



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS DE CERRO LARGO

CURSO DE AGRONOMIA

EDUARDO LANG FENNER

**BIOCONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA E DA PODRIDÃO VERMELHA DA
RAIZ, EM SOJA, UTILIZANDO DIFERENTES TRATAMENTOS BIOLÓGICOS
NAS SEMENTES**

CERRO LARGO

2017

EDUARDO LANG FENNER

**BIOCONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA E DA PODRIDÃO VERMELHA DA
RAIZ, EM SOJA, UTILIZANDO DIFERENTES TRATAMENTOS BIOLÓGICOS
NAS SEMENTES**

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^ª. Juliane Ludwig

CERRO LARGO

2017

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

Fenner, Eduardo Lang
BIOCONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA E DA PODRIDÃO
VERMELHA DA RAIZ, EM SOJA, UTILIZANDO DIFERENTES
TRATAMENTOS BIOLÓGICOS NAS SEMENTES/ Eduardo Lang
Fenner. -- 2017.
44 f.:il.

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

1. BIOCONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA E DA PODRIDÃO
VERMELHA DA RAIZ. I. Ludwig, Juliane, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

EDUARDO LANG FENNER

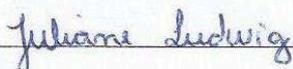
**BIOCONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA E DA PODRIDÃO VERMELHA
DA RAIZ, EM SOJA, UTILIZANDO DIFERENTES TRATAMENTOS
BIOLÓGICOS NAS SEMENTES**

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

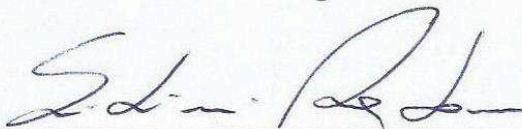
Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Juliane Ludwig

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 04/12/2017

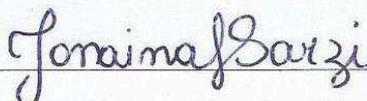
BANCA EXAMINADORA



Prof^ª Dr^ª Juliane Ludwig- UFFS



Prof^º Dr^º Sidinei Zwick Radons- UFFS



Eng. Agron. Janaina Silva Sarzi

RESUMO

A soja (*Glycine max*) figura como principal grão oleaginoso cultivado no mundo, e o Brasil ocupa a segunda posição entre os países produtores. No entanto muitos fatores afetam a obtenção de ganhos ainda mais significativos com a cultura, onde as doenças ocupam posição de destaque, especialmente a ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) e a podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani*). Sendo assim altas cargas de fungicidas são aplicadas tentando minimizar as perdas, no entanto, resultados associados ao uso do controle biológico dessas doenças podem se mostrar promissores. Diante disso, foi objetivo do presente trabalho verificar o potencial de controle da ferrugem asiática e da podridão vermelha da raiz em plantas de soja, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos a base de *Trichoderma asperellum*, *Bacillus* spp. e *Azospirillum brasilense*, isoladamente ou em mistura. Para tanto, sementes de soja da cultivar BMX Magna RR foram submetidas aos seguintes tratamentos biológicos T1: *Azospirillum brasilense* (SimbioseMaíz[®]) na dose de 4000 ml por 100Kg de sementes; T2: *Trichoderma asperellum* (Quality[®] WG) na dose de 200g por 100Kg de sementes; T3: *Bacillus* spp. (selecionado por Rohrig (2016)) na concentração de $1,5 \times 10^9$ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*. Além disso, foi utilizado um tratamento testemunha (T7), onde as sementes não receberam nenhum tratamento. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 7 tratamentos e 4 repetições. Foram realizadas avaliações com relação a severidade das doenças bem como medições na parte aérea e radicular das plantas. Observou-se que os microorganismos em mistura foram mais eficientes, tanto no bicontrolado quanto na promoção do crescimento, para ambos os fungos, na maioria das variáveis avaliadas. Mais estudos com os tratamentos mais eficientes são necessários, visando verificar a estabilidade de controle desses microorganismos.

ABSTRACT

Soya (*Glycine max*) is the main oil crop grown in the world, and Brazil ranks second among the producing countries. However many factors affect the achievement of even more significant gains with the crop, where diseases occupy a prominent position, especially Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) and red root rot (*Fusarium solani*). Thus high loads of fungicides are applied to minimize losses, however, results associated with the use of biological control of these diseases may be promising. The objective of this work was to verify the potential of control of Asian rust and red root rot in soybean plants, whose seeds were submitted to different biological treatments based on *Trichoderma asperellum*, *Bacillus* spp. and *Azospirillum brasilense*, alone or in admixture. For this purpose, soybean seeds of the cultivar BMX Magna RR were submitted to the following biological treatments T1: *Azospirillum brasilense* (SimbioseMaíz®) at the dose of 4000 ml per 100 kg of seeds; T2: *Trichoderma asperellum* (Quality® WG) at the dose of 200g per 100 kg of seeds; T3: *Bacillus* spp. (selected by Rohrig (2016)) at the concentration of 1.5×10^9 colony forming units (CFU) per mL; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp .; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*. In addition, a control treatment (T7) was used, where the seeds received no treatment. The design was completely randomized (DIC) with 7 treatments and 4 replicates. Evaluations were made regarding the severity of the diseases as well as measurements on the aerial part and the radicular of the plants. It was observed that the microorganisms in the mixture were more efficient, both in the control and in the promotion of growth, for both fungi, in the majority of the evaluated variables. Further studies with the most efficient treatments are necessary, in order to verify the control stability of these microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escala diagramática para severidade de Ferrugem Asiática em soja (porcentagem de doença por área foliar), causada pelo fungo <i>Phakopsora pachyrhizi</i>	25
Figura 2. Escala de notas de 1 a 5, para determinação de severidade de PVR em soja, causada pelo fungo <i>F. solani</i> , adaptada de Huang; Hartman (1998).	26
Figura 3. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da ferrugem asiática em plantas de soja, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.	28
Figura 4. Comprimento de raízes de plantas de soja inoculadas com <i>P. pachyrhizi</i> , cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.....	30
Figura 5. Altura da parte aérea de plantas de soja inoculadas com <i>P. pachyrhizi</i> , cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.	30
Figura 6. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão vermelha da raiz em plantas de soja, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.	31
Figura 7. Comprimento de raízes de plantas de soja inoculadas com <i>F. solani</i> , cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.	33
Figura 8. Altura da parte aérea de plantas de soja inoculadas com <i>F. solani</i> , cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.	34

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 CULTURA DA SOJA	11
2.2 PRINCIPAIS DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA	14
2.2.1 Ferrugem asiática da soja (<i>Phakopsora pachyrhizi</i>)	17
2.2.2 Podridão vermelha da raiz (<i>Fusarium solani</i>).....	18
2.3 MECANISMOS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS	19
2.3.1 <i>Trichoderma</i> spp.	21
2.3.2 <i>Azospirillum</i> spp.....	21
2.3.3 <i>Bacillus</i> spp.	22
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Ensaios inoculados com <i>P. pachyrhizi</i> (Ferrugem Asiática)	24
3.2 Ensaios inoculados com <i>F. solani</i> (Podridão Vermelha da Raiz).....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) está difundida no mundo inteiro, tendo grande importância econômica. No Brasil é o carro chefe da produção e vem ganhando ainda mais espaço pelo alto valor de mercado e diferente gama de produtos gerados a partir de seus grãos. No país, foi produzido o montante de 113,923 milhões de toneladas da oleaginosa na safra 2016/2017 (CONAB, 2017). O complexo da soja possui grande poder de geração de renda e empregos, nos mais variados setores da cadeia produtiva. Atualmente, o Brasil está no posto de maior exportador de soja no cenário mundial, ficando atrás dos EUA apenas no quesito produtividade (FIESP, 2017).

A soja possui vários entraves que a impedem de alcançar seu potencial máximo à campo, dentre os quais destaca-se fatores meteorológicos e de fertilidade do solo. Muito embora esses fatores interfiram na produção e estabelecimento da cultura, os maiores responsáveis pelas frustrações de produtividade são as plantas daninhas, pragas e doenças, onde algumas delas podem causar perdas totais na produção. As doenças consideradas com maior potencial de perda e de manejo mais complicado, com destaque para a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e para a podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani*). Para essas doenças, a principal alternativa ainda é o controle químico, mas este perde sua efetividade após usos consecutivos podendo gerar resistência do patógeno.

Diante disso, e sob pressão da população consumidora que busca cada vez mais por produtos livres de agrotóxicos, surgem técnicas alternativas de controle, sendo o controle biológico aquele que mais ganha força e mostra os melhores resultados em pesquisas de laboratório e a campo. Os bioprotetores apresentam-se como uma tecnologia alternativa para o controle de fitopatógenos, reduzindo o uso excessivo de fungicidas e atuando na proteção do consumidor e do meio ambiente bem como no desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável (LUZ, 2001). Dessa forma, é possível mitigar diversos problemas como contaminação dos alimentos do solo, da água e dos animais, além da possibilidade de intoxicação de agricultores, desequilíbrios biológicos e a redução da biodiversidade (MORANDI; BETTIOL, 2009).

Frente a essa necessidade, aparecem gêneros amplamente conhecidos: *Trichoderma*, *Bacillus* e *Azospirillum*. Esses bioagentes podem atuar no controle de doenças, com resultados iguais ou superiores ao uso do controle químico (MACHADO et al., 2012; LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010; BASHAN; BASHAN, 2010).

Este trabalho objetivou verificar o potencial de uso dos microorganismos em questão no controle da ferrugem asiática e da podridão vermelha da raiz em plantas de soja. As sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos a base de *Trichoderma asperellum*, *Bacillus* spp. e *Azospirillum brasilense*, isoladamente ou em mistura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DA SOJA

A soja (*Glycine max*) figura como principal grão oleaginoso cultivado no mundo, e o Brasil ocupa a segunda posição entre os países produtores, com claras indicações de que será o primeiro no decorrer dos próximos anos, dadas as limitações de área para expansão nos demais países produtores e pelo domínio tecnológico que o Brasil possui para produzir em regiões tropicais com baixas latitudes (DALL'AGNOL et al., 2007).

É evidente a mudança do cenário econômico do país em torno do complexo da soja, uma vez que, entre 1990 e 2000 a soja representava cerca de 30% das exportações agrícolas brasileiras, correspondendo a 10% do valor total. Em 2004 o país passou a ser o maior exportador de soja, tanto em grãos quanto em derivados, considerando os percentuais de valor (SAMPAIO, 2011).

A importância da soja reside no fato de que, depois de triturada, resulta em farelo e óleo. O primeiro, por possuir altos teores de proteína, é destinado à alimentação animal. Já o óleo de soja tem maior utilização na dieta humana (BRUM et al., 2005).

Em 2003 o agronegócio brasileiro movimentou mais de R\$ 500 bilhões de reais, registrando um aumento de 6,4% em relação ao ano anterior, que representou cerca de 36,4% do PIB nacional). No cenário nacional o consumo de soja apresentou um aumento de 8,1% ao ano entre 1990 e 2005, superando até mesmo o crescimento da oferta, de 7,8% no mesmo período (PINAZZA, 2007).

De acordo com Brum et al. (2005), a economia da soja pode ser confundida com o próprio processo de modernização da agricultura brasileira, pois a mesma assumiu uma importância tão grande que deu início às discussões sobre pesquisa, tecnologia, agroindústria, cadeias produtivas e infraestrutura, que, conseqüentemente, expandiu-se para as demais culturas produzidas no país.

Na safra 2016/2017 a produção mundial do grão foi de 351,311 milhões de toneladas em uma área total de 120,958 milhões de hectares (USDA, 2017). No Brasil a produção da soja alcançou a marca de 113,923 milhões de toneladas, ficando com o posto de segundo maior produtor mundial, atrás apenas dos Estados Unidos que produziram quatro milhões de toneladas a mais que o Brasil. O Rio Grande do Sul foi o terceiro estado brasileiro em

produtividade no referente ano/safra, com 18,714 milhões de toneladas em 5,570 milhões de hectares, ficando atrás do Mato Grosso e Paraná (CONAB, 2017).

Apesar desses números elevados em termos de produção e produtividade no mundo e no país, a soja tem como principal entrave para expressar seu potencial máximo, fatores de ambiente. Dentre esses, destaca-se o clima, a temperatura, a disponibilidade hídrica e o fotoperíodo como aqueles que mais prejudicam o rendimento da soja (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

No que se refere a temperatura, o ideal para o pleno desenvolvimento da soja é que esta variável permaneça entre 20 e 30°C. É recomendado que a semeadura seja realizada com temperaturas acima dos 20°C, para que a germinação e emergência não sejam comprometidas. A floração da soja ocorre apenas se as temperaturas forem maiores que 13°C (EMBRAPA, 2011). Temperaturas elevadas podem acarretar adiantamento da maturação das plantas, enquanto que as baixas temperaturas no final do ciclo podem atrasar a colheita (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

A época de florescimento da soja é de suma importância para a produtividade, pois afeta o equilíbrio entre crescimento vegetativo e reprodutivo. O florescimento precoce, influenciado pelo fotoperíodo, afeta o número de ramos e folhas, e, diminui o número de nós onde as flores serão inseridas. Em contra partida, o crescimento vegetativo ocorre de forma exagerada quando a floração é tardia (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005). Mas, graças aos avanços genéticos e a elevada diversidade de cultivares no mercado, a soja pode ser cultivada em diversas regiões com disponibilidade de fotoperíodo bastante diversificados, cada qual com o cultivar mais adaptado. Sendo uma planta de dias curtos, a adaptabilidade das cultivares varia, ou seja, como a proximidade da linha do Equador apresenta uma menor amplitude fotoperiódica ao longo do ano, a solução é a utilização do período juvenil longo (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007). Durante essa fase mesmo sendo submetida à fotoperíodo curto a soja não é induzida a florescer, aumentando o crescimento vegetativo (ALMEIDA et al., 1999).

Mesmo possuindo um alto conhecimento a respeito do cultivo da soja, com elevada tecnificação das lavouras, a disponibilidade hídrica, principalmente na fase de crescimento da planta, é responsável por boa parte das limitações de produtividade da cultura (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007). Assim como o déficit hídrico afeta a soja, a mesma não tolera solos encharcados por períodos muito prolongados (THEISEN et al., 2009). Para uma boa germinação, a semente de soja precisa absorver 50% de seu peso em água

(LANTMANN, 2014), e dentro de 7 a 10 dias após a semeadura deve ocorrer a emergência das plântulas (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005). Para uma boa produção, a soja requer de 450mm a 700mm de água, dependendo das condições climáticas do local (DOORENBOS et al., 1979).

No que se refere ao manejo do solo, esse deve assegurar a manutenção da capacidade do mesmo em exercer suas funções físicas para ancoragem e crescimento das raízes, e, também auxiliar no suprimento de água, nutrientes e CO² para as plantas (BLAINSKI et al., 2008). Quanto às necessidades nutricionais das plantas de soja, apesar da alta necessidade de nitrogênio (N) para formar proteínas, a cultura não necessita de adubação nitrogenada mineral, uma vez que a fixação biológica de N supre essas necessidades (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). Já para fósforo (P) e potássio (K) deve-se, depois de realizada a análise das amostras de solo, seguir valores de tabela de acordo com as características de solo de cada área (SALVADORI et al., 2016). Além dos nutrientes essenciais, N,P,K, a soja ainda requer outros nutrientes, menos prioritários mas que auxiliam no incremento da produtividade, como é o caso do enxofre (S), retirado do solo à proporção de 8,2Kg para cada tonelada de grão de soja (SFREDO; LANTMANN, 2007).

Para a soja expressar seu máximo potencial produtivo, não são apenas as condições climáticas, de preparo do solo e nutrição que devem ser favoráveis. É necessário, ainda, que seja realizado o manejo correto das plantas daninhas, das pragas e das doenças. Pensando na associação de todos esses atributos, o melhoramento genético, ao dispor cultivares que possuem característica de resistência a fatores bióticos e abióticos, confere maior segurança à produção sem custo adicional ao produtor (TOLEDO et al., 1990). Embora muito eficiente, o melhoramento genético não garante 100% de eficácia e altos valores de produção, por isso, deve ser utilizado em associação a outras práticas. Por exemplo, cultivares com resistência parcial à ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) devem possuir genes de ciclo precoce que diminuirão o tempo em que a cultura ficará exposta à doença. Ambas as características conferem uma eficiência muito maior no controle e prevenção da ferrugem do que quando encontradas separadamente em uma cultivar (SILVA; JULIATTI; SILVA, 2007).

Dentre os principais fatores bióticos que causam injúrias a cultura da soja encontramos as plantas daninhas, pragas e doenças. Segundo Blanco et al. (1973, apud CARVALHO; VELINI, 2001), as plantas daninhas, pragas e doenças causam perdas na produtividade mundial dos grãos de soja na ordem de 13%, 5% e 11%, respectivamente.

As plantas daninhas ocorrem espontaneamente nas áreas utilizadas como lavoura, prejudicando o desenvolvimento normal das culturas cultivadas na mesma (VIDAL; FLECK; MEROTTO, 2005). Estas plantas interferem no desenvolvimento das culturas de forma variável de acordo com a época de ocorrência, tamanho de população e espécie em questão. A queda da produtividade é acentuada quando há grande infestação de plantas daninhas nos estádios iniciais de desenvolvimento da soja (ZAGONEL; VENÂNCIO; KUNZ, 2000), sendo que as espécies gramíneas apresentam maior potencial de causar danos à soja em relação às dicotiledôneas, cuja perda de produção pode atingir, em média, 37% da produtividade (FLECK; CANDEMIL, 1995). Visando a redução dos danos ocasionados pelas plantas daninhas, o ideal é que se use o Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD), o qual objetiva a diminuição das populações a níveis que não sejam prejudiciais ao desenvolvimento da cultura e sua produtividade (PITELLI, 1987).

No que tange as pragas, a cultura da soja está sujeita a ataques da germinação até a colheita (DEGRANDE; VIVAN, 2007). Percevejos e lagartas desfolhadoras são consideradas pragas chave da cultura da soja (DEGRANDE; VIVAN, 2007), sendo facilmente controlados por entomopatógenos e microhimenópteros, respectivamente. No entanto, a utilização de inseticidas acaba por eliminar alguns destes microorganismos benéficos, o que pode ocasionar em aumento dessas pragas após o efeito do inseticida (ROSSETTO; LOURENÇÃO; IGUE, 1984). O Manejo Integrado de Pragas (MIP) visa à utilização de controle biológico combinado com demais práticas, como utilização de cultivar resistente, manejo de solo, rotação de culturas, medidas sanitárias e utilização de inseticidas que se enquadram no MIP (DEGRANDE; VIVAN, 2007).

Quanto às doenças, cerca de 40 já foram identificadas no Brasil, sendo elas causadas por fungos, bactérias, vírus ou nematoides (HENNING, 2009). A expansão da cultura para novas áreas e seu sucessivo melhoramento com foco em produtividade, bem como a monocultura, contribuem para o estabelecimento de novos patógenos na cultura (FINOTO et al., 2011), sendo que alguns podem causar danos que chegam a 100% (EMBRAPA, 2010).

Para a ocorrência de doenças são necessários três fatores, a presença do patógeno no local, o hospedeiro suscetível e as condições climáticas favoráveis para o agente causador da enfermidade (GRIGOLLI, 2013).

2.2 PRINCIPAIS DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA

Atualmente as doenças mais comuns na cultura da soja são a antracnose, o crestamento foliar de cercospora, a mancha alvo, o oídio, o míldio, a podridão negra da raiz (ou podridão de carvão), as galhas de nematoides, a ferrugem asiática e a podridão vermelha da raiz (HENNING, 2009).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, é beneficiada por elevadas precipitações acompanhadas de altas temperaturas, afetando a formação de vagens e causando retenção foliar e hastes verdes no momento da colheita (GALLI; PANIZZI; VIEIRA, 2006). Uso de sementes infectadas e deficiência, principalmente de potássio, contribuem para uma maior severidade da doença (GODOY et al., 2014). Para seu controle, se destaca a rotação de culturas com plantas não hospedeiras e um maior espaçamento entre linhas para favorecer a arejamento da lavoura (GRIGOLLI, 2013), acompanhado de tratamento nas sementes, que apesar de não erradicar o fungo contribuiu para a emergência das plântulas (GOULART, 1991).

Causada pelo fungo *Cercospora kikuchii*, o crestamento foliar de cercospora, é favorecido em condições de alta temperatura e umidade (GODOY et al., 2014), ocorrendo com maior intensidade no fim da granação (KLINGELFUSS; YORINORI, 2001). A doença provoca manchas arroxeadas nas sementes, mas não afeta o poder germinativo das mesmas (GALLI et al., 2005). As lesões são observadas em todas as partes das plantas e é a partir da vagem que a mesma atinge as sementes (HENNING et al., 2005). Como o fungo sobrevive em restos culturais a rotação de cultura é imprescindível para redução do inóculo na área, assim como a aplicação de fungicidas recomendados (GODOY et al., 2014).

A mancha alvo é causada pelo fungo *Corynespora cassiicola* que sobrevive em restos culturais e sementes. A infecção das folhas é favorecida por alta umidade relativa e temperaturas elevadas (GODOY et al., 2014) e o sintoma mais comum é a desfolha causada por lesões de pontuação negra ao centro e halo amarelado (GRIGOLLI, 2013). Apesar de ser uma doença bastante disseminada e sua importância na sojicultura continuar crescendo, causa danos à produtividade apenas quando atinge níveis de severidade superiores a 30% (GRIGOLLI, 2013). As melhores estratégias para o controle da doença vêm da utilização de sementes tratadas, cultivares resistentes e rotação de culturas com gramíneas para a eliminação de restos culturais (HENNING et al., 2005).

A doença conhecida como oídio, causada pelo fungo *Microspora difusa*, pode atacar a planta em qualquer estágio de desenvolvimento, sendo favorecida por condições de baixa umidade e temperaturas em torno de 18°C e 24°C (GODOY et al., 2014). Quando na

superfície da folha, o fungo germina produzindo uma camada de micélio acinzentada, permitindo a identificação da doença. Em ataques mais severos ocorre a diminuição da área fotossintética e queda prematura das folhas (YORINORI, 1997). Para o controle, acabam sendo utilizadas cultivares resistentes (HENNING et al., 2005), embora a utilização de fungicidas triazóis e estrubilurinas, utilizadas no controle de ferrugem asiática, exerceram, de forma automática, o controle de oídio (HENNING, 2009).

O míldio, causado por *Peronospora manshurica*, é favorecido, principalmente na fase vegetativa, por umidade elevada e temperaturas amenas, e, introduzida em áreas de cultivo pela ação do vento, que carrega seus esporos (GODOY et al., 2014). As manchas verde-claras, sintoma típico da doença, evoluem para uma cor amarelada e quando observadas na vagem causam danos as sementes (HENNING et al., 2005), que perdem seu brilho e suavidade, tornando-se opacas e ásperas, além de trazerem um aspecto pulverulento, devido a crosta de oosporos (REIS; DANELLI; CASA, 2010). Devido aos fungicidas comumente utilizados não terem efeito sobre essa doença, (GODOY et al., 2014) aliado ao fato do uso de cultivares suscetíveis ao patógeno, o controle específico para o míldio é totalmente negligenciado na cultura (TECNOLOGIAS, 2008).

Causada por um fungo habitante natural dos solos, *Macrophomina phaseolina*, a podridão de carvão da raiz, está presente em todas as áreas de cultivo (HENNING, 2009), e sua severidade está diretamente ligada a condições de déficit hídrico e temperatura do solo (ALMEIDA et al., 2001), ocasionados por veranicos (GRIGOLLI, 2013). A principal fonte de inóculo da doença são os microesclerócios, que podem permanecer por anos no solo (ALMEIDA et al., 2001). Seus primeiros sintomas podem ser observados com o aparecimento de folhas cloróticas, que secam, mas permanecem aderidas ao pecíolo, além de apresentar lesões marrom-avermelhadas no colo da planta (GODOY et al., 2014). Por não possuir controle químico tampouco variedades “resistentes”, o manejo deve ser feito com a rotação de culturas sendo que a utilização de cultivares que suportam condições de déficit hídrico e realização de escarificação em solos compactados também contribuem na redução dos danos dessa doença (GRIGOLLI, 2013; HENNING et al., 2005).

Com relação aos nematoides, espécies de *Meloidogyne*, causadoras de galhas nas raízes, parasitam um grande número de plantas, incluindo daninhas, fato esse dificulta seu controle. Em condições de temperatura adequada, podem completar seu ciclo em apenas três semanas (GODOY et al., 2014). Plantas atacadas apresentam necroses entre as nervuras ou manchas cloróticas, distribuídas em reboleiras na lavoura. Pode ocorrer intenso abortamento

de vagens e amadurecimento precoce (HENNING et al., 2005). O método mais eficaz de controle é a rotação de culturas juntamente com a utilização de variedade resistente. A semeadura direta contribui para o controle do nematoide (GODOY et al., 2014).

Considerando as dificuldades de controle e os danos causados, a ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) e a podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani*) podem ser consideradas as principais doenças da cultura.

2.2.1 Ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*)

O fungo causador da ferrugem asiática da soja (FAS), *Phakopsora pachyrhizi*, é biotrófico, por conta disso sobrevive apenas em tecidos vegetais vivos (ARAÚJO, 2009). Atualmente, é considerada a principal doença associada a diminuição na produtividade da soja, devido a sua alta taxa de progressão e diminuição da área fotossintética causada pela desfolha precoce (CARVALHO, 2010). A FAS é uma doença relativamente nova para o Brasil e demais países da América do Sul, tendo seu aparecimento registrado na safra 1999/2000 (YORINORI; LAZZAROTTO, 2004). Em um período de dez anos, a estimativa é de que a FAS tenha causado prejuízos na ordem de 16 bilhões de dólares apenas na América do Sul, incluindo perdas na produtividade e gastos operacionais para aplicações e fungicidas (LIMA et al., 2012).

Na Bahia, por exemplo, foram registradas perdas de 90%, inviabilizando até mesmo a colheita, o que poderia ter sido evitado com o diagnóstico precoce e a realização do controle (ARAÚJO, 2009), portanto o acompanhamento na lavoura é imprescindível para se evitar tais perdas. Os sintomas podem ser observados em qualquer estágio da planta, embora sejam mais frequentes do início da floração até o enchimento de grãos. As lesões que iniciam em tom verde-acinzentado acabam se tornando marrom-avermelhadas (UGALDE, 2005). Na face abaxial da folha, observam-se as pústulas que se rompem e liberam os uredósporos (OLIVEIRA; GODOY; MARTINS, 2005), que são facilmente disseminados pelo vento, atacando outras plantas e lavouras (ARAÚJO, 2009).

Todos os processos do ciclo da relação patógeno-hospedeiro são estreitamente influenciados por fatores abióticos (ALVES et al., 2007). A penetração ocorre diretamente através da cutícula das folhas da soja (ARAÚJO, 2009) e a infecção ocorre com umidade relativa em torno de 75% e temperaturas entre 15°C e 28°C (GRIGOLLI, 2013), acompanhado por molhamento foliar de, no mínimo, seis horas (HENNING et al., 2005). O

cultivo de soja irrigada no Centro-Oeste do país vem contribuindo para a disseminação da FAS (ARAÚJO, 2009), assim como as plantas hospedeiras, que hoje somam 87 espécies, em 40 gêneros (ANDRADE; ANDRADE, 2002). O kudzú (*Pueraria lobata*) é o principal hospedeiro para a sobrevivência do fungo *P. pachyrhizi* no período de inverno (PARK et al., 2008).

O controle dessa doença se inicia com o manejo da cultura, onde se deve buscar semeadura antecipada, no início da época indicada para soja na região, além da utilização de cultivares precoces, a fim de evitar a grande carga de esporos que as urédias produzem no fim do ciclo (YORINORI; NUNES JÚNIOR; LAZZAROTTO, 2004). Cultivares resistentes, popularmente chamadas de Soja Inox (FREITAS, 2011), são na verdade, tolerantes ao fungo *P. pachyrhizi*. Em estudos realizados por Siqueri et al. (2011), a cultivar inox TMG 803 demonstrou uma menor intensidade de infestação quando comparada a variedade suscetível MSOY-8866. Esses mesmos autores alertam que, apesar dos resultados terem se mostrado satisfatórios, há a possibilidade de quebra da resistência devido a grande variabilidade do fungo, uma vez que já foram identificadas dezoito raças do patógeno (YAMAOKA et al., 2002).

Antes da entrada da Soja Inox no mercado o controle químico era a única medida de controle para a ferrugem. Mas mesmo com o uso de variedades resistentes é imprescindível a complementação com fungicidas, sendo o florescimento, a formação de legume e o início e meio da granação, as épocas mais críticas para o ataque da ferrugem (FIALLOS, 2011).

2.2.2 Podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani*)

Também conhecida como síndrome da morte súbita, causada pelo fungo *Fusarium solani*, a podridão vermelha da raiz (PVR) é uma doença relativamente recente da cultura da soja (FREITAS; MENEGHETTI; BALARDIN, 2004). Plantas infectadas podem ter até 98% de redução no peso médio dos grãos, além de uma diminuição de 96% no número de grãos por planta (GÁSPERI; PRESTES; COSTAMILLAN, 2003). Apesar de ser conhecida como podridão vermelha da raiz, a doença causa sintomas tanto nas raízes quanto nas folhas (GUIMARÃES, 2011).

Os primeiros sintomas visíveis serão aqueles na parte aérea, que apresentam manchas cloróticas e necróticas entre as nervuras (GUIMARÃES, 2011). Na maioria dos casos, as primeiras pontuações surgem após a floração. Esses pontos podem aumentar de tamanho e se

tornarem manchas necróticas, ou coalescer e formar regiões de clorose internerval (ROY et al., 1997). As nervuras permanecem verdes, mas em plantas severamente afetadas pode ocorrer desfolha precoce, o que ocasiona o abortamento das vagens (WRATHER et al., 1995).

Na raiz, a visualização dos sintomas é mais difícil, pois os mesmos, normalmente, são apenas observados abaixo do nível do solo, caracterizando-se por uma mancha avermelhada. Com a progressão da infecção, a lesão passa para uma coloração castanho-avermelhada escura e circunda a raiz (GUIMARÃES, 2011). As raízes de plantas afetadas tem seu tamanho reduzido e são descoloridas, mas a medula permanece branca (ALMEIDA et al., 1997).

Em contato com solução de água presente no solo, os conídios formam os clamidósporos, estruturas de resistências do fungo, este é o inóculo primário do fungo. Os mesmos clamidósporos podem ser encontrados em raízes de soja que permanecem no campo (ROY et al., 1997). O modo que o fungo penetra nas raízes ainda é desconhecido, mas é provável que o mesmo ocorra de forma direta, ou seja, durante a germinação do clamidósporo ou do macroconídio, este, por sua vez, germina assim que a raiz entra em contato com sua superfície (FRONZA, 2003).

A doença tende a ser mais severa em condições de solo com muita umidade e temperatura amenas (SCHERM; YANG, 1996). Visto isso, as melhores medidas para o controle da podridão vermelha da raiz seria evitar a semeadura em solos compactados e mal drenados (HENNING et al., 2005).

2.3 MECANISMOS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS

Apesar do controle químico de doenças ser de fácil aplicação, sem a necessidade de grande entendimento sobre o produto e o sistema em si (BETTIOL; GHINI, 2001), os malefícios causados pelo excesso e uso contínuo de agrotóxicos, tanto para saúde do homem quanto dos ecossistemas, vão desde o surgimento de estirpes resistentes até a contaminação do meio ambiente, levando a necessidade de se conscientizar os agricultores na busca por novas práticas, abrindo caminho para o controle biológico (MORANDI; BETTIOL, 2009).

O controle biológico é o controle de um determinado micro-organismo (patógeno) a partir da ação de outro microorganismo (antagonista), podendo ser por meio de antibiose, parasitismo, competição ou indução de resistência (COOK; BAKER, 1983 apud SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2000). Mesmo com a crescente demanda por produtos de origem biológica, os estudos na área ainda são incipientes (BETTIOL et al., 2008).

A antibiose é um dos mecanismos de ação dos biocontroladores, onde os mesmos produzem substâncias capazes de inibir o crescimento ou repelir o patógeno (KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003). É o mecanismo de ação mais utilizado pelas bactérias de solo, como as do gênero *Bacillus*, que produzem antibióticos, visualizados pela formação de halos de inibição (SBALCHEIRO, 2006). Estudos sobre a produção de substâncias tóxicas por espécies do fungo *Trichoderma* mostraram que estas inibiram a proliferação de nematoides do solo (EAPEN; BEENA; RAMANA, 2005) e o crescimento micelial de *Phytophthora citrophthora* (SILVA et al., 2008)

Outro mecanismo de ação é o parasitismo, que pode variar desde a simples fixação de células às hifas, impedindo o crescimento do fungo, até a quebra total da hifa e a degradação desta pelo antagonista (ZUCCHI; MELO, 2009). O *Trichoderma* apresenta-se como o hiperparasita de maior importância para o controle de microorganismos patogênicos via parasitismo (JÚNIOR; DOS SANTOS; AUER, 2000).

O mecanismo da competição envolve o microorganismo patogênico e seu antagonista em uma disputa por espaço e nutrientes (MICHEREFF; BARROS, 2001). A ocupação por espaço está relacionada aos sítios de colonização, enquanto que a competição por nutrientes se dá por três elementos essenciais, o carbono, o nitrogênio e o ferro (PAULITZ, 1990). Vieira-Júnior (2005) verificou que *Bacillus cereus* (UFV-75) foi capaz de produzir sideróforos, o que explicaria, em parte, o controle biológico de doenças em feijoeiro mediado por esse agente, conforme afirma o autor.

Todavia, torna-se importante saber que o biocontrole pode não ser apenas de natureza direta, ou seja, quando há o envolvimento dos mecanismos de antibiose, parasitismo e competição, mas pode, também, ser de natureza indireta, quando exercido pelo fenômeno de resistência sistêmica induzida (ISR) (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). A ISR pode ser ativada por agentes de biocontrole, desempenhando amplo espectro de ação contra patógenos e proporcionando a sistemicidade da resposta de defesa contra patógenos (ROMEIRO, 2005)

Apesar da demanda por produtos livre de agrotóxicos, os impedimentos para um pleno estabelecimento dos produtos biológicos parte dos próprios agricultores, que tem receio de aplicar, pois a ação dos microorganismos é lenta, não tendo o resultado imediato que os químicos proporcionam, além dos mesmos exigirem cuidados especiais para seu desenvolvimento e atuação (MORANDI; BETTIOL, 2009).

Entre os microroganismos com potencial para o biocontrole de doenças em plantas destaca-se *Trichoderma* (MACHADO et al., 2012) e *Bacillus* (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010), no entanto, microorganismos fixadores de nitrogênio, como é o caso do *Azospirillum*, também podem atuar no controle biológico direto e indireto de numerosos fitopatógenos (BASHAN; BASHAN, 2010)

2.3.1 *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. são fungos de vida livre e muito interativos, seja no solo e raízes, ou no interior das plantas (POMELLA; RIBEIRO, 2009) e considerados saprofíticos. Ahmad e Baker (1987) comprovaram a eficiência do *Trichoderma* em controlar fungos de solo que causam podridão e tombamento como *Fusarium* e *Rhizoctonia*. Em 2007, 550 toneladas de produtos à base de *Trichoderma* foram comercializadas, o que abrange uma área cultivada de 22 milhões de hectares, levando em conta apenas a soja (POMELLA; RIBEIRO, 2009).

O fungo *Trichoderma* pode atuar tanto por antibiose, competição, parasitismo ou indução de resistência (LUCON, 2008). Possui, ainda, alta competência rizosférica, que é a capacidade de um microorganismo crescer e funcionar na rizosfera em desenvolvimento (HARMAN, 2000).

Pode ser aplicado no tratamento de sementes, em substratos para o crescimento de plântulas ou diretamente no solo para o controle de patógenos que atacam, principalmente, os tecidos jovens em início de desenvolvimento (LUCON, 2008). Melo (1991) apud Lohmann et al. (2007), verificou que a aplicação de *Trichoderma* em tratamento de sementes garante vantagens na colonização da espermosfera e das raízes das plântulas, principalmente no período em que estão sujeitas ao ataque de parasitas não especializados.

2.3.2 *Azospirillum* spp.

O gênero *Azospirillum* abrange algumas bactérias promotoras de crescimento para as plantas, são de vida livre e encontradas praticamente em todos os locais da terra (HUNGRIA, 2011). As bactérias desse gênero tem grande capacidade de produzir “*in vitro*” os hormônios de crescimento auxina, giberelina e citocinina (HARTMANN; ZIMMER, 1994). Além da promoção de crescimento, as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* contribuem para a fixação de nitrogênio atmosférico quando associadas às raízes de gramíneas (BARILLI, et

al., 2011). Entretanto o nitrogênio só é liberado à planta se houverem fontes de carbono e energia suficientemente disponíveis para as bactérias (CHUBATSU et al., 2012).

Os trabalhos com *Azospirillum* que abordam o controle de doenças são bastante escassos embora a sua capacidade de promoção de crescimento aliada a outros microorganismos biocontroladores vem sendo estudada para o controle da ferrugem do cafeeiro (MAFFIA; HADDAD; MIZUBUTI, 2009).

Atualmente, somente são encontrados inoculantes líquidos à base de *Azospirillum*, e, aplicáveis somente em tratamento de sementes. Por isso deve-se ter o cuidado para que todas as sementes entrem em contato com o líquido, evitar que as sementes tratadas entrem em contato com o sol, assim como a temperatura, no momento da semeadura, deve ser amena (HUNGRIA, 2011).

2.3.3 *Bacillus* spp.

As bactérias do gênero *Bacillus* são habitantes naturais do solo. Essas bactérias formam endósporos e sobrevivem por longos períodos em nichos ecológicos específicos, além de apresentarem diferentes mecanismos de ação para contornar as defesas dos patógenos, tornando-se grandes aliadas no controle biológico (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). Ainda contribuem para a nodulação e maior rendimento da soja no campo (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005). Lagartas infectadas por bactérias do gênero *Bacillus* apresentaram uma redução de 95% na ingestão de massa verde, mesmo permanecendo vivas por algum período (MOSCARDI, 2003). Essas bactérias ainda são capazes de atuar sobre os nematoides de galha, podendo reduzir os danos causados pelos mesmos (LI et al., 2005).

Os mecanismos de ação das bactérias do gênero *Bacillus* ainda não foram totalmente elucidados, mas deve-se dar atenção aos componentes resultantes do metabolismo secundário para esclarecer se os benefícios da inoculação partem do microorganismo em si ou de seus metabólitos (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005), esta, talvez, é a resposta de porque o gênero *Bacillus* beneficia tantas culturas sob diferentes condições ambientais (KILIAN, et al., 2000).

O uso de bactérias do gênero *Bacillus* não possui evidência sobre o controle de patógenos da raiz, embora sua utilização no tratamento de sementes garanta uma redução de nematoides juvenis e na massa de ovos (ARAÚJO; MARCHESI, 2009). Com três aplicações

semanais de uma suspensão obtida a partir de bactérias do gênero *Bacillus* houve uma redução em 75% na severidade da ferrugem do feijoeiro, equiparando-se ao controle obtido com uma aplicação semanal do fungicida mancozeb (BAKER; STAVELY; MOCK, 1985).

Um dos entraves para a consolidação do controle biológico a base de *Bacillus* é a formulação para uso comercial (MERTZ; HENNING; ZIMMER, 2009), mas os benefícios desse agente são evidentes, tanto na promoção de crescimento quanto no controle de algumas enfermidades (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo. Os patógenos utilizados foram *Fusarium solani* e *Phakopsora pachyrhizi*.

Para os tratamentos, sementes de soja da cultivar BMX Magna RR foram depositadas em sacos plásticos e submetidas aos seguintes tratamentos biológicos T1: *Azospirillum brasilense* (SimbioseMaíz®) na dose de 4L por 100kg de sementes; T2: *Trichoderma asperellum* (Quality® WG) na dose de 200g por 100kg de sementes; T3: *Bacillus* spp. (selecionado por Rohrig (2006)) na concentração de $1,5 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia (UFV) por mL, determinado pela escala de McFarlan; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*. Além disso, foi utilizado um tratamento testemunha (T7), onde as sementes receberam apenas água. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 7 tratamentos e 4 repetições.

3.1 Ensaios inoculados com *P. pachyrhizi* (Ferrugem Asiática)

No ensaio da ferrugem, foram depositadas três sementes de cada um dos tratamentos, separadamente, em cada vaso. Os vasos utilizados foram de poliestireno atóxico de 500mL, a escolha deste material deu-se ao fato de que posteriormente as avaliações de parte aérea serão realizadas avaliações na parte radicular das plantas também, e estes copos plásticos podem ser facilmente destruídos.

O substrato utilizado foi obtido a partir de uma mistura de solo, areia e substrato comercial da marca Turfa Fértil®, na proporção de 2:1:1, respectivamente. Durante o desenvolvimento do trabalho os vasos permaneceram na bancada da estufa. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado.

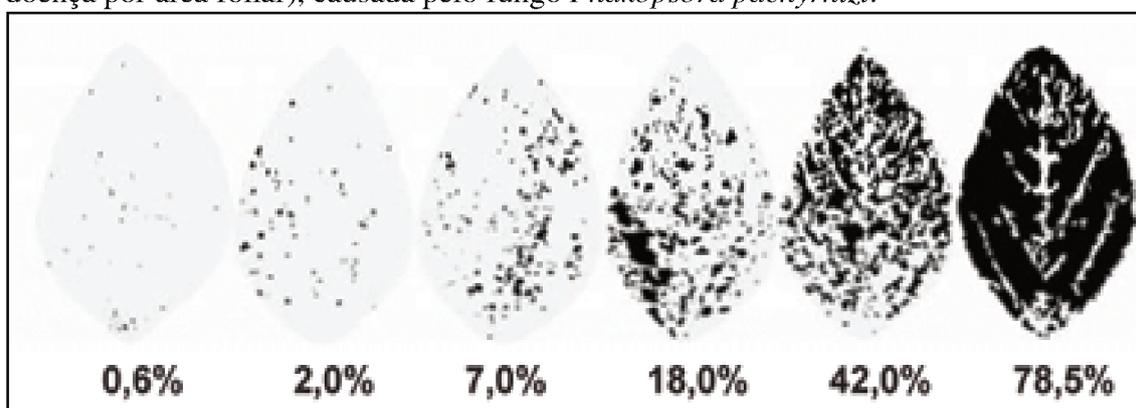
Quando as plantas atingiram o estágio fenológico V3 foi realizada a inoculação de *P. pachyrhizi*. Os uredósporos do fungo foram coletados diretamente de folhas de soja com sintomas da doença, sendo estas umedecidas e raspadas com o auxílio de um pincel (UGALDE, 2005). A suspensão obtida foi colocada em câmara de Neubauer para verificar a presença de esporos. A partir da contagem foi obtida uma suspensão com 33000 esporos do fungo *P. pachyrhizi*.

Para a inoculação, as plantas foram aspergidas com um borrifador direcionado a face abaxial das folhas da planta. A mesma foi realizada no fim do dia, para garantir temperaturas mais amenas para penetração e o período mínimo de molhamento foliar. O fungo tem entre 6 e 8 horas para realizar os processos desde a germinação, alongação do tubo germinativo e penetração na parede celular da folha antes que suas reservas nutricionais e enérgicas se esgotem (PARK et al., 2008).

As plantas permaneceram em câmara úmida pelo período de 24 horas. Nessa câmara úmida, os vasos foram depositados sobre papelão umedecido e as paredes, de lona plástica transparente, eram constantemente reumedecidas.

Sete dias após a inoculação foram realizadas as avaliações quanto à severidade dos sintomas de ferrugem. As seguintes avaliações ocorreram com intervalos de sete dias, devido ao ciclo do patógeno, ou seja, aos 31, 38, 45 e 52 DAE. No total foram realizadas quatro avaliações. Estas foram realizadas de acordo com a escala desenvolvida por Godoy et al., (2006), sendo atribuídas notas de acordo com a porcentagem de área foliar coberta por pústulas.

Figura 1. Escala diagramática para severidade de Ferrugem Asiática em soja (porcentagem de doença por área foliar), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*.



Elaborada por Godoy et al., 2006

3.2 Ensaio inoculado com *F. solani* (Podridão Vermelha da Raiz)

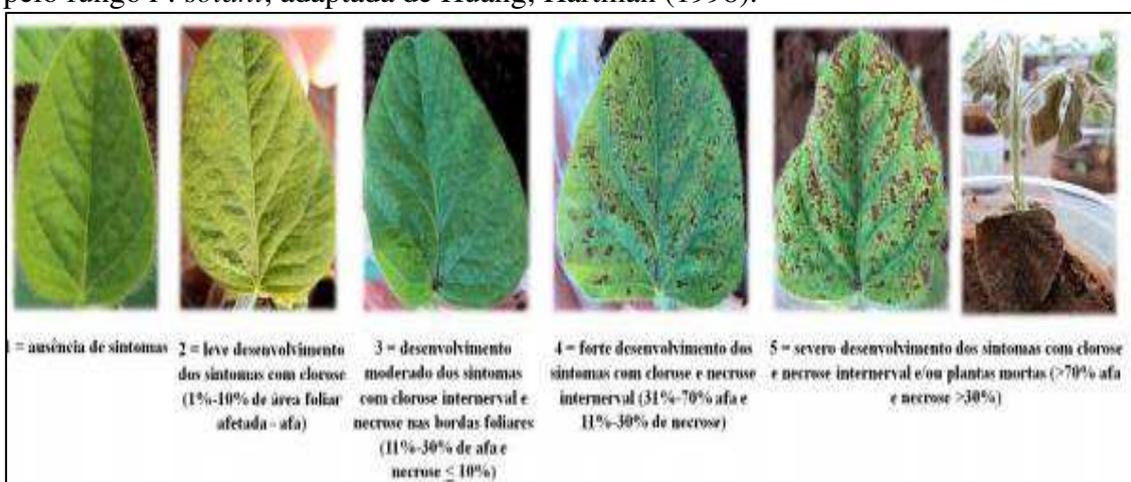
A inoculação de *F. solani* foi diretamente ao solo e ocorreu antes da semeadura. Para tanto, primeiramente, repicou-se o fungo, que estava preservado em tubos na geladeira, no laboratório de Fitopatologia da Universidade, para placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Paralelamente, 150 cm³ de grãos de milho crioulo não tratados, foram depositados em

frascos Erlenmeyer de 500 mL. Estes grãos ficaram imersos em água destilada por uma noite e a seguir foram autoclavados. Posteriormente, sobre esses grãos, foram depositados 10 discos de micélio + meio de cultura de 5mm de diâmetro de *F. solani*, previamente desenvolvido, por sete dias, em BDA. Esses frascos permaneceram incubados em estufa tipo BOD, a 22°C e 12 horas de fotoperíodo, pelo período de 15 dias. Para a inoculação, três grãos de milho colonizados pelo fungo foram depositados a uma profundidade de cinco centímetros e cobertos com uma camada de solo de um centímetro, evitando que a semente de soja tivesse contato direto com o fungo. Finalmente, foram depositadas três sementes de soja, previamente submetidas aos diferentes tratamentos biológicos, em cada vaso, separadamente.

O substrato e vasos utilizados para estes ensaios seguiram os padrões utilizados para os ensaios inoculados com ferrugem asiática. Da mesma forma, estes permanecer na bancada da estufa durante o desenvolvimento do trabalho. O delineamento utilizado foi, novamente, o inteiramente casualizado.

As avaliações de severidade da PVR iniciaram a partir do momento do aparecimento dos primeiros sintomas, sendo as demais realizadas com intervalos de quatro dias, ou seja, aos 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53 e 57 dias após a emergência (DAE). Para isso foi utilizada uma escala diagramática adaptada de Huang, Hartman (1998), sendo atribuídas notas de 1 a 5, onde: 1 - representa a ausência de sintomas; 2 - leve desenvolvimento de sintomas com clorose; 3 - desenvolvimento moderado de sintomas com surgimento de manchas necróticas; 4 - forte desenvolvimento de sintomas com clorose e necrose internerval; e 5 - severo desenvolvimento de sintomas e/ou plantas mortas (Figura 2).

Figura 2. Escala de notas de 1 a 5, para determinação de severidade de PVR em soja, causada pelo fungo *F. solani*, adaptada de Huang; Hartman (1998).



Elaborada por Sarzi (2016)

As notas obtidas nas avaliações, para cada uma das doenças, foram submetidas ao cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) utilizando a fórmula desenvolvida por Campbell e Madden (1990): $AACPD = \sum [(x_1 + x_2) / 2 * (t_2 - t_1)]$, onde, x é a proporção da doença e $(t_2 - t_1)$ corresponde ao intervalo entre avaliações.

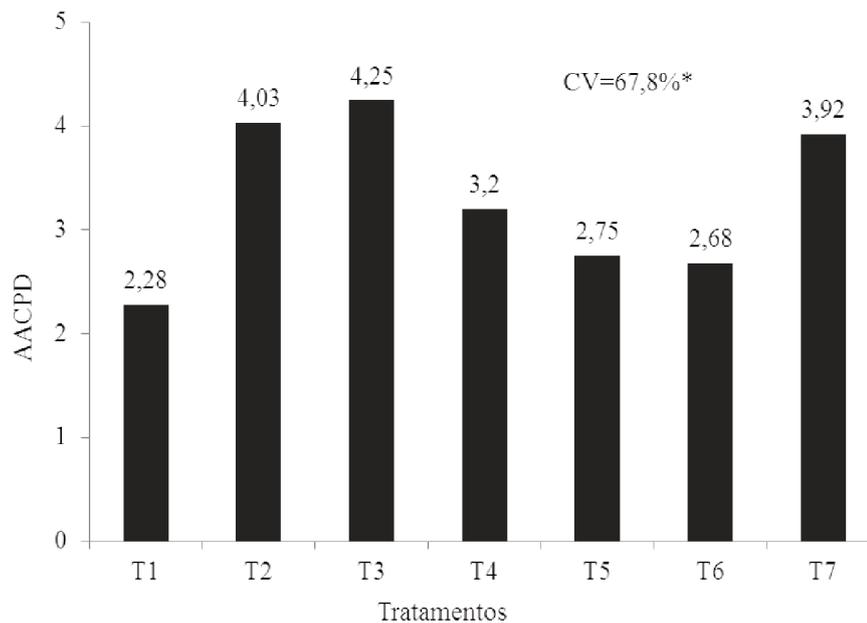
Ao final das avaliações dos dois ensaios, as plantas foram retiradas dos vasos, as mesmas se encontravam em estágio de desenvolvimento R1 (início do florescimento), as raízes lavadas, e realizadas medições de parte aérea e radicular das mesmas.

Após as avaliações os resultados foram dirigidos ao programa estatístico SASM-Agri onde as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio onde foi inoculado o fungo *P. pachyrhizi*, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos utilizados (Figura 3), sendo que nenhum dos microorganismos foi capaz de interferir no progresso da doença.

Figura 3. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da ferrugem asiática em plantas de soja, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.



T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. CV: Coeficiente de variação dos dados transformados para $\sqrt{x + 1}$.

Mesmo sem observar diferença significativa, é possível notar que onde se utilizou apenas *Bacillus* spp. (T3) como tratamento biológico das sementes, teve-se o maior valor de AACPD. Autores como Dorighello (2013) também não observou influência de algumas espécies de *Bacillus* na redução da severidade de ferrugem asiática em soja. Por outro lado, quando se aplicou uma solução de *Bacillus* spp, em tratamento foliar, este reduziu em 75% a severidade da ferrugem do feijoeiro (BAKER; STAVELY; MOCK, 1985) e em 24,75% e 16,88% a ferrugem em duas cultivares de café (CACEFO; ARAÚJO; PACHECO, 2016).

Segundo os dados do presente trabalho, o tratamento com *T. asperellum* também não se mostrou eficiente em reduzir os sintomas de ferrugem em plantas de soja. Esse agente tem sua eficiência comprovada no controle de fungos de solo (AHMAD; BAKER, 1987) devido a

sua alta competência rizosférica (HARMAN, 2000). Trabalhos utilizando soluções à base de *Trichoderma* em aplicações foliares mostraram-se ineficiente no controle de doenças de parte aérea em citros (KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003) e eficientes na redução dos danos de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de eucalipto (MACIEL et al., 2012)

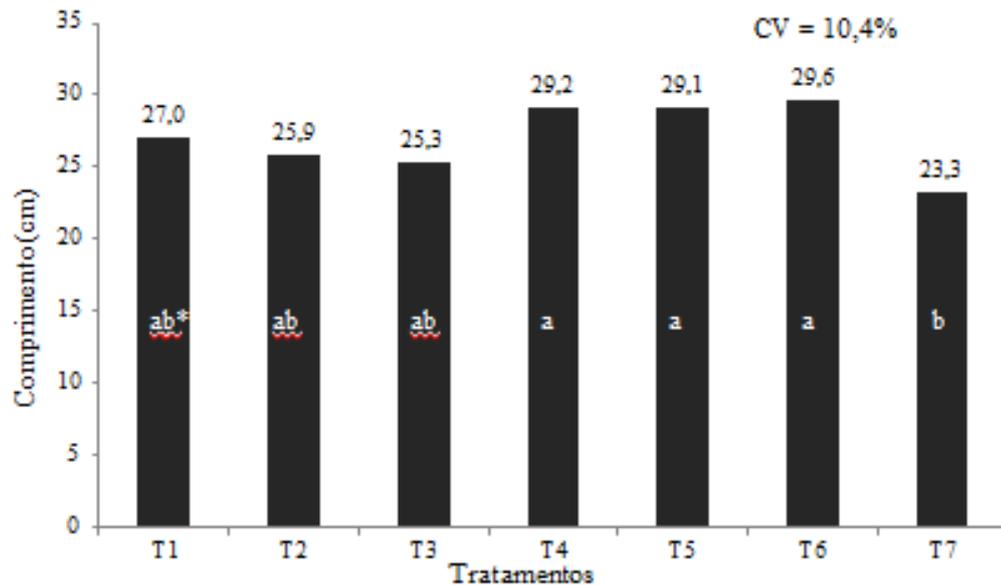
A explicação para o melhor desempenho registrado pelo tratamento à base de *A. brasiliensis* advém de suas características de promoção de crescimento e fixação de nitrogênio atmosférico (BARILLI, et al., 2011) que podem ter contribuído para uma maior tolerância das plantas à ferrugem. Somando-se a isto a temperatura pode ter contribuído ainda mais para o melhor desempenho destas bactérias, pois as mesmas possuem um ótimo crescimento em torno dos 30°C de temperatura (JAIN; BEYER; RENNIE, 1987), sendo esta registrada durante o período de execução do experimento.

Vale ressaltar o elevado coeficiente de variação (CV) encontrado. Uma das explicações para isso vem do método de inoculação utilizado, visto que este foi realizado com borrifador manual a pressão de trabalho exercida durante o processo é muito variável, podendo ter ocorrido inclusive o entupimento do bico em determinados momentos. Outro fato para que pode ter influenciado é a ocorrência de micro clima nos ensaios centrais, este que favoreceria o fungo e a progressão da doença, o mesmo não ocorrendo nos ensaios localizados nas extremidades da bancada.

Em relação aos baixos valores de AACPD encontrados relacionamos pela questão do experimento ser conduzido em casa de vegetação onde não ocorrem correntes de ar e precipitações que auxiliam na condução dos esporos após a abertura das pústulas, diminuindo o número de novas infecções do fungo.

Quando se avaliou o efeito sobre o comprimento das raízes de plantas cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos e inoculadas com *P. pachyrhizi*, os tratamentos contendo misturas de microorganismos (T4, T5 e T6) foram os mais eficientes e diferiram significativamente da testemunha (T7).

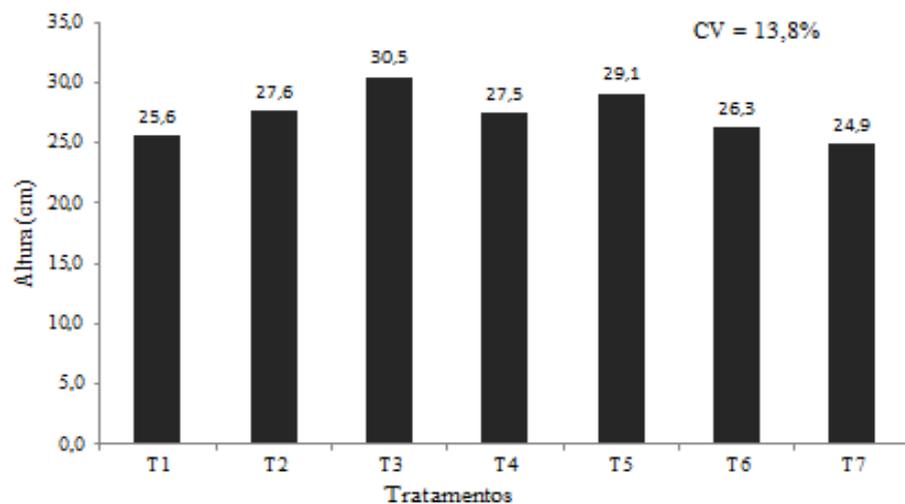
Figura 4. Comprimento de raízes de plantas de soja inoculadas com *P. pachyrhizi*, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.



T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp.; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. *Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% .CV: Coeficiente de variação.

Sobre a altura da parte aérea não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, no entanto, houve um maior destaque para o tratamento onde se utilizou a mistura *A. brasilense* + *T. asperellum* (T6) (Figura 5).

Figura 5. Altura da parte aérea de plantas de soja inoculadas com *P. pachyrhizi*, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.

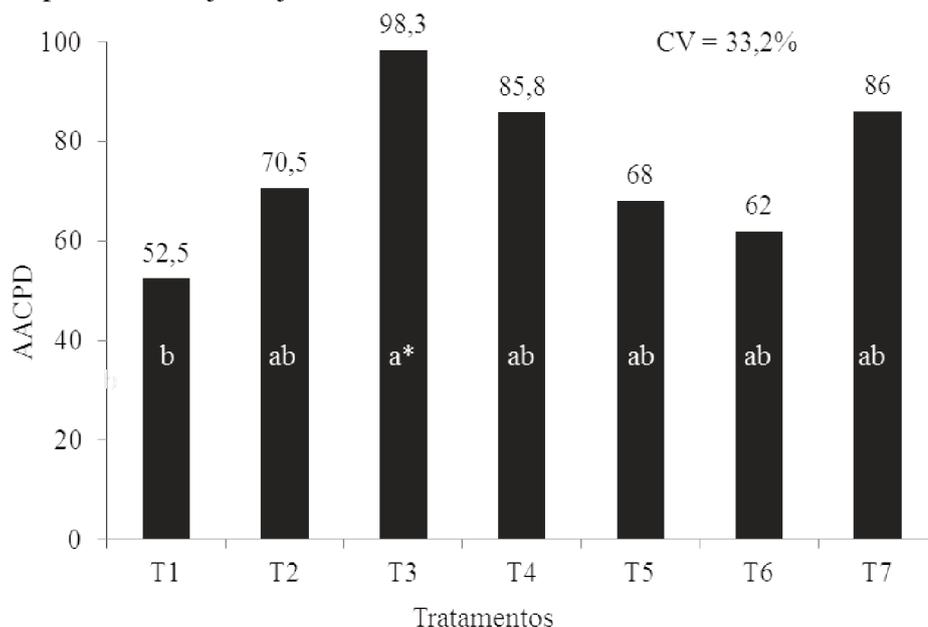


T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp.; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. CV: Coeficiente de variação.

Embora se tenha observado algum efeito, mesmo que sem diferença significativa, de alguns tratamentos frente no biocontrole da FAS, isso nem sempre resultou em incrementos de crescimento. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de ocorrer um custo energético para a efetivação do biocontrole (HEIL, 2001), sem resultar em aumento no crescimento da parte aérea ou das raízes das plantas.

Para os ensaios que foram inoculados com *F. solani*, fungo causador da podridão vermelha da raiz, o tratamento contendo apenas *Bacillus* spp. (T3), foi o que mostrou maior progresso da doença, diferindo significativamente do tratamento contendo apenas *A. brasilense* (T1) o qual foi o melhor tratamento por ter proporcionado o menor progresso da doença, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si (Figura 6).

Figura 6. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão vermelha da raiz em plantas de soja, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.



T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. *Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5%. CV: Coeficiente de variação.

No ensaio aqui realizado, o tratamento com *Bacillus* não mostrou resultados positivos frente ao *F. solani*, embora já se tenha comprovação da ação eficaz desse bioagente, no caso *B. subtilis*, no controle de fungos de solo, como o próprio *Fusarium* spp. em soja e em *Rhizoctonia solani* em feijão (LAZZARETI; BETIOL, 1997).

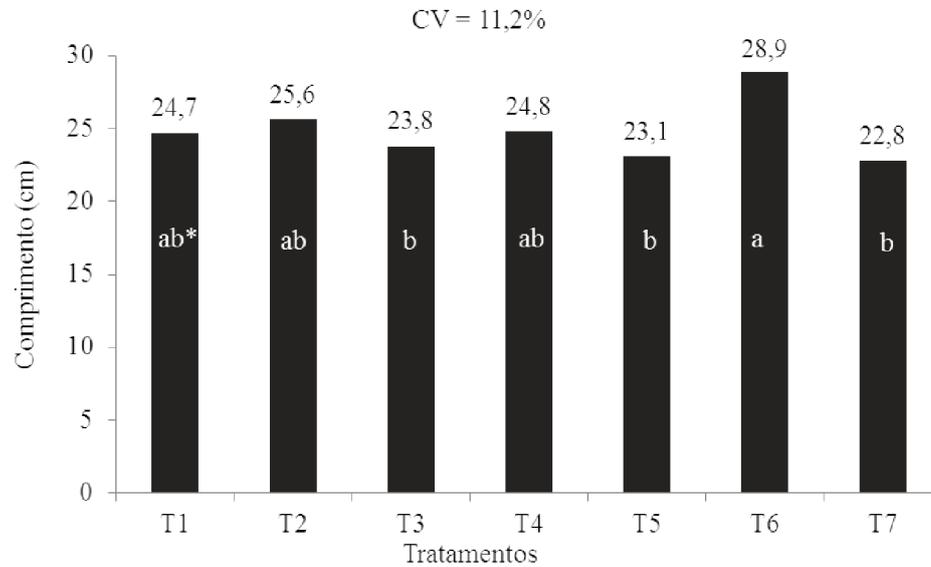
Da mesma forma ocorreu quando se utilizou o *T. asperellum*, isoladamente ou em mistura esse bioagente não demonstrou a mesma eficiência já observada em outros trabalhos onde se avaliou o controle de patógenos de solo, dentre os quais *Fusarium oxysporum* (ETHUR et al., 2012). Credita-se esse fato a exposição precoce que antagonista foi posto frente ao patógeno (KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003), ou seja, ambos foram depositados no solo, momentos antes da semeadura, assim, o agente biocontrolador não teve condições de realizar qualquer tipo de ação que pudesse prejudicar o patógeno, *F. solani*, em tempo hábil.

Em outro sentido, a resposta positiva observada com o uso do *A. brasiliensis* (T1), pode ser atribuída a sua capacidade de promoção de crescimento, visto que alterações morfológicas e fisiológicas são ocasionadas pela ação destes microorganismos (REIS, 2007). Tais alterações contribuem para a melhoria na absorção de água e nutrientes e podem, indiretamente, contribuir para um maior controle do patógeno pelas próprias plantas.

Em contrapartida, quando *A. brasiliensis* foi misturado com *Bacillus* spp. (T6) não demonstrou a mesma eficiência. Isso requer um estudo mais aprofundado quanto à associação das duas bactérias, sendo provável que *Bacillus* spp., por ter alta capacidade de produzir compostos antibióticos (SBALCHEIRO, 2006) através de mecanismos secundários (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005), possa ter inibido o crescimento do *A. brasiliensis*. O mesmo pode ter ocorrido quando misturado com *T. asperellum* (MBARGA et al., 2012)

Nas avaliações de comprimento de raiz, a mistura de *A. brasilense* + *T. asperellum* (T6) foi o melhor tratamento, diferindo significativamente dos tratamentos contendo apenas *Bacillus* spp. (T3), da mistura de *T. asperellum* + *Bacillus* spp (T5) bem como da testemunha (T7) (Figura 7). Esse efeito pode estar relacionado a alta capacidade rizosférica do *Trichoderma* (HARMAN, 2000) aliada ao potencial de promoção de crescimento do *Azospirillum* na cultura da soja (BULEGON et al., 2015), mostrando que esta associação pode ser ainda mais eficiente em promover o crescimento radicular de plantas de soja.

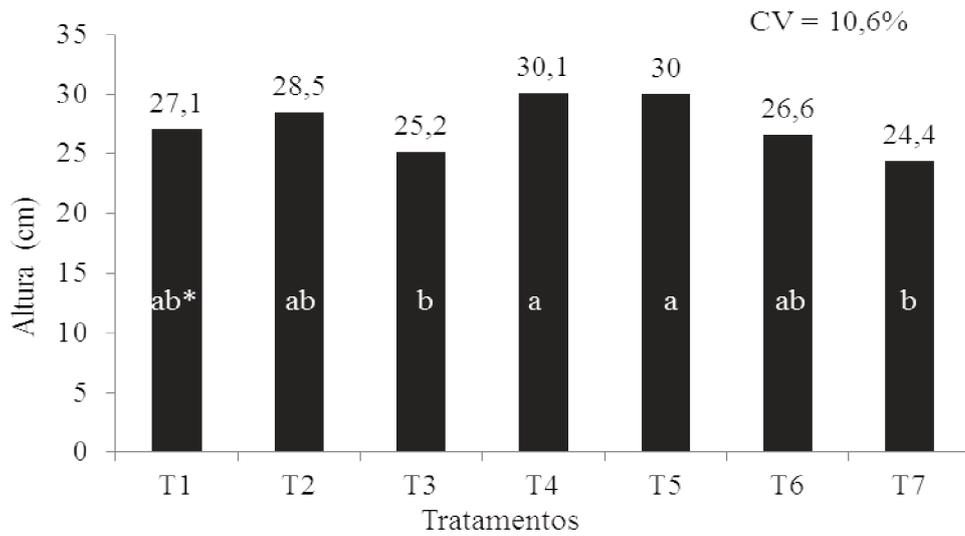
Figura 7. Comprimento de raízes de plantas de soja inoculadas com *F. solani*, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.



T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. *Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5%

Quanto a altura da parte aérea, os tratamentos contendo a mistura de *A. brasilense* + *Bacillus* spp. (T4) e *T. asperellum* + *Bacillus* spp. (T5), obtiveram as maiores médias, diferindo significativamente do tratamento contendo apenas *Bacillus* spp. (T3) e da testemunha (T7) (Figura 8). Em milho, observou-se que a inoculação de sementes com *B. subtilis* e *A. brasiliensis* incrementou a altura das plantas (MAZZUCHELLI; SOSSAI; ARAUJO, 2015). A promoção de crescimento direta ocorre quando o microorganismo é capaz de produzir metabólitos secundários que promovem diretamente o crescimento das plantas pela produção de reguladores de crescimento tais como citocinina e giberelina (NELSON, 2004).

Figura 8. Altura da parte aérea de plantas de soja inoculadas com *F. solani*, cujas sementes foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos.



T1: *A. brasilense*; T2: *T. asperellum*; T3: *Bacillus* spp.; T4: *A. brasilense* + *Bacillus* spp.; T5: *T. asperellum* + *Bacillus* spp; T6: *A. brasilense* + *T. asperellum*; T7: testemunha. *Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5%

Para estimar a real interação que ocorre entre semente, biocontrolador e patógeno se fazem necessárias pesquisas mais aprofundadas no assunto para que possa ser evidenciado quais os mecanismos de ação que cada um dos microorganismos utiliza, tanto para o controle de doenças quanto para a promoção de crescimento, ou ambos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que o tratamento a base de *A. brasilense* foi mais eficiente no biocontrole da podridão vermelha da raiz. Nas avaliações quanto a parte de promoção de crescimento os tratamentos combinados se mostraram melhores tanto em parte aérea como radicular.

E estudos com os tratamentos mais eficientes são necessários, visando verificar a estabilidade de controle desses microorganismos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, J. S.; BAKER, R. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 77, n. 2, p. 182-189, 1987.
- ALMEIDA, A.M.R., FERREIRA, L.P., YORINORI, J.T., SILVA, J.F.V. HENNING, A.A. Doenças da soja. In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIM FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia** Vol 2: Doenças de plantas cultivadas. São Paulo. Agronômica Ceres. 1997. pp.642-664.
- ALMEIDA, L. A., KIIHL, R. A. S., MIRANDA, M. A. C., CAMPELO, G. J. A. Melhoramento da soja para regiões de baixa latitude. In: QUEIRÓZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Orgs.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido. cap. 5, p. 73-88. 1999.
- ALMEIDA, A. M. R.; TORRES, E.; FARIAS, J. R. B.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; MARIN, S. R. **Macrophomina phaseolina em soja**: sistema de semeadura, sobrevivência em restos de cultura e diversidade genética. Embrapa Soja, 2001.
- ALVES, M. C.; ALVES, M. C.; POZZA, E. A.; FERREIRA, J. B.; ARAÚJO, D. V. D.; COSTA, J. C. B.; DEUNER, C. C.; MACHADO, J. D. C. Intensidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow) da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] nas cultivares Conquista, Savana e Suprema sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 239-244, 2007.
- ANDRADE, P. J. M.; ANDRADE, D. F. A. A. **Ferrugem asiática**: uma ameaça à sojicultura brasileira. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Chapadão do Sul: Fundação Chapadão, (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular técnica, 11). 11 p. 2002.
- ARAÚJO, F. F.; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 8, p. 1639-1645, 2005.
- ARAÚJO, M. M. **Caracterização e seleção de linhagens de soja resistentes ou tolerantes à ferrugem asiática**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). ESALQ – Mestrado em Genética e melhoramento de plantas, Piracicaba, 2009. 77 p. 2009.
- ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P.. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1558-1561, 2009.
- BAKER, C. J.; STAVELY, J. R.; MOCK, N. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. **Plant Disease**, v. 69, n. 9, p. 770-772, 1985.
- BARILLI, D. R.; TSUTSUMI, C. Y.; MAY, A.; MIRANDA, A. M.; HACHMANN, T. L.; MODOLON, T. A. 11724-Eficiência na inoculação do milho com *Azospirillum brasiliense* em diferentes períodos antes da semeadura. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.
- BASHAN Y.; BASHAN L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, v.108, p.77-136, 2010.

- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A. M. C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina**—Avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ, p. 303-331, 2008.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. **Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário**, 2001.
- BLAINSKI, E. C. A., FIDALSKI, J., GUIMARÃES, R. M. L. Quantificação da degradação física do solo por meio da curva de resistência do solo à penetração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 975-983, 2008.
- BRUM, A., HECK, C., LEMES, C., & MÜLLER, P. **A economia mundial da soja: Impactos na cadeia produtiva da oleaginosa no Rio Grande do Sul**. Artigo – Universidade Regional do Noroeste do Sul, Ijuí, 21 p. 2005.
- CACEFO, V.; DE ARAÚJO, F. F.; PACHECO, A. C. Controle biológico da ferrugem com *Bacillus subtilis* e alterações bioquímicas no cafeeiro. **Coffee Science**, v. 11, n. 4, p. 567-574, 2016.
- CARVALHO, E. A. **Indutores de resistência no manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow)**. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) Universidade Federal de Lavras, Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, Lavras, 65 p. 2010.
- CARVALHO, F. T.; VELINI, E. D.. Períodos de interferência de plantas daninhas na cultura da soja: I-Cultivar IAC-11. **Planta Daninha**, p. 317-322, 2001.
- CHUBATSU, L. S.; MONTEIRO, R. A.; SOUZA, E. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; YATES, M. G.; WASSEM, R.; BONATTO, A. C.; HUERGO, L. F.; STEFFENS, M. B. R.; RIGO, L. U.; PEDROSA, F. O. Nitrogen fixation control in *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 197-207, 2012.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. 1. ed. New York: John Wiley, 1990. 532 p.
- CONAB - **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. 2017. V. 4. Safra 2016/17. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 21 nov. 2017.
- DALL'AGNOL, A.; ROESSING, A. C.; LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H.; OLIVEIRA, A. B. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Londrina: Embrapa Soja (Circular Técnica, 43). 12 p. 2007.
- DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M. Pragas da soja. **Boletim de Pesquisa de Soja**, v. 12, p. 254, 2007.
- DORIGHELLO, D. V. **Controle da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) com óleo de café e *Bacillus* spp.** Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. 55p. 2013.
- EAPEN, S. J.; BEENA, B.; RAMANA, K. V. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 88, n. 3, p. 218-225, 2005.

- EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja: Região Central do Brasil 2012 e 2013. **Sistemas de Produção**, n. 15. Londrina: Embrapa Soja, 2011. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/SP15-VE.pdf>>. Acesso em; 30 mar. 2017.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil, 2011**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 255p. 2010.
- ETHUR, L. Z., BLUME, E., LUPATINI, M., MUNIZ, M. F. B., ANTONIOLLI, Z. I., LORENTZ, L. H. *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 73-84, 2012.
- FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Embrapa Soja. Circular técnica, 9 p. 2007.
- FIALLOS, F. R. G. A ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* Sydow. **Revista Ciencia y Tecnología**, v. 4, n. 2, p. 45-60, 2011.
- FINOTO, E. L.; CARREGA, W. C.; SEDIYAMA, T.; DE ALBUQUERQUE, J. A. A.; CECON, P. R.; REIS, M. S.. Efeito da aplicação de fungicida sobre caracteres agronômicos e severidade das doenças de final de ciclo na cultura da soja. **Revista Agro@ mbiente On-line**, v. 5, n. 1, p. 44-49, 2011.
- FLECK, N. G.; CANDEMIL, C. R. G. Interferência de plantas daninhas na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência Rural**, v. 25, n. 1, p. 27-32, 1995.
- FREITAS, M. C.M. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, 2011.
- FREITAS, T. M. Q.; MENEGHETTI, R. C.; BALARDIN, R. S. Dano devido à podridão vermelha da raiz na cultura da soja. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 991-996, 2004.
- FRONZA, V. **Genética da reação da soja a *Fusarium solani* f. sp. *glycines***. 154p. 2003.
- GALLI, J. A.; PANIZZI, R. D. C.; FESSEL, S. A.; SIMONI, F. D.; ITO, M. F. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, p. 182-187, 2005.
- GALLI, J. A.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Phomopsis sojae* na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, p. 40-46, 2007.
- GÁSPERI, A. C.; PRESTES, A. M.; COSTAMILAN, L. M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 544-547, 2003.
- GUIMARÃES, S. S. C. ***Fusarium solani* associado à soja no Brasil: morfologia, filogenia molecular e patogenicidade**. Tese de doutorado. UFLA, Lavras. 65p. 2011.
- GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G. Escala diagramática para avaliação da ferrugem da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 63-68. 2006.
- GODOY, C. V. **Doenças da Soja**. Sociedade brasileira de fitopatologia. Embrapa Soja, Londrina, Paraná; Embrapa Trigo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, 32p. 2014.

- GOULART, A. C. P. Eficiência do tratamento químico de sementes de soja no controle de *Colletotrichum dematium* var. *truncata*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 13, n. 1, p. 1-4, 1991.
- GRIGOLLI, J. F. J. **Manejo de doenças na cultura da soja**. Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014. p. 205-231, 2013.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARTMANN, A.; ZIMMER, W. Physiology of *Azospirillum*. **Azospirillum/plant associations**, p. 15-39, 1994.
- HEIL, M. The ecological concept of costs of induced systemic resistance (ISR). **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 137-146, 2001.
- HENNING, A.A. Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo ABRATES**, v. 19, n. 3, 2009.
- HENNING A. A.; ALMEIDA A. M. R.; GODOY C. V.; SEIXAS C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN L. M.; FERREIRA L. P.; MEYER M. C.; SOARES R. M.; DIAS W.P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5ª ed. Londrina: Embrapa Soja (Embrapa Soja Documentos 256). 76p. 2005.
- HENNING, A. A. Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo ABRATES**, v. 19, n. 3, p. 09-12, 2009.
- HUANG, Y. H.; HARTMAN, G. L. Reaction of selected soybean genotypes to isolates of *Fusarium solani* f. sp. *glycines* and their culture filtrates. **Plant Disease**, v.82, p.999-1002. 1998.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- JAIN, D. K.; BEYER, D.; RENNIE, R. J. Dinitrogen fixation (C_2H_2 reduction) by bacterial strains at various temperatures. **Plant and Soil**, v.103, p. 233-237, 1987
- JÚNIOR, A. G.; DOS SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.
- KILIAN, M.; STEINER, U.; KREBS, B.; JUNGE, H.; SCHMIEDEKNECHT, G.; HAIN, R. FZB24® *Bacillus subtilis*—mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, v. 1, n. 00, p. 1, 2000.
- KLINGELFUSS, L. H.; YORINORI, J. T. Latent infection by *Colletotrichum truncatum* and *Cercospora kikuchii* in soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 158-164, 2001.

- KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2003.
- LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, p. 12-20, 2010.
- LANTMANN, A. **A água no desenvolvimento da soja**. Disponível em: <<http://www.projetosojabrasil.com.br/artigo-agua-desenvolvimento-da-soja/>>. Acesso em: 30 mar 17.
- LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, v. 54, p. 89-96, 1997.
- LI, B.; XIE, G.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal-zhejiang University Science**, v. 6, n. 6, p. 496, 2005.
- LIMA, W. F. PRETE, C. E. C., RIBEIRO, A. S., TOLEDO, J. F. F. D. Resistance of soybean to Asian rust assessed by grain yield analysis. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 73-78, 2012.
- LOHMANN, T. R.; PAZUCH, D.; STANGARLIN, J. R.; SELZLEIN, C.; NACKE, H. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.1665-1668, 2007.
- LUCON, C. M. M. **Trichoderma no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo**. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=77>. Acesso em 17 abr. 2017.
- LUZ, W.C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.1, p.16-20, 2001.
- MACHADO, D. F. M., PARZIANELLO, F. R., SILVA, A. C. F. D., ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MACIEL, C. G., LAZAROTTO, M., MEZZOMO, R., POLETO, I., BRIÃO MUNIZ, M. F., BELMONTE LIPPERT, D. *Trichoderma* spp no biocontrole de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. **Revista Árvore**, v. 36, n. 5, p.825-832, 2012.
- MAFFIA, L. A.; HADDAD, F.; MIZUBUTI, E. S. G. Controle biológico da ferrugem do cafeeiro. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, p. 267, 2009.
- MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, v.10, p.40-47, 2014.
- MBARGA, J. B., TEN HOOPEN, G. M., KUATÉ, J., ADIOBO, A., NGONKEU, M. E. L., AMBANG, Z., BEGOUDE, B. A. D. *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.

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.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. UFRPE, p. 123-139. 2001.

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

MOSCARDI, F. **Uso de *Baculovirus* e *Bacillus thuringiensis* no controle de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis***. Soja orgânica, 2003. 15 p.

MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja: fatores que afetam o crescimento e rendimento de grãos**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 31p. 2005.

NELSON L. M. **Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants**. 2004. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cm/abstracts/3/1/2004-0301-05-RV>. Acesso em: 31 de out. 2017.

OLIVEIRA, A. C. B.; GODOY, C. V.; MARTINS, M. C. Avaliação da tolerância de cultivares de soja à ferrugem asiática no Oeste da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 6, 2005.

PARK, S.; CHEN, Z. Y.; CHANDA, A. K.; SCHNEIDER, R. W.; HOLLIER, C. A. Viability of *Phakopsora pachyrhizi* urediniospores under simulated southern Louisiana winter temperature conditions. **Plant Disease**, v. 92, n. 10, p. 1456-1462, 2008.

PAULITZ, T. C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. New directions in biological control. Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. **Proceedings** of a UCLA colloquium held at Frisco, Colorado, January 20-27, 1989., p. 713-724, 1990.

PINAZZA, L. A.. **Série Agronegócios Cadeia Produtiva da Soja**. Vol. 2. 2007. 116 p. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, Brasília, 2007.

PITELLI, R. A. Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. **Série técnica IPEF**, v. 4, n. 12, p. 1-24, 1987.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, p. 239, 2009.

REIS, E. M.; DANELLI, A.; CASA, R. T. Ciclo do míldio da soja. **Revista Plantio Direto**. Passo Fundo, RS, ed. 117, mai/jun. 2010. Disponível em: http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=993. Acesso em: 05 abr. 2017.

ROMEIRO, R. S. **Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal como indutoras de resistência**. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.;

RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Eds). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, FEALQ, Piracicaba, SP. p. 169-182, 2005.

ROHRIG, B. **Bioprospecção de bactérias, isoladas de diferentes sistemas de cultivo, para o controle de patógenos da cultura do feijão**. 2016. 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso- Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo.

ROY, K. W.; HERSHMAN, D. E.; RUPE, J. C., ; ABNEY, T. S. Sudden death syndrome of soybean. **Plant Disease**, v. 81, n. 10, p. 1100-1111, 1997.

ROSSETTO, C. J.; LOURENÇÃO, A. L.; IGUE, T. **Resistência de soja a insetos**. II. Teste de livre escolha entre a linhagem IAC 73/228 e o cultivar Paraná, infestados por *Nezara viridula* (L.) em telado. 1984.

SALVADORI, J. R., BACALTCHUK, B. DEUNER, C. C., LAMAS JÚNIOR, G. I. C., RIZZARDI, M. C., LANGARO N. C., ESCOSTEGUY P. A. V., BOLLER, W. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, safras 2016/2017 e 2017/2018 – 41º Reunião de Soja**. 128p. 2016.

SAMPAIO, L. M. B.; SAMPAIO, Y.; BERTRAND, J. Fatores determinantes da competitividade dos principais países exportadores do complexo soja no mercado internacional. In: **Organizações Rurais & Agroindustriais**, , 2012. p. 227-242.

SARZI, J. S. **Efeito de diferentes espécies de Trichoderma no controle de patógenos de solo na cultura da soja**. 2016. 62 p. Trabalho de Conclusão de Curso-Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo.

SBALCHEIRO, C. C. **Ação do biocontrolador com atividade de indução de resistência no controle do cretamento bacteriano comum do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO.

SCHERM, H. YANG, X. B. Development of sudden death syndrome of soybean in relation to soil temperature and soil water matric potential. **Phytopathology**, v. 86, n. 6, p. 642-649, 1996.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 1-2, p. 129-137, 2000.

SFREDO, G. J.; LANTMANN, A. F. **Enxofre**: nutriente necessário para maiores rendimentos da soja. 2007. 6 f. EMBRAPA, Circular Técnica 53, Londrina, 2007.

SILVA, V. A. S.; JULIATTI, F. C.; SILVA, L. A. S. Interação entre resistência genética parcial e fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1261-1268, 2007.

SILVA, K. S., HOJO REBOUCAS, T. N., BOMFIM, M. P., SILVA, D. S., SÃO JOSÉ, A. R., SABIN BENETT, C. G. Atividade antagônica in vitro de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias**, p. 749-753, 2008.

SIQUERI, F. V.; KOCH, C.; OLIVEIRA, W. F.; ALVES, L. C. F.; DE OLIVEIRA, M. A. P. A nova cultivar Inox (TMG 803) em interação com o fungicida azoxystrobin & ciproconazole no controle da ferrugem asiática da soja. **Biodiversidade**, v. 10, n. 1, 2011.

TECNOLOGIAS... **Tecnologias de produção de soja** – região central do Brasil – 2008. - Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados : Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 280p.

THEISEN, G.; VERNETTI JR, F.J.; ANDRES, A.; SILVA, J.J.C. Manejo da cultura da soja em terras baixas em safras com El-Niño. Pelotas: Embrapa Clima 78 Temperado, 2009. (**Circular Técnica, 82**). 3 p. 2009.

TOLEDO, J. F. F.; DE ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MENOSSO, O. G. Ganho genético em soja no estado do Paraná, via melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 89-94, 1990.

UGALDE, M. G. **Controle de ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da soja**, 66 p. 2005.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G.; MEROTTO JR. A. Período anterior ao dano no rendimento econômico (PADRE): nova abordagem sobre os períodos de interferência entre plantas daninhas e cultivadas. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 387-396, 2005.

VIEIRA JÚNIOR, J.R. **Procariontes residentes de filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura**. 2005. 146f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WRATHER, J. A.; KENDIG, S. R.; ANAND, S. C.; NIBLACK, T. L.; SMITH, G. S. Effects of tillage, cultivar, and planting date on percentage of soybean leaves with symptoms of sudden death syndrome. **Plant disease**, v. 79, n. 6, p. 560-562, 1995.

YAMAOKA, Y.; FUJIWARA, Y.; KAKISHIMA, M.; KATSUYA, K.; YAMADA, K.; HAGIWARA, H. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, v. 68, n. 1, p. 52-56, 2002.

YORINORI, J. T.; LAZZAROTTO, J. J. **Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul**. Londrina: Embrapa Soja. (Documentos, 236). 30 p. 2004.

YORINORI J. T.; NUNES JUNIOR J.; LAZZAROTTO J. J. Ferrugem “Asiática” da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle. Londrina PR. Embrapa Soja, **Documentos 247**. 36 p. 2004.

YORINORI, J.T. **Oídio da Soja**. Londrina: Embrapa Soja. (Documentos, 13). 13 p. 1997.

ZAGONEL, J.; VENÂNCIO, W. S.; KUNZ, R. Efeitos de métodos e épocas de controle das plantas daninhas na cultura do milho. **Planta Daninha**, v. 18, n. 1, p. 143-150, 2000.

ZUCCHI, T. D.; MELO I. S. Controle biológico de fungos aflatoxigênicos. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa, p. 69-74, 2009.