos por exsudatos, nutrientes e por espaço. Ainda, *Trichoderma* podem induzir resistência sistêmica e localizada a uma variedade de patógenos de plantas e atuar como promotores de crescimento de plantas (Fig. 1) (SAITO et al., 2009).

Figura 1 - Desenvolvimento de raízes em plantas de soja como consequência da utilização de sementes tratadas (direta) ou não tratadas (esquerda) com *Trichoderma harzianum* T-22.



Fonte: Harman (2000).

Representantes do gênero *Trichoderma* spp. podem ser dominantes na rizosfera, devido às suas elevadas taxas de crescimento e à capacidade de se adaptar a qualquer substrato presente no solo. Essa capacidade de colonização de raízes, reduzindo a concentração de outros microrganismos, associado à elevada taxa de decomposição de resíduos orgânicos, eleva o *Trichoderma* spp. à classe de promotores de crescimento (MACHADO et al., 2012). No entanto, as relações que ocorrem entre planta e fungo são complexas, e necessitam análises mais aprofundadas no que se refere à ação de *Trichoderma* spp. como promotor de crescimento vegetal. Alguns estudos indicam a capacidade de *Trichoderma* spp. em disponibilizar nutrientes na forma solúvel para a planta, processo que pode participar na promoção de crescimento (SAITO et al., 2009).

Mesmo com os diversos estudos referentes ao efeito biocontrolador e promotor de crescimento de *Trichoderma* spp., ainda há escassa utilização do biocontrole na agricultura comercial. Este fato se deve, em parte, à restrita gama de produtos licenciados pelo Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento (MAPA) (MACHADO et al., 2012). Bettiol et al. (2012) listaram 55 produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. disponíveis a nível mundial, sendo todos eles considerados como produtos de biocontrole de patógenos.

2.3.1.1 *Trichoderma harzianum*

No gênero *Trichoderma* spp., a espécie *T. harzianum* é a mais investigada. A listagem realizada por Bettiol et al. (2012) revelou que dos 55 produtos pra bioncontrole à base de *Trichoderma* spp., 30 deles apresentavam a espécie *T. harzianum* como princípio ativo básico, ou associado a outras espécies de *Trichoderma* spp. Uma das linhagens comercializadas, denominada T-22, apresenta potente atividade biocontroladora e de estimulação de crescimento vegetal (Fig. 2; HARMAN, 2000).

Figura 2 - Culturas de *Trichoderma harzianum* linhagem T-22 (KRL-AG2) crescendo em Ágar batata dextrose (BDA). As áreas brancas não contêm esporos, enquanto as áreas verdes são cobertas com densas massas de esporos (conídios).



Fonte: Harman (2000)

Não apenas a linhagem T-22 de *T. harzianum* tem apresentado bons resultados dentre os biocontroladores. Em estudo de tratamento de sementes de feijoeiro comum ‘Jalo Precoce’, os isolados de *T. harzianum* CEN287 e CEN289 demonstraram-se efetivos para o controle de *Aspergillus*, os isolados CEN287 e CEN316 demonstraram-se promissores para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, e *T. harzianum* isolado de produto comercial foi eficaz no controle de *Cladosporium*. Ainda, *T. harzianum* CEN289 e CEN290 resultaram em maior crescimento do feijoeiro em casa de vegetação e em campo. Portanto, o tratamento de sementes com *T. harzianum* promoveu o biocontrole de patógenos veiculados por sementes (CARVALHO et al., 2011).

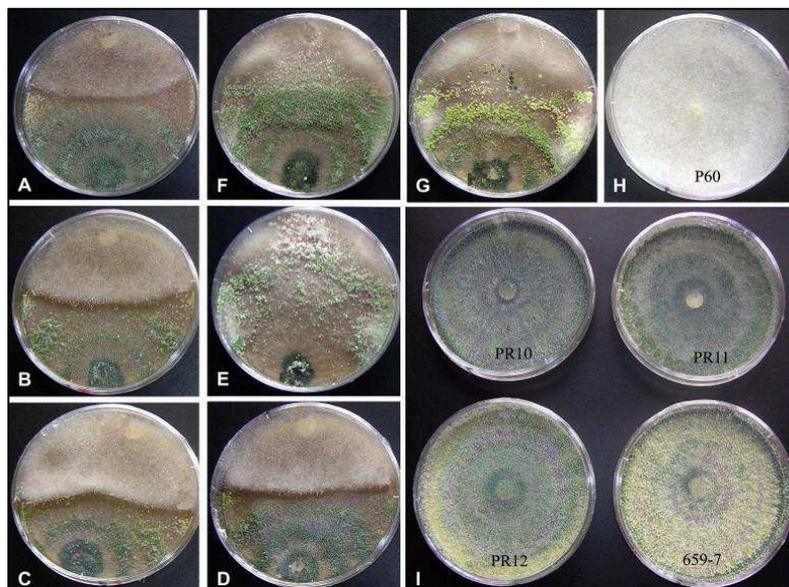
O patógeno *Sclerotinia rolfii*, que causa podridão em alho, foi controlado de forma eficiente com isolados específicos de *T. harzianum* (DE SOUSA e BLUM, 2013). Ainda, *T. harzianum* 2B2 e 2B22 apresentaram potencialidade na promoção de crescimento de mudas de camarará (MACHADO et al., 2015). Em campo, o biocontrole com *T. harzianum* 1306 e palhada de braquiária demonstrou ser viável e eficiente para o controle do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) da soja em áreas de Cerrado (GÖRGEN et al., 2009).

2.3.1.2 *Trichoderma asperellum*

Outra espécie de *Trichoderma* spp. utilizada para controle biológico é *T. asperellum*. Essa derivação foi classificada inicialmente por Samuels et al. (1999), distinguindo da espécie *T. viride* por apresentar uma taxa de crescimento mais elevada e um arranjo diferenciado de conídios. Para Mbarga et al. (2012), *T. asperellum* apresentou potencial no biocontrole de podridão de raízes de taioba, causada por *Pythium myriotylum*, em cultivos no Camarões. O

estudo demonstrou redução de até 50% na incidência da doença, e uma supressão no crescimento micelial do patógeno quando colocados em crescimento direto (Fig. 3).

Figura 3 - Antagonismo de estirpes de *Trichoderma asperellum* contra *Pythium* após um teste de confronto direto.



Fonte: Mbarga et al. (2012).

Já para Santos-Villalobos et al. (2013), *T. asperellum* pode ser utilizado como controlador da antracnose da manga, pois observou-se resultado positivo frente à contaminação pelo fitopatógeno. Como o estudo foi realizado a campo, a estirpe de *T. asperellum* T8a demonstrou ser eficiente no controle da doença. Porém, o autor ressalta que mais estudos devem ser conduzidos utilizando esta mesma estirpe no controle de outras doenças (SANTOS-VILLALOBOS, 2013).

Milanesi et al. (2013b) reportaram que *T. asperellum* Ts5, além de outros *Trichoderma* sp. isolados de solo, apresentou potencial *in vitro* e *in vivo* para o controle de *Fusarium* spp. em soja. Ainda, estes isolados atuaram como promotores de crescimento de plântulas de soja.

2.4 COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E BIOCONTROLADORES

As diferentes linhas de pesquisa no controle de fitopatógenos, tanto na área de agrotóxicos quanto de biocontroladores, ainda apresentam algumas lacunas dentro da comunidade científica. Morandi e Bettiol (2009) ressaltam que substituir a origem dos insumos, ou seja, passar de agrotóxicos para biológicos, consiste em um método de avançar na forma que se produz, alcançando maior sustentabilidade no processo produtivo. Porém, os produtores

ainda trazem consigo uma herança cultural, em que a mudança na forma de produção representa uma barreira, e até um retrocesso nas técnicas produtivas.

Uma possível alternativa a este impasse resume-se à capacidade de aliar as duas linhas de pensamento: agrotóxicos e biocontroladores. Lobo Júnior; Geraldine; Carvalho (2009) reportaram que o produto antagonista, biocontrolador, deve ter alguma compatibilidade com os outros produtos que são inseridos no agroecossistema. Algumas vezes, a utilização de produtos fitossanitários pode agir de forma indesejada no crescimento fúngico de controladores biológicos, podendo resultar em inviabilização dos mesmos (DIAS NETO, 2014).

Neste sentido, vale ressaltar que os estudos devem focar especificamente na área da compatibilidade do gênero *Trichoderma* spp. com produtos químicos, para que o mesmo obtenha sucesso na sua aplicação (MELLO et al., 2003). Isto também implica em estudos de cada caso em específico, em que sejam delimitados intervalos de concentração e tolerância de cada produto. Lucon (2008) reforça esta ideia, quando sugere que isolados de *Trichoderma* spp. possam ser aplicados separadamente, ou concomitantemente, com produtos fungicidas comumente utilizados no controle de fitopatógenos.

Inserindo-se nos estudos de compatibilidade, uma das vantagens que foi relatada por Luz (2003) refere-se à capacidade de o produto químico ser capaz de controlar o desenvolvimento inicial de patógenos, porém não interferindo no crescimento de microrganismos biocontroladores, o que contribui para a redução da incidência de patógenos no restante do ciclo da planta, após o término do efeito residual. O estudo realizado por Lobo Júnior; Geraldine; Carvalho (2009) comprova este ponto, onde isolado de *T. harzianum* foi capaz de se desenvolver após o efeito residual do tratamento de sementes.

Um dos problemas na avaliação de compatibilidade vem sendo a metodologia a ser utilizada para padronizar os resultados (DIAS NETO, 2014). Silva et al. (2005) indicam, por exemplo, que para fungos entomopatogênicos, testes iniciais devem envolver, pelo menos, o crescimento vegetativo e a produção de esporos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FUNGOS E AGROTÓXICOS INVESTIGADOS

Utilizaram-se os isolados *Trichoderma harzianum*, obtido a partir do produto comercial StimuControl® (Simbiose, Brasil); *Trichoderma harzianum*, isolado do solo do município de Guarani das Missões-RS pela acadêmica do curso de Agronomia Lisiane Sobucki, e identificado pela Eng^a Agrônoma Janaína Sarzi e pela Prof^a Dr^a Juliane Ludwig, no laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Cerro Largo; e *Trichoderma asperellum*, isolado do produto comercial Quality® (Laboratório Farroupilha, Brasil). Para manutenção dos isolados, os mesmos foram periodicamente cultivados em placas de Petri contendo ágar batata dextrose (BDA) por sete dias em estufa (25 ± 1 °C), na ausência de luz. Os cultivos permaneceram armazenados em geladeira após o uso para repicagem.

Os agrotóxicos comerciais utilizados foram o inseticida Cruiser® (tiametoxan), os herbicidas Roundup Original® (glyphosate) e Gramoxone 200® (paraquat), e os fungicidas Vitavax Thiram® (carboxina + thiram) e Maxim XL® (fludioxonil + metalaxil - M), além de Standak Top®, produto comercial contendo fungicidas (piraclostrobina + metil tiofanato) e inseticida (fipronil).

3.2 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA CONTENDO AGROTÓXICOS

Para preparação de meios de cultura contendo agrotóxicos, frascos Erlenmeyer (Fig. 4) contendo o meio BDA foram inicialmente esterilizados em autoclave (121 °C, 15 min). Após o ciclo de esterilização, cada agroquímico foi incorporado individualmente ao meio BDA ainda fundente com temperatura entre 45° a 50°C (ISHIZUKA, 2016), de modo a atingir concentração (ppm) representativa da dose máxima recomendada para a cultura da soja.

As concentrações finais dos produtos químicos estão descritas na Tabela 2, que apresenta as dosagens de recomendação dos produtos. Os valores utilizados como base de cálculo foram as concentrações dos produtos em p.p.m. dos princípios ativos, constando sua diluição em água no momento da aplicação, tanto para o tratamento de sementes quanto para os herbicidas.

Após vigorosa agitação, e mantendo-se a temperatura do meio, verteu-se o conteúdo do frasco em placas de Petri (10 mL placa⁻¹), como ilustra a Fig. 5. Prepararam-se ainda placas contendo apenas o meio BDA, sem a adição de agrotóxicos (testemunhas). A preparação das placas ocorreu em câmara de fluxo laminar vertical.

Figura 4 - Preparo de meio BDA em Erlenmeyers.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017 .

Tabela 2 - Concentrações dos princípios ativos em p.p.m. nos meios de cultura.

Nome comercial	Princípio(s) ativo(s)	Concentração dos princípios (ppm)	Recomendação de diluição	Concentração dos princípios no meio de cultura (ppm)
Maxim XL [®]	Fludioxonil; Metalaxil-M	25.000; 10.000	0,1 L/0,5 L água	4.166,67; 1.666,67
Vitavax Thiram [®]	Carboxina; Tiram	200.000; 200.000	0,3 L/0,1 L água	150.000,00; 150.000,00
Standak Top [®]	Piraclostrobina; Metil tiofanato; Fipronil	25.000; 225.000; 250.000	0,2 L/0,5 L água	7.142,00; 64.285,70; 71.428,57
Cruiser [®]	Tiametoxan	350.000	0,3 L/0,3 L água	175.000,00
RoundUp Original [®]	Glyphosate	445.000	1 L/100 L água	4.406,00
Gramoxone 200 [®]	Paraquat	200.000	1,2 L/100 L água	2.371,54

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017

Figura 5 - Preparação de Placas de Petri contendo os tratamentos.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

3.3 CULTIVOS DE *Trichoderma* spp. EM MEIOS CONTENDO AGROTÓXICOS

Os fungos foram inicialmente inoculados em placas de BDA e incubados em estufa (25 ± 1 °C) na ausência de luz por sete dias. Estas placas serviram como fonte de inóculo para os testes em placas de BDA contendo agrotóxicos.

Todas as placas de BDA + produto que constituíram os tratamentos e testemunhas foram inoculadas com discos de micélio fúngico (10 mm de diâmetro). Em seguida, as placas foram incubadas em estufa (25 ± 1 °C), na ausência de luz.

3.4 AVALIAÇÕES DURANTE OS CULTIVOS DE *Trichoderma* spp.

Os ensaios foram conduzidos segundo o delineamento inteiramente casualizado, em duas etapas: a primeira etapa foi realizada em sistema fatorial 3x4 com quatro repetições, sendo três cepas de *Trichoderma* spp. e quatro princípios químicos de tratamento de sementes, além de uma testemunha, compreendendo. Na outra etapa, foram avaliados os dois herbicidas, consistindo em um experimento fatorial 3x2, com as mesmas cepas de *Trichoderma* spp. e quatro repetições.

Como parâmetros de avaliação do desempenho dos fungos em relação aos diferentes agrotóxicos adicionados ao meio de cultura, foram avaliados o crescimento vegetativo das colônias e a produção de conídios no décimo dia de incubação após a inoculação das placas.

O crescimento vegetativo foi quantificado através da medição, em milímetros, do diâmetro das colônias. A medição foi efetuada quando a testemunha atingiu a borda da placa, utilizando régua milimetrada, em dois sentidos perpendiculares, na parte externa do fundo da placa de Petri (RIBAS, 2010; DIAS NETO, 2014). O crescimento colonial nos tratamentos foi calculado em função do diâmetro das colônias das testemunhas.

A produção de conídios foi avaliada coletando-se, de cada colônia três amostras, sendo uma amostra central, uma intermediária e uma periférica, com o auxílio de um anel metálico esterilizado de 5 mm de diâmetro, no 10º dia de incubação. Para cada tratamento, coletaram-se amostras das 4 colônias. As amostras coletadas de cada colônia foram transferidas individualmente para tubos de ensaio contendo 10 mL de uma mistura 1:1 de solução de NaCl (0,89%, m/v) e Tween 20 (0,1%, v/v), estéril. Os tubos foram então agitados vigorosamente em agitador elétrico de tubos por um minuto, para liberação dos conídios (RIBAS, 2010; DIAS NETO, 2014). Na sequência foi realizada uma contagem de conídios para cada repetição ao microscópio óptico com aumento de 400x, em câmara de Neubauer, utilizando-se diluição da suspensão de conídios quando necessário. A partir das contagens das amostras colhidas em cada colônia, calculou-se a produção média de conídios por volume, utilizando o *software* Calibra (EMBRAPA, 2010).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o *software* Assitat versão beta 7.7 (SILVA e AZEVEDO, 2002).

A partir dos resultados de crescimento vegetativo e produção de conídios, foi calculado o valor “T”, índice utilizado para determinação da compatibilidade entre fungos biocontroladores e agrotóxicos (DIAS NETO, 2014). A seguinte fórmula foi empregada:

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100}$$

$$100$$

onde T representa o valor para classificação, CV a porcentagem de crescimento vegetativo da colônia após 3 dias, em relação à testemunha; ESP é a porcentagem de esporulação após 10 dias, em relação à testemunha. Deste modo, o crescimento tem uma importância de 20% na avaliação dos produtos, e os restantes 80% correspondem a esporulação, e isto se deve ao fato de que é mais importante ao fungo produzir esporos e se manter ativo com a produção de esporos comparativamente a apenas desenvolver apenas o micélio (ALVES et al., 1998 *apud* DIAS NETO, 2010).

A partir dos valores obtidos pelo cálculo do valor de T, foi realizada comparação com a escala de avaliação proposta por Alves et al. (1998) *apud* Dias Neto (2010), como demonstra a Tabela 3.

Tabela 3 - Valores “T” para a classificação do efeito de agrotóxicos sobre *Trichoderma* spp.

Valor T	Classificação
0 a 30	Muito tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente tóxico
≥61	Compatível

Fonte: Alves et al. (1998) *apud* Dias Neto (2010)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESPOSTA *IN VITRO* DOS ISOLADOS DE *Trichoderma* spp A TRATAMENTO DE SEMENTES

4.1.1 Crescimento micelial

Os isolados de *Trichoderma* spp. e os produtos químicos para tratamento de sementes apresentaram interação significativa ($F_{crit} > F_{tab}$) a 5% de probabilidade. Para o crescimento micelial, não houve diferença significativa entre testemunhas dos três isolados. A testemunha alcançou a borda da placa ao terceiro dia de incubação, sendo realizada a medição das colônias neste momento. Todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha para a variável crescimento, o que resulta em um efeito negativo de todos os agrotóxicos sobre o crescimento dos isolados, como indicado na Tabela 4.

Tabela 4 - Crescimento micelial (mm) dos isolados de *Trichoderma* spp. em função dos produtos químicos de tratamentos de sementes utilizados.

Isolado de <i>Trichoderma</i> spp.	CRESCIMENTO MICELIAL (mm)*				
	Tratamento de sementes				
	Testemunha	Maxim XL®	Standak Top®	Cruiser®	Vitavax Thiram®
<i>T. harzianum</i> (produto)	80,00 aA	20,75 cC	17,25 aD	28,00 bB	21,50 bC
<i>T. harzianum</i> (solo)	80,00 aA	29,00 aC	10,50 bD	32,25 aB	27,25 aC
<i>T. asperellum</i>	80,00 aA	24,50 bB	11,25 bD	19,25 cC	22,25 bB
CV% = 5,48					

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para *T. harzianum* isolado de produto comercial, o produto Standak Top® (piraclostrobina + metil tiofanato + fipronil) apresentou a maior interferência, reduzindo o crescimento micelial em 78%. O produto Cruiser® (tiametoxam) induziu redução de 65% do crescimento, sendo que o mesmo apresentou os menores valores de interferência perante *T. harzianum* isolado de solo. O isolado de *T. harzianum* oriundo de solo apresentou resultados similares àquele originado de produto comercial, em que o produto Standak Top®

(piraclostrobina + metil tiofanato + fipronil) induziu os piores resultados, enquanto que para o produto Cruiser® (tiametoxan) foram obtidos resultados mais próximos ao da testemunha (Tabela 4).

Já para o isolado de *T. asperellum*, os produtos Vitavax Thiram® (carboxina + tiram) e Maxim XL® (fludioxonil + metalaxil-M) apresentaram os resultados de crescimento mais próximos da testemunha, enquanto o produto Standak Top® (piraclostrobina + metil tiofanato + fipronil) apresentou novamente as menores médias (Tabela 4). Neste caso, o produto Cruiser® (tiametoxan) não apresentou resultados similares aos isolados de *T. harzianum*.

Alguns isolados de *Trichoderma* spp. têm se apresentado compatíveis com inseticidas como imidacloprid e tiametoxam, enquanto que carbendazim, fungicida para tratamento de sementes, resultou na morte das linhagens avaliadas (LOBO JÚNIOR; GERALDINE; CARVALHO, 2009). Em estudo realizado por Dias Neto (2014), o crescimento de *T. harzianum* IBFL006 não foi reduzido em meio contendo Cruiser® (tiametoxam), porém a avaliação foi feita após dez dias de incubação. Isto pode sugerir que o princípio ativo deste produto comercial iniba parcialmente o crescimento nos primeiros dias de incubação e que, em um intervalo de tempo maior, o produto pode diminuir sua interferência.

Pandolfo (2007) avaliou o efeito de 10 fungicidas comerciais (metiram + piraclostrobina, captana, piraclostrobina, carbendazim, carbendazim + tiram, fluazinam, trifloxistrobina + tebuconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, propiconazol + trifloxistrobina, carboxina + tiram), na dose recomendada, sobre o crescimento micelial de sete isolados de *Trichoderma* spp. Os resultados indicaram que, para os isolados T1R, T2R e PCT, apenas a dose recomendada de propiconazol + trifloxistrobina não afetou negativamente o crescimento micelial; para o isolado T4R, o crescimento micelial não foi reduzido por carboxina + tiram, propiconazol + trifloxistrobina, piraclostrobina, e metiram + piraclostrobina; o crescimento micelial do isolado T7R não foi prejudicado por carboxina + tiram e propiconazol + trifloxistrobina; o isolado TSV não teve o crescimento micelial reduzido por metiram + piraclostrobina, enquanto que o isolado T6R foi afetado negativamente por todos os fungicidas testados (PANDOLFO, 2007).

Para Silva (2011) o fungicida tiofanato metílico resultou em inibição do crescimento micelial de *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* e *T. viride*. Segundo Batista et al. (2002), todos os fungicidas testados (benomil, tiofanato metílico, prochloraz, carbendazim, e prochloraz + carbendazim) inibiram o crescimento micelial de *T. viride* TR2, *T. harzianum* T25, *T. koningii* T15 e *T. polysporum* Sn 11. Resende (2003) reportou que os fungicidas captana e fludioxonil afetaram negativamente o crescimento micelial de *T. harzianum*. O fungicida benomil resultou

em redução do crescimento micelial de cinco linhagens de *T. harzianum* (BOCCHESE et al., 2007). Silva et al. (1999) também constatou resultados negativos dos princípios benomil e iprodione nas concentrações de $25\mu\text{g mL}^{-1}$, para isolados de *T. harzianum* Tal8 e TMA4, e os isolados de *T. viride* Tal1.

Contudo, duas linhagens de *T. harzianum* (ESALQ 1306 e ESALQ 1316) não foram afetadas pelos fungicidas metalaxil-M + mancozebe, propinebe + iprovalicarbe, fenamidona, cloridrato de propamocarbe + fluopicolide, azoxistrobina, óxido cuproso, e iprodiona quando submetidas à metade da dose, à dose recomendada e ao dobro da dose destes fungicidas (LIMA, 2010).

Para metalaxil-M + fludioxonil, que atuam, respectivamente, sobre a transformação do DNA em RNA ribossomal, e sobre a osmose das células, provocando rompimento das mesmas (FRAC, 2017), a interferência é menor quando comparada ao efeito de piraclostrobina + tiofanato metílico. A piraclostrobina é responsável pela inibição da transportadora de elétrons quinona (FRAC, 2017), enzima presente na mitocôndria, implicando em uma diminuição na produção de ATP (adenosina tri-fosfato), sendo esta molécula responsável pela energia dos fungos e conseqüentemente o crescimento é afetado (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Estas informações corroboram os dados apresentados deste trabalho em que os princípios que agem sobre a produção de energia apresentam redução no crescimento micelial maior que aqueles princípios que agem sobre a função gênica ou osmose celular.

4.1.2 Esporulação

Para a esporulação, o efeito dos agrotóxicos foi similar àquele observado para o crescimento micelial. A testemunha de *T. asperellum* apresentou os maiores valores de esporulação comparada às outras testemunhas, com um total de $8,8 \times 10^5$ esporos mL^{-1} (Tabela 5). Contudo, *Trichoderma asperellum* apresentou a maior diferença, entendida como a redução da produção de conídios em relação a testemunha, entre os tratamentos. O tratamento com o produto Vitavax Thiram® causou redução de 85,8% na produção de esporos por este isolado em relação à ausência do agroquímico (Tabela 5).

Tabela 5 - Esporulação dos isolados de *Trichoderma* spp. em função dos produtos químicos de tratamentos de sementes incorporados ao meio.

Isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	ESPORULAÇÃO ($\times 10^5$ esporos mL ⁻¹)				
	Tratamento de sementes				
	Testemunha	Maxim XL®	Standak Top®	Cruiser®	Vitavax Thiram®
<i>T. harzianum</i> (produto)	5,525 bA	2,325 aD	2,800 aC	3,675 bB	1,650 aE
<i>T. harzianum</i> (solo)	4,550 cA	1,100 bC	2,625 aB	4,750 aA	1,200 bC
<i>T. asperellum</i>	8,825 aA	2,175 aC	2,225 bC	3,725 bB	1,250 bD
CV% = 8,57					

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O isolado de *T. harzianum* do solo não apresentou diferença significativa entre a testemunha e o produto Cruiser® (tiametoxam), sendo este o mesmo resultado encontrado para *Trichoderma harzianum* IBFL006 por Dias Neto (2014). Os valores de esporulação encontrados para o produto Maxim XL® (fludioxonil + metalaxil-M) tiveram uma redução significativa, chegando a 70%, na produção de esporos, mas não diferiram estatisticamente do produto Vitavax Thiram® (carboxina + tiram), enquanto Standak Top® (piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil) apresentou uma redução de 40% na produção de esporos do isolado (Tabela 5).

O produto Maxim XL (fludioxonil + metalaxil-M) ocasionou redução de aproximadamente 50% na esporulação de *T. harzianum* isolado de solo, enquanto para os outros dois isolados, os valores não diferiram estatisticamente. A esporulação de *Trichoderma harzianum* IBFL006, por outro lado, não foi afetada por Maxim XL® (fludioxonil + metalaxil-M), indicando esta linhagem biocontroladora como compatível (DIAS NETO, 2014).

Ribas (2010) indicou que a esporulação de cinco isolados de *Trichoderma* spp. aumentou na presença do fungicida captana. Para o fungicida tiofanato metílico a produção de conídios aumentou com o incremento da dose de princípio ativo (1-2 ppm); contudo, maiores concentrações resultaram em inibição da esporulação. Contudo, por terem afetado o crescimento micelial dos cinco isolados de *Trichoderma* spp., os princípios ativos carbendazim (fungicida), fluazinam e iprodiona (fungistáticos), obviamente não foram avaliados quanto à produção de conídios.

A resposta negativa na esporulação dos três isolados aos produtos contendo princípios ativos fungicidas deve-se ao fato de os mesmos atuarem sobre o processo vegetativo dos fungos, e de forma indireta sobre a esporulação.

4.2 RESPOSTA *IN VITRO* DOS ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. A HERBICIDAS

4.2.1 Crescimento micelial

Os isolados de *Trichoderma* spp. e os produtos químicos para dessecação de pré-emergência apresentaram interação significativa ($F_{crit} > F_{tab}$) a 5% de probabilidade. Para o crescimento micelial, não houve diferença significativa entre as testemunhas dos isolados, pois os três isolados alcançaram a borda da placa no terceiro dia (Tabela 6).

Tabela 6 - Crescimento radial dos isolados de *Trichoderma* spp. em função dos herbicidas de pré-emergência utilizados.

Isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	CRESCIMENTO MICELIAL (mm)		
	Testemunha	Herbicidas	
		Glyphosate	Paraquat
<i>T. harzianum</i> (produto)	80,00 aA	56,25 bB	58,75 bB
<i>T. harzianum</i> (solo)	80,00 aA	63,25 aB	62,00 aB
<i>T. asperellum</i>	80,00 aA	53,25 bB	50,75 cB
CV%= 3,19			

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Estes isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram resultados contundentes para a variável de crescimento micelial, sendo que a maior redução ocorreu no uso do produto paraquat sobre *T. asperellum*, com uma redução de 36,5% no crescimento micelial. As médias de crescimento para os três isolados não diferiram estatisticamente entre os tratamentos glyphosate e paraquat. Particularmente, *T. harzianum* isolado de solo teve o menor decréscimo no crescimento micelial frente aos dois herbicidas testados (Tabela 6).

T. polysporum e *T. viride* também demonstraram menor crescimento micelial na presença de glyphosate a partir de 1 ppm, sendo completamente inibidos na presença de 1000 ppm deste herbicida (TANNEY e HUTCHISON, 2010). O herbicida glyphosate, na dose recomendada, tendeu a reduzir o crescimento micelial de cinco isolados de *Trichoderma* spp.

(UFT 201, UFT 202, UFT 203, UFT 204, UFT 205), enquanto que o herbicida sulfentrazone tendeu a inibir o crescimento dos isolados UFT 201, UFT 203 e UFT 205 (RAMOS, 2016). Glyphosate (2000 ppm) reduziu o crescimento micelial de *T. harzianum* ThS12 em 53,3% em comparação à testemunha; no entanto, a aplicação de glyphosate em solo inoculado com esta linhagem não resultou em efeito sobre a população de *Trichoderma* spp. (ROLLÁN et al., 2007).

O crescimento micelial de *T. viride* foi completamente inibido por paraquat em doses iguais ou superiores a 0,1% (v v⁻¹), enquanto que glyphosate inibiu o crescimento micelial deste fungo em 76,4-79,5% em doses de 0,5-1,0%, respectivamente (MONDAY; EJIRO; SOLOMON, 2017). A sensibilidade ao paraquat foi também reportada para outra linhagem de *T. viride* (WILKINSON e LUCAS, 1969).

O glyphosate inibe a enzima EPSPS (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase), relacionada à rota de produção dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina, sendo que esta enzima também pode ser produzida por fungos (KRUSE; TREZZI; VIDAL, 2000). Já o paraquat atua sobre o fotossistema I (MARTINS, 2013), e devido o fungo não apresentar sistema autotrófico e fotossintetizante, o princípio ativo não o afeta diretamente.

Os isolados *Trichoderma* spp. AJAM 18, CE 66, TRI 01 e TRI 02 foram avaliados frente a outros herbicidas, especificamente pendimethalin, clomazone, carfentrazone-ethyl, oxadiazon, thiobencarb + propanil e byspiribac-sodium (REIS et al., 2013). Carfentrazone-ethyl e byspiribac-sodium demonstraram serem compatíveis com os isolados de *Trichoderma* spp. O oxadiazon diminuiu o crescimento micelial dos isolados AJAM 18 e TRI 01 em 66 e 35%, respectivamente; enquanto que reduziu em 16% o crescimento do isolado TRI 02 e não afetou o crescimento do isolado CE 66. A mistura thiobencarb + propanil apresentou toxicidade elevada frente aos isolados de *Trichoderma* spp., com reduções de aproximadamente 85% no crescimento micelial. O isolado TRI01 não foi afetado por clomazone, enquanto que os outros isolados apresentaram crescimento inferior (15-30%) em relação à testemunha. Para pendimethalin, a diminuição do crescimento micelial foi de 15% a 50% em relação à testemunha (REIS et al., 2013).

4.2.2 Esporulação

Para a variável esporulação, *T. harzianum* isolado de solo não apresentou diferença significativa entre a testemunha e os dois tratamentos. Já os isolados de produtos comerciais apresentaram redução significativa entre os tratamentos. O isolado de *T. harzianum* apresentou

a menor média de esporulação no tratamento com paraquat, enquanto a esporulação de *T. asperellum* foi reduzida em 60% no tratamento com glyphosate (Tabela 7).

Tabela 7 - Esporulação dos isolados de *Trichoderma* spp. em função dos herbicidas utilizados.

Isolados de <i>Trichoderma</i> spp.	ESPORULAÇÃO ($\times 10^5$ esporos mL ⁻¹)		
	Herbicidas pré-emergência		
	Testemunha	Glyphosate	Paraquat
<i>T. harzianum</i> (produto)	5,525 bA	3,300 bB	2,300 bC
<i>T. harzianum</i> (solo)	4,550 cA	4,150 aA	4,200 aA
<i>T. asperellum</i>	8,825 aA	3,275 bC	4,250 aB
CV%= 8,04			

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Ramos (2016) constatou que os herbicidas glyphosate e sulfentrazone reduziram a esporulação de cinco isolados de *Trichoderma* spp., entretanto de forma não significativa. Porém, alguns isolados podem apresentar resultados satisfatórios de esporulação quando alocados juntamente com herbicidas.

Glyphosate, na dose recomendada (4406 p.p.m.), embora tenha resultado em incremento (12,5%) do crescimento micelial de *Trichoderma atroviride* UEL 257, ocasionou redução de aproximadamente 40% na produção de esporos em relação à testemunha. Esta mesma linhagem, na presença de diuron + paraquat, teve tanto o crescimento micelial quanto a esporulação diminuída (27,9% e 17,3%, respectivamente) em relação à testemunha (SANTORO et al., 2014).

Trichoderma aggressivum (isolado de solo) teve a produção de esporos diminuída na presença de 93 e 187 ppm de paraquat em relação à testemunha, sendo que em concentrações superiores este isolado não apresentou sequer crescimento micelial. Para o isolado *T. spirale*, paraquat (93 ppm) incrementou a produção de esporos em relação à testemunha, mas não demonstrou crescimento vegetativo em concentrações mais elevadas (CUPUL et al., 2014).

Efeitos distintos foram detectados quanto à esporulação de quatro linhagens de *Trichoderma* spp. frente a diferentes herbicidas (REIS et al., 2013). Considerando 100% da dose recomendada e em relação à testemunha (sem herbicida), a produção de conídios por *Trichoderma* spp. TRI 01 foi inibida por carfentrazone-ethyl, pendimethalin, thiobencarb + propanil, oxadiazon e byspiribac-sodium, mas incrementada por clomazone. Para *Trichoderma*

spp. TRI 02, carfentrazone-ethyl, thiobencarb + propanil, oxadiazon e clomazone reduziram a produção de conídios, que foi elevada por byspiribac-sodium e pendimethalin.

O isolado *Trichoderma* spp. AJAM 18 teve a produção de conídios estimulada por carfentrazone-ethyl, thiobencarb + propanil e byspiribac-sodium em relação à testemunha sem herbicida, mas reduzida por pendimethalin, oxadiazon e clomazone. Já *Trichoderma* spp. CE 66 apresentou menor produção de esporos quando na presença de pendimethalin, clomazone e byspiribac-sodium e maior produção em meio de cultura contendo carfentrazone-ethyl, thiobencarb + propanil e clomazone (REIS et al., 2013).

4.3 CLASSIFICAÇÃO DE COMPATIBILIDADE

Após análise das variáveis crescimento vegetativo e esporulação, a fórmula desenvolvida por Alves et al. (1998) *apud* Dias Neto (2010) foi utilizada para averiguar a compatibilidade entre os agrotóxicos empregados os isolados de *Trichoderma* spp.. Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Classificação da compatibilidade entre agrotóxicos e *Trichoderma* spp.

Agrotóxicos	Isolados de <i>Trichoderma</i> spp.		
	<i>T. harzianum</i> (produto)	<i>T. harzianum</i> (solo)	<i>T. asperellum</i>
	Valor T	Valor T	Valor T
Maxim XL®	38.85	26.59	25.84
Standak Top®	44.86	48.78	22.98
Cruiser®	60.21	91.58	38.58
Vitavax Thiram®	29.82	29.67	16.20
Glyphosate	61.85	88.78	43.00
Paraquat	47.93	89.35	51.21

Sendo que:

	Muito tóxico
	Tóxico
	Moderadamente tóxico
	Compatível

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Os dois herbicidas (glyphosate e paraquat) e o inseticida Cruiser® (tiametoxan) apresentaram compatibilidade com *T. harzianum* isolado de solo, enquanto que o isolado de *T. harzianum* de produto comercial só apresentou compatibilidade com glyphosate. O isolado de *T. asperellum* não apresentou compatibilidade com nenhum produto testado, sendo que a

melhor classificação foi do produto paraquat, que foi moderadamente tóxico ao isolado. Os produtos Maxim XL® (fludioxonil + metalaxil-M) e Vitavax Thiram® (carboxina + tiram) foram muito tóxicos a todos os isolados, exceto para o *T. harzianum* de produto comercial (Tabela 8).

T. asperellum SF 04 e *T. asperellum* GF 422, *T. harzianum* (T12-1086G05) foram classificados como insensíveis aos fungicidas captana, tiram e metalaxil-M, compatíveis com tiofanato metílico, flutriafol e fluodioxonil, mas altamente sensíveis a carbendazim, tiabendazol e difenoconazol (ISHIZUKA, 2016).

Utilizando método similar ao empregado no presente estudo, Ribas (2010) verificou que os fungicidas carbendazim, fluazinam e iprodione foram muito tóxicos para *T. harzianum* TH11, *T. viride* TV21, *Trichoderma* spp. T04, *Trichoderma* spp. T16 e *Trichoderma* spp. T20. Captana mostrou-se moderadamente tóxica para o isolado T04 e tóxica para o isolado TV21, enquanto que tiofanato metílico foi compatível para os isolados T04, T16, T20 e *T. viride* TV21 (RIBAS, 2010).

Os resultados variados de compatibilidade podem representar as diferentes respostas dos isolados para cada produto testado. Este fato representa um ponto a ser explorado, para que se utilizem produtos químicos e biocontroladores que apresentem compatibilidade, tornando-se uma solução alternativa visando um sistema produtivo mais sustentável.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os diferentes isolados apresentam resultados variados conforme o produto utilizado. Os herbicidas RoundUp® (glyphosate) e Gramoxone® (paraquat) juntamente com o inseticida Cruiser® (tiametoxan) apresentaram compatibilidade com *T. harzianum* isolado de solo,

Os produtos de tratamento de sementes, contendo apenas fungicidas, apresentaram elevada toxicidade aos isolados, sendo classificados como incompatíveis. Em vista disso, pode ocorrer uma dificuldade na utilização do controle químico e biológico em concomitância dentro de um sistema de produção.

Estes resultados incitam a uma pesquisa mais aprofundada destes testes *in vivo*, para avaliação desta compatibilidade dentro do sistema solo, visto que tanto os isolados quanto os produtos apresentam uma resposta diferente no solo. Deve se considerar a degradação das moléculas dos produtos e a taxa de crescimento dos isolados, que podem interferir nas variáveis analisadas.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 04 nov. 2017.
- AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- BATISTA, D. C. et al. Efeitos de fungicidas inibindo o crescimento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e interferência com *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n. 4, p. 305-310, 2002.
- BETTIOL, W. et al. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. Cap. 3, p. 29-48.
- BOCCHESE, C. A. C. et al. Seleção de antagonistas para o controle biológico de *Botrytis cinerea* em tomateiro sob cultivo protegido. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 13, n. 1-2, p. 29-38, 2007.
- BRIGHENTI, A.; OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora, 2011. Cap. 1, p. 1-36.
- CARVALHO, D. D. C. et al. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 822-828, 2011.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 507-515, 2003.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: APS, 1983. 539p.
- COUTINHO, C. F. B. et al. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p.65-72, 2005.
- CUNHA, R. P. et al. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1761-1767, 2015.
- CUPUL, W. C. Toxicidad *in vitro* de los herbicidas atrazina y paraquat sobre el crecimiento vegetativo y la esporulación de hongos saprobios del suelo. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 30, n. 4, p. 393-406, 2014.

DA SILVA, A. C. F.; DA ROSA, C. R. E.; DE MELO, I. S.. Sensibilidade de isolados de *Trichoderma* spp. a benomil e iprodione. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p. 395-399, 1999.

DE MARCHI, J. L. et al. Relação entre danos mecânicos, tratamento fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 3, p. 351-358, 2010.

DE MELLO, S. C. M. et al. Avaliação do efeito de pesticidas no crescimento micelial de *Cercospora caricis*. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2003.

DE SOUSA, T. G.; BLUM, L. E. B. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. **Bioscience Journal**, v. 29, supl. 1, p. 1616-1623, 2013.

DIAS NETO, J. A. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematoides na cultura da soja**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, 2014.

EMBRAPA. **Calibra**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. *Software*. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/1681/calibra---software-calibra---software-para-contagem-de-esporos-microbianos-e-calibracao-de-suspensao-calibra>>. Acesso em: 12 mai. 2017.

ETHUR, L. Z. et al. Presença dos gêneros *Trichoderma* e *Fusarium* em solo rizosférico e não rizosférico cultivado com tomateiro e pepineiro, em horta e estufa. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 19-26, 2008.

FAO. **The world agricultural production**. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 23 abr. 2017.

FARIA, A. B. C. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 345-358, 2009.

FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE – FRAC (Brasil). **Modo de ação de fungicidas**. Disponível em: <<http://www.frac-br.org/modo-de-acao>>. Acesso em: 06 nov. 2017.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.

GÖRGEN, C. A. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

HARMAN, G. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4: p. 376-393, 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C. B. et al. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?&t=downloads>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

ISHIZUKA, M. S. **Compatibilidade entre tratamentos químico e biológico de sementes de feijão para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2016. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Fitopatologia). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2016.

KANETIS, L et al. Characterization of genetic and biochemical mechanisms of fludioxonil and pyrimethanil resistance in field isolates of *Penicillium digitatum*. **Phytopathology**, v. 98, n. 2, p. 205-214, 2008.

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

LASCA, C. C. et al. Efeito do tratamento químico de sementes de milho sobre a emergência e a produção. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 461-468, 2005.

LIMA, T. M. **Estudos in vitro e in vivo de alternativas químicas e biológicas para o manejo integrado de damping-off (*Pythium* spp.) em mudas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)**. 2010. 85 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A. M.; CARVALHO, D. D de. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. Circular técnica, 85.

LOHMANN, T. R. et al. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. **Cadernos de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1665-1668, 2007.

LUCON, C.M.M. ***Trichoderma* no controle de doenças causadas por patógenos de solo**. São Paulo: Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, 2008. Disponível em: < <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos-tecnicos/comunicados-tecnicos/trichoderma-no-controle-de-doencas-de-plantas-causadas-por-patogenos-de-solo>>. Acesso em: 20 out. 2017.

LUZ, W. C. Avaliação dos tratamentos biológico e químico na redução de patógenos em semente de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, 2003.

MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de Cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das agriculturas no mundo. Do Neolítico à crise contemporânea**. São Paulo: Editora UNESP, 2008.

MBARGA, J. B. et al. *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. **Crop Protection**, v. 36, p. 18-22, 2012.

MENEZES, E. L. A. **Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003.

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, p. 13-18, 2009.

MICHEREFF, S. J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE Imprensa Universitária, 2005. Cap 1, p. 1-18.

MILANESI, P. M. et al. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 347-356, 2013b.

MILANESI, P. M. et al. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, supl. 1, p. 3219-3234, 2013a.

MONDAY, U.; EJIRO, A.; SOLOMON, O. D. *In vitro* evaluation of growth inhibition of some common soil fungi by selective and non-selective herbicides. **Frontiers in Environmental Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2017.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. Cap. 1, 7-14.

OECD/FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015**. Paris: OECD Publishing, 2015.

OLIVEIRA JR., R. S. Introdução ao controle químico. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora, 2011. Cap. 6, p. 125-140.

PANDOLFO, J. D. **Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PATRÍCIO, F. R. A. et al. Efeito da solarização do solo, seguida pela aplicação de *Trichoderma spp.* ou de fungicidas, sobre o controle de *Pythium aphanidermatum* e de *Rhizoctonia solani* AG-4. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 142-146, 2007.

RAMOS, A. C. C. **Ação de herbicidas sob *Trichoderma* e eficiência da inoculação em mudas de mamão**. 2016. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2016.

REIS, M. R. et al. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma spp.* **Planta Daninha**, v. 31, n. 2, p. 419-426, 2013.

RESENDE, M. L. **Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum*, tratamento fungicida e adubação nitrogenada na cultura do milho**. 2003. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

RIBAS, P. P. **Compatibilidade de *Trichoderma ssp.* a princípios ativos de fungicidas comerciais aplicados na cultura do feijão**. 2010. 104 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

RIBEIRO, T. S. **O fungo *Trichoderma ssp.* no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas**. 2009. 35 f. Monografia (Especialização em Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado de Pragas e Doenças de Plantas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ROLLÁN, M. C. et al. Effects of post-emergent herbicides on *Trichoderma harzianum*, a potential biocontrol agent against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean cropping. **Acta Agronomica Hungarica**, v. 55, n. 3, p. 355-362, 2007.

SAITO, L. R. et al. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma spp.* no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 2, n. 3, p. 203-208, 2009.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.

SAMUELS, G. J., LIECKFELDT, E.; NIRENBERG, H. I. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. **Sydowia**, v. 51, n. 1, p. 71-88, 1999.

SANTORO, P. E. et al. *In vitro* sensitivity of antagonistic *Trichoderma atroviride* to herbicides. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 2, p. 238-243, 2014.

SANTOS, J. B. et al. Época de dessecação anterior à semeadura sobre o desenvolvimento da soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 869-875, 2007.

SANTOS-VILLALOBOS, S. et al. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). **Biological Control**, v. 64, n. 1, p. 37-44, 2013.

SILVA, A. N. **Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro**. 2011. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2011.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. **Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 305-312, 2005.

SOARES, W. L. **Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura**. 2010. 150 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

SOUZA, A. M. et al. Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, supl. 1, p. 190S-199S, 2013.

SPADOTTO, C. A. et al. Determinação do período crítico para prevenção da interferência de plantas daninhas na cultura de soja: uso do modelo "broken-stick". **Planta Daninha**, v. 12, n. 2, p. 59-62, 1994.

STAMFORD, N. P. et al. Microbiota dos solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE Imprensa Universitária, 2005. Cap 4, p. 61-91.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 2013. 918 p.

TANNEY, J. B.; HUTCHISON, L. J. The effects of glyphosate on the *in vitro* linear growth of selected microfungi from a boreal forest soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 138-144, 2010.

TEIXEIRA, J. C. Modernização da agricultura no Brasil: impactos econômicos, sociais e ambientais. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros**, v. 2, n. 2, p. 21-42, 2005.

VARGAS, L. et al. Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil: histórico, distribuição, impacto econômico, manejo e prevenção. In: **A era glyphosate**. Lodrina: Embrapa Trigo, 2016. cap 20, p. 219-239.

WILKINSON, V.; LUCAS, R. L. Effects of herbicides on the growth of soil fungi. **New Phytologist**, v. 68, n. 3, p. 709-719, 1969.