



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS ERECHIM

CURSO DE AGRONOMIA

BRENDA TORTELLI

**TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO EM SEMENTES DE FEIJÃO
INOCULADAS COM *Sclerotinia sclerotiorum* E EFEITOS SOBRE QUALIDADE
SANITÁRIA E FISIOLÓGICA**

ERECHIM

2019

BRENDA TORTELLI

**TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO EM SEMENTES DE FEIJÃO
INOCULADAS COM *Sclerotinia sclerotiorum* E EFEITOS SOBRE QUALIDADE
SANITÁRIA E FISIOLÓGICA**

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

Orientadora: Profa. Dra. Paola Mendes Milanesi

ERECHIM

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Tortelli, Brenda

TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO EM SEMENTES DE FEIJÃO INOCULADAS COM *Sclerotinia sclerotiorum* E EFEITOS SOBRE QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA / Brenda Tortelli. -- 2019.

28 f.:il.

Orientadora: Doutora Paola Mendes Milanesi.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia, Erechim, RS, 2019.

1. Mofo branco. 2. Tratamento químico. 3. Tratamento biológico. I. Milanesi, Paola Mendes, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

BRENDA TORTELLI

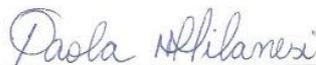
**TRATAMENTO QUÍMICO, BIOLÓGICO EM SEMENTES DE FEIJÃO
INOCULADAS COM *Sclerotinia sclerotiorum* E EFEITOS SOBRE A
QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para
obtenção do grau de Bacharel em Agronomia na Universidade Federal da Fronteira Sul
– *Campus Erechim*.

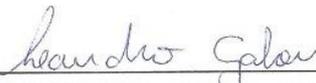
Orientadora: Profª. Dra. Paola Mendes Milanesi

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi defendido e aprovado pela banca em
07/06/2019.

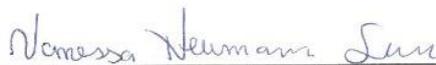
BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Paola Mendes Milanesi - UFFS



Prof. D. Sc. Leandro Galon - UFFS



Profª. Dra. Vanessa Neumann Silva - UFFS

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO.....	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS	20

**TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO EM SEMENTES DE FEIJÃO
INOCULADAS COM *Sclerotinia sclerotiorum* E EFEITOS SOBRE A
SANIDADE, VIGOR E GERMINAÇÃO**

Brenda Tortelli, Paola Mendes Milanese

Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail autor correspondente: bre.tortelli@hotmail.com

Resumo: O feijão tem grande importância econômica e social no Brasil, no entanto, doenças como o mofo branco, diminuem a produção desse grão. Objetivou-se avaliar o efeito do tratamento químico e biológico sobre a germinação, vigor e sanidade de sementes de feijão (cv. 'IPR Tuiuiú) inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* por meio de restrição hídrica. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos: T1) Fungicida; T2) *Trichoderma asperellum* ($1,0 \times 10^{10}$ conídios mL⁻¹); T3) *Trichoderma harzianum* (1×10^9 UFCs); T4) *Bacillus subtilis* (1×10^9 UFCs); T5) *Bacillus amyloliquefaciens* (3×10^8 UFCs); T6) Testemunha positiva (sementes expostas ao patógeno, mas não tratadas); T7) Testemunha negativa + fungicida; T8) Testemunha negativa + *Trichoderma asperellum*; T9) Testemunha negativa + *Trichoderma harzianum*; T10) Testemunha negativa + *Bacillus subtilis*; T11) Testemunha negativa + *Bacillus subtilis*; T12) Testemunha negativa (não expostas ao patógeno). Após, realizou-se os testes *in vitro* de índice de velocidade de germinação (IVG), germinação, comprimento de plântulas, teste de frio, envelhecimento acelerado e incidência de *Sclerotinia sclerotiorum*; e *in vivo* avaliou-se massa verde, massa seca e emergência à campo. Pode-se constatar que a inoculação das sementes por meio da restrição hídrica proporciona perfeita infecção. As sementes não inoculadas apresentaram os melhores resultados e que o fungicida é o melhor tratamento para as sementes inoculada, seguido dos tratamentos realizados com *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens*.

Palavras-chave: Mofo branco; *Phaseolus vulgaris*; Restrição hídrica; Microbiolização.

CHEMICAL AND BIOLOGICAL TREATMENT IN INOCULATED BEAN SEEDS WITH *Sclerotinia sclerotiorum* AND EFFECTS ON SANITY, VIGOR AND GERMINATION

Abstract: Beans have great economic and social importance in Brazil, however, diseases such as white mold, reduce the production of this grain. The objective of this study was to evaluate the effect of chemical and biological treatment on the germination, vigor and health of bean seeds (cv. 'IPR Tuiuiú) inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* by means of water restriction. The experiment was conducted in a completely randomized design with 4 replicates. The seeds were submitted to the following treatments: T1) fungicide; T2) *Trichoderma asperellum* (1.0×10^{10} conidia mL^{-1}); T3) *Trichoderma harzianum* (1×10^9 CFUs); T4) *Bacillus subtilis* (1×10^9 CFUs); T5) *Bacillus amyloliquefaciens* (3×10^8 CFUs); T6) Positive Control (seeds exposed to the pathogen but not treated); T7) Negative Control + fungicide; T8) Negative Control + *Trichoderma asperellum*; T9) Negative Control + *Trichoderma harzianum*; T10) Negative Control + *Bacillus subtilis*; T11) Negative Control + *Bacillus subtilis*; T12) Negative Control (seeds not exposed to pathogen). After, the in vitro tests of germination speed index (GSI), germination, seedling length, cold test, accelerated aging and incidence of *Sclerotinia sclerotiorum*; and in vivo, green mass, dry mass and field emergence were evaluated. It can be verified that the inoculation of the seeds by means of the water restriction provides perfect infection. The inoculated seeds showed the best results and the fungicide is the best inoculated seed treatment, followed by treatments with *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*.

Key-words: White mold; *Phaseolus vulgaris*; Water restriction; Microbiolization.

INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de grande importância econômica e social no Brasil pois é fonte de renda para muitos agricultores familiares, que dependem da produção de feijão e, também, por fazer parte da alimentação da população (BINOTTI et al., 2009). Em 2019, a primeira safra de feijão alcançou uma produção de 973,7 mil toneladas e, até o fim da terceira safra, as estimativas são para uma produção que atingirá 3,1 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

No entanto, vários fatores podem afetar a capacidade produtiva do feijoeiro, entre eles a ocorrência de doenças, tais como o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). O mofo branco é considerado uma das principais e mais destrutivas doenças do feijoeiro (CADORE; TORNEM, 2015), podendo causar perdas de 100% em lavouras com alta severidade da doença.

O mofo branco é disseminado a partir de sementes infectadas, devido ao fato do patógeno sobreviver por um longo período, fazendo com que a população da doença aumente a cada semeadura com culturas da mesma espécie hospedeira (WU; SUBBARAO, 2008).

Com isso, o tratamento químico de sementes é um procedimento importante na produção agrícola, dado que os fungicidas podem controlar de maneira eficiente muitos patógenos que estão presentes, tanto na semente quanto no solo (MACHADO, 2000).

Quando é realizado de maneira efetiva, o tratamento de sementes proporciona um adequado estande inicial, mesmo com a semeadura coincidindo com períodos de estiagem (REZENDE et al., 2003). No entanto, com a ausência desse tratamento, ocorre um decréscimo na emergência das plântulas, comprometendo o estande inicial da cultura (MERTZ et al., 2009).

O uso excessivo de agrotóxicos pode ter efeito nocivo tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana, além de ser responsável pelo surgimento de patógenos resistentes aos fungicidas (NASEBY et al., 2000). Além disso, vem crescendo a preferência do consumidor por alimentos produzidos de forma sustentável e sem contaminantes, que utilizem formas alternativas de controle, substituindo o uso de produtos químicos (PERUCH; SILVA, 2008).

A utilização de *Trichoderma* para tratamento de sementes é considerado uma forma de controle biológico, o qual vem sendo utilizado para viabilizar a redução do

tratamento químico, principalmente por ser um método seguro que não polui e não causa desequilíbrio ambiental, o que conseqüentemente leva a sustentabilidade do sistema, possibilitando semeaduras subsequentes com menores problemas relacionados a doenças, além de agir como bioestimulante de plantas (VENEGAS; SCUDELER, 2012).

Já o *Bacillus* é uma bactéria habitante natural do solo, com capacidade de colonizar as raízes, estimulando diretamente ou beneficiando o crescimento e desenvolvimento de diversas plantas, a qual produz antibióticos, enzimas fitohormônios proporcionando benefícios para as plantas. Essa bactéria é descrita como promotora de crescimento, podendo promover a elevação de disponibilidade de fósforo no solo, colaborando no aporte de nutrientes para as plantas (ARAUJO, 2008).

Para viabilizar a inoculação das sementes com um patógeno e o posterior tratamento (químico e biológico), existem métodos que garantam a reprodução e a expressão dos sintomas e sinais típicos de uma determinada fitopatologia associada a sementes. Para isso, é imprescindível que tais métodos garantam a infecção das sementes, mas sem comprometer o potencial germinativo e a emergência de plântulas, permitindo avaliações futuras (SOUSA, 2008).

Os métodos para inoculação de sementes mais utilizados, envolvem: imersão das sementes em suspensão de esporos (PEDROSO et al., 2010); contato direto entre as sementes e a cultura fúngica desenvolvida em meio de cultura (MIGLIORINI et al., 2018); e condicionamento osmótico (VENTUROSOSO et al., 2015).

Além disso, outra possibilidade é a contaminação do solo/substrato, nos quais serão depositadas as sementes, com discos de meio de cultura contendo estruturas do patógeno ou com grãos de cereais por ele colonizados (KLINGELFUSS et al., 2007).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento químico e biológico sobre a germinação, vigor e sanidade de sementes de feijão (cv. 'IPR Tuiuiú) inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* por meio de restrição hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e na Área Experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Erechim/RS, em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

Foram utilizadas sementes de feijão da cultivar IPR Tuiuiú (grupo preto, ciclo

médio da emergência a colheita é de 88 dias), safra 2019, classificação C1, as quais foram doadas pelas Sementes Zanotto, localizada no município de Vacaria/RS. Inicialmente, foi realizado a caracterização da qualidade das sementes, sendo: i) umidade: 15%, ou seja, acima do valor recomendado de 13% (ZUCARELI et al., 2015); ii) condutividade elétrica: $54,35 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, considerado de alto vigor (SMANIOTTO et al., 2013); iii) germinação: 96%, acima do padrão mínimo exigido pelo Ministério da Agricultura para comercialização, que é de 80% (MAPA, 2013); e iv) sanidade: foram encontrados apenas fungos de armazenamento, sendo: *Rhizopus* spp. (14%), *Aspergillus* spp. (5%) e *Penicillium* spp. (17%).

Após esses testes iniciais, foram realizados os seguintes procedimentos:

Obtenção do inóculo de Sclerotinia sclerotiorum: escleródios do patógeno foram obtidos a partir de plantas de soja com sintomas de mofo branco, em lavoura comercial localizada em Erechim (RS). Os escleródios foram submetidos à assepsia com hipoclorito de sódio a 1% por 1 min e água destilada e esterilizada (três enxagues de 1 min cada). Em placas de Petri contendo o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), os escleródios foram distribuídos e, na sequência, as placas foram incubadas a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas (PEREIRA et al., 2009). Após 7 dias de incubação, procedeu-se o reconhecimento das estruturas do patógeno e realizou-se a repicagem das estruturas do fungo para placas contendo o meio de cultura BDA, a fim de obter cultura pura (Figura 1a).

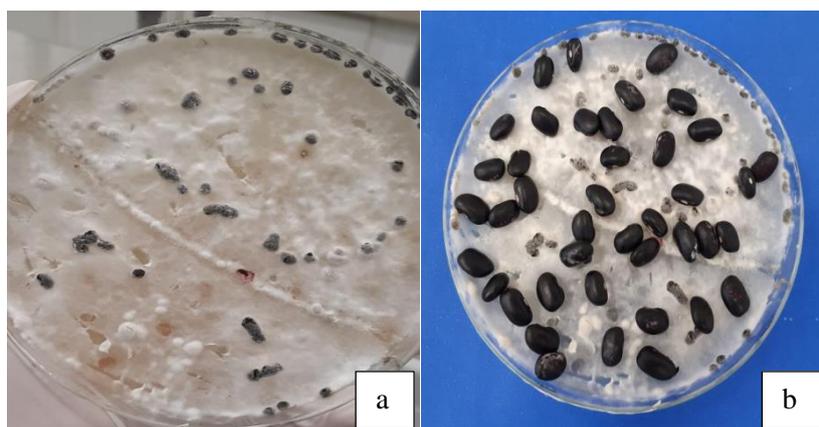


Figura 1. Etapas da inoculação de sementes de feijão, cultivar IPR-Tuiuiú, com *Sclerotinia sclerotiorum*. Obtenção do inóculo do patógeno em meio de cultura BDA (a). Inoculação das sementes de feijão em meio de cultura BDA suplementado com o restritor hídrico manitol (-0,6 MPa) (b).

Inoculação das sementes de feijão com Sclerotinia sclerotiorum: foi realizada

por meio da técnica de restrição hídrica (COUTINHO et al., 2001; CRUCIOL; COSTA, 2017). Antes da inoculação as sementes foram submetidas à assepsia, visando eliminar fungos contaminantes que estejam aderidos à superfície das sementes. Para isso, as sementes foram desinfestadas em fluxo laminar com hipoclorito de sódio a 1% (1 min) e, em seguida, enxaguadas com água destilada e esterilizada (1 min), deixando-as secar a temperatura ambiente por 24 horas (ORDOÑEZ, 2016). Após a assepsia, as sementes foram expostas ao patógeno em meio de cultura BDA suplementado com o restritor hídrico manitol ($C_6H_{14}O_6$), a fim de garantir um potencial hídrico de $-0,6$ MPa ($44,26g$ de manitol L^{-1} BDA) (MACHADO, 2004). O meio foi autoclavado (120 °C e 1 atm, por 20 min) e após vertido em placas de Petri (15 cm de diâmetro).

Em seguida, o meio de cultura solidificar, cinco discos (5 mm) de meio BDA contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* foram transferidos para as placas com auxílio da pinça. As placas foram acondicionadas em incubadora tipo BOD, a temperatura de 23 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias, quando o patógeno alcançou seu crescimento micelial até as bordas da placa de Petri. As sementes de feijão foram distribuídas e levemente prensadas sobre o meio BDA + manitol, em camada única (Figura 1b), incubadas a 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, permanecendo sobre o meio em contato direto com o patógeno com diferentes tempos de inoculação (2, 6, 12, 18, 24, 36 e 48 horas). Após esse teste inicial, repetiu-se o procedimento com o período de 12 horas, a 23 °C e fotoperíodo de 12 horas (CRUCIOL; COSTA, 2017). Na sequência as sementes foram removidas e deixadas para secar em temperatura ambiente, devidamente cobertas com papel toalha esterilizado, por 24 horas (ORDOÑEZ, 2016).

Tratamento de sementes inoculadas com Sclerotinia sclerotiorum: após a inoculação do patógeno, as sementes de feijão foram submetidas aos tratamentos: T1) fungicida tiofanato-metílico + fluazinam (dose de 180 mL/100 kg de sementes); T2) *Trichoderma asperellum* ($1,0 \times 10^{10}$ conídios mL^{-1} ; 1 mL/kg de sementes); T3) *Trichoderma harzianum* (1×10^9 UFCs; 48 g L^{-1}); T4) *Bacillus subtilis* (1×10^9 UFCs; 2 mL/kg); T5) *Bacillus amyloliquefaciens* (3×10^8 UFCs; 2 mL/kg); T6) Testemunha positiva (sementes expostas ao patógeno, mas não tratadas); T7) Testemunha negativa + fungicida; T8) Testemunha negativa + *Trichoderma asperellum*; T9) Testemunha negativa + *Trichoderma harzianum*; T10) Testemunha negativa + *Bacillus subtilis*; T11) Testemunha negativa + *Bacillus subtilis*; T12) Testemunha negativa (somente meio BDA com restritor hídrico manitol).

Em seguida, as sementes permaneceram em temperatura ambiente, durante 24

horas, para completa secagem (ORDOÑEZ, 2016) e, a fim de verificar a eficiência dos tratamentos sobre a qualidade fisiológica de sementes de feijão, após a inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum*, foram realizados os testes:

Sanidade: Realizado a partir de oito repetições de 25 sementes, conforme metodologia adaptada do Manual para Análise Sanitária de Sementes (BRASIL, 2009a). Por meio do método de “*blotter test*” sem congelamento, as sementes foram distribuídas em caixas “gerbox”, contendo duas folhas de papel mata-borrão. A fim de suprimir a germinação das sementes e, por se tratar de uma dicotiledônea, o papel foi umedecido com solução de sal de 2,4-D (5 ppm). As sementes foram incubadas a 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias e analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópico e ótico. Determinou-se o percentual (%) de incidência de fungos, identificados conforme bibliografia especializada (BARNETT; HUNTER, 1999; BRASIL, 2009a; HENNING, 2015).

Teste de germinação: Foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes, conforme adaptação das Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009b). As sementes foram colocadas em papel germitest umedecido com água destilada em 2,5 a 3 vezes o seu peso seco. Após a semeadura, foram confeccionados rolos os quais foram dispostos em câmara de germinação a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações ocorreram por meio de contagens aos cinco e nove dias após semeadura (DAS). Na primeira contagem foram contabilizadas todas as sementes germinadas e que originaram plântulas normais. Na segunda contagem, as plântulas foram classificadas em normais, anormais e sementes não germinadas (duras e mortas).

Índice de velocidade germinação (IVG): realizado a partir de oito repetições de 25 sementes cada, distribuídas sobre papel germitest esterilizado e umedecido em 2,5 a 3 vezes o seu peso seco. As amostras foram incubadas a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação das sementes germinadas foi feita diariamente, por meio da contagem de plântulas normais, até o quinto dia, juntamente a primeira contagem de geminação (BRASIL, 2009b). Após a obtenção dos dados diários do número plantas normais, foi calculado o IVG utilizando-se a equação proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \left(\frac{G1}{N1}\right) + \left(\frac{G2}{N2}\right) + \dots + \left(\frac{Gn}{Nn}\right), \text{ em que:}$$

IVG = Índice de velocidade de germinação;

G1, G2, Gn = número de plantas normais computadas em cada contagem;

N1, N2, Nn = número de dias da semeadura até as respectivas contagens.

Frio sem solo: conduzido de maneira similar ao teste de germinação, os rolos contendo as sementes permaneceram em incubadora a 10 ± 2 °C, com ausência de fotoperíodo, durante três dias (MIGUEL; CICERO, 1999; GUISTEM et al., 2010). Após, os rolos foram colocados em incubadora a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante quatro dias e, em seguida foi realizada a contagem de plântulas normais (BRASIL, 2009b).

Envelhecimento acelerado: quatro amostras de 50 sementes para cada tratamento foram distribuídas sobre telas de alumínio, suspensas em caixas “gerbox” (11,0 x 11,0 x 3,0 cm), contendo 40 mL de água destilada. As “gerbox” foram mantidas em câmara incubadora durante 72 horas, a 42 ± 2 °C e, logo após, procedeu-se a montagem do teste de germinação, realizando-se a primeira e a segunda contagem das sementes germinadas, conforme previamente descrito no teste de germinação para feijão (MARCOS FILHO, 1999).

Emergência a campo: Foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes e realizadas avaliações de emergência aos 7, 14, 21 e 30 DAS, contabilizando-se em ambos o número de plantas emergidas, isto é, que apresentaram os folíolos primários totalmente expandidos (MIGLIORINI et al., 2017). Aos 30 DAS foi realizada a coleta das plantas presentes em cada parcela, para a quantificação de massa seca de parte aérea (g). Para isso, retirou-se 25 plantas de cada repetição e acondicionou-se em sacos de papel *kraft* (capacidade para 3 kg). As amostras foram dispostas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C até atingir peso constante, sendo os valores expressos em g plântula (DUTRA et al., 2012).

Análise estatística: Os dados obtidos foram tabulados e, posteriormente, submetidos à análise de variância por meio do teste F ($p \leq 0,05$) e, quando significativos, efetuou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas por meio do *software* estatístico SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum*, pelo método da restrição hídrica, apresentaram resultados satisfatórios alcançando até 100% de colonização quando as sementes foram deixadas em contato direto com o patógeno por 48 horas (Figura 2). Tais resultados demonstram a eficácia do método de inoculação por contato direto, utilizando

a restrição hídrica.

Resultados semelhantes foram obtidos por Migliorini et al. (2017), os quais relatam que as sementes de feijão apresentaram maior incidência de antracnose quando utilizado o método de contato direto com *Colletotrichum lindemuthianum*. Do mesmo modo, Venturoso et al. (2015), verificaram que a emergência de plântulas de feijão, teve um decréscimo superior a 60%, quando as sementes foram inoculadas por meio de contato com o patógeno. No presente trabalho o tempo de inoculação foi de 12 horas, tendo como resultado uma colonização de 40% das sementes.

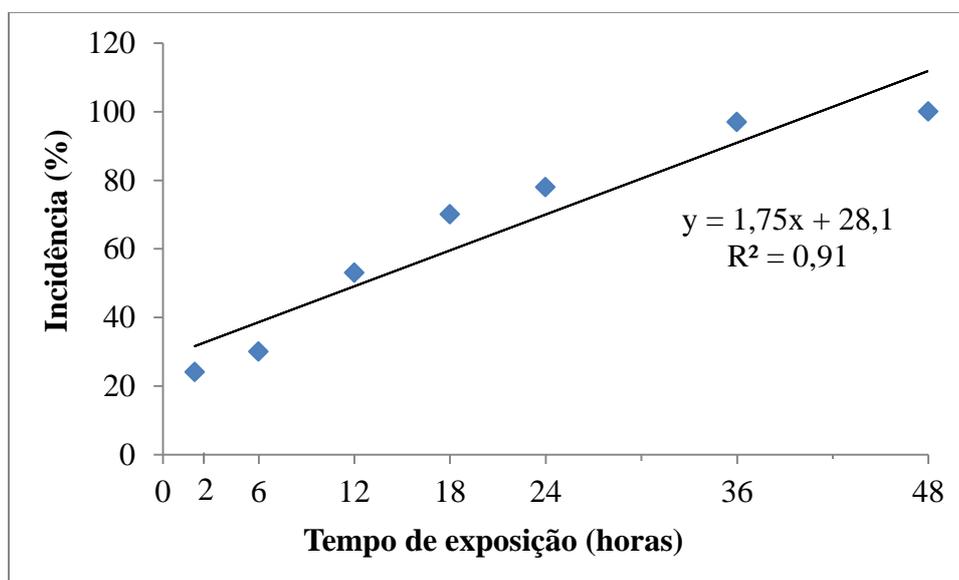


Figura 2. Incidência de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão, cv. IPR Tuiuiú, inoculadas ou não com o patógeno, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa), em função do tempo de exposição (horas). A equação e o R^2 encontram-se no gráfico.

As sementes que não foram inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* apresentaram os melhores desempenhos nas variáveis analisadas e não mostraram incidência do fungo nas sementes (Tabela 1). Tais resultados demonstram a importância da obtenção de sementes de boa qualidade, para que assim, obtenha-se um estabelecimento adequado da cultura na lavoura (ARAUJO et al., 2011), adicionalmente quanto maior o nível de inóculo inicial de um determinado patógeno, maior é o número de sementes mortas (REYS et al., 2014).

Dos tratamentos que foram inoculados, apenas o com fungicida não diferiu estatisticamente dos que não foram inoculados (Tabela 1), mostrando a eficiência do

produto. Resultados semelhantes foram observados por Batista et al. (2014) que utilizando a aplicação de fluazinam + tiofanato metílico apresentou os melhores resultados para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja inoculadas. O ingrediente ativo fluazinam é utilizado também para controle de mofo branco na lavoura, e conforme por Henning et al. (2009) com a aplicação desse fungicida, a doença apresentou redução de 11,50 %.

Tabela 1. Germinação (G, %), índice de velocidade de germinação (IVG), envelhecimento acelerado (EA, %), teste de frio (TF, %) e incidência (Inc., %) de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão, cv. ‘IPR-Tuiuiú’, inoculadas ou não com o patógeno, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa) e posteriormente tratadas.

Tratamentos ¹	Inc. (%)	G (%)	IVG	E.A. (%)	T.F. (%)
T1) Fungicida + Ss	2 ab	97 a*	8,85 abc	86,00 a	98,50 ab
T2) <i>Trichoderma asperellum</i> + Ss	26 de	92 ab	7,85 bc	40,50 bc	93,50 ab
T3) <i>Trichoderma harzianum</i> + Ss	30 ef	83 ab	7,45 c	48,00 b	93,50 ab
T4) <i>Bacillus subtilis</i> + Ss	20 cd	73 c	5,60 d	48,00 b	94,50 ab
T5) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + Ss	11 bc	82 bc	5,05 d	30,00 de	82,00 c
T6) Testemunha positiva	40 f	52 d	4,25 d	26,50 e	68,00 d
T7) Fungicida	0 a	98 a	8,25 abc	89,00 a	100,00 a
T8) <i>Trichoderma asperellum</i>	0 a	98 a	9,20 ab	46,50 b	98,50 ab
T9) <i>Trichoderma harzianum</i>	0 a	98 a	8,80 abc	38,00 cde	92,50 ab
T10) <i>Bacillus subtilis</i>	0 a	99 a	9,50 a	41,50 bc	89,00 bc
T11) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0 a	97 a	8,25 abc	37,50 cde	93,50 ab
T12) Testemunha negativa	0 a	97 a	7,45 c	31,00 de	90,00 bc
C.V. (%)**	24,27	5,99	7,67	9,95	4,28

¹Tratamentos: Ss: Sementes inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*; *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ** Coeficiente de variação.

No tratamento T6 a inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* foi capaz de causar danos nas sementes de feijão, pois apresentou as menores médias em todas as variáveis apresentadas (Tabela 1).

Por ser o tratamento onde as sementes foram inoculadas e não receberam nenhum tipo de tratamento Venturoso et al. (2015) explicam que esse patógeno pode causar a morte das sementes, antes mesmo delas iniciarem o processo germinativo, o que pode ter relação com a agressividade de *Sclerotinia sclerotiorum*, assim como condições favoráveis ao seu estabelecimento e, também, por ele colonizar rapidamente os tecidos vegetais.

O tratamento químico (T1), com o fungicida tiofanato-metílico + fluazinam assegurou que mesmo em sementes inoculadas com o patógeno, as variáveis analisadas alcançassem resultados semelhantes aos das sementes que não foram inoculadas. Souza et al. (2008) também verificaram eficiência no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, em sementes infectadas com o patógeno com o mesmo fungicida.

Os tratamentos realizados com *Trichoderma* (T2 e T3), também apresentaram resultados superiores comparando-se aos demais tratamentos nas sementes inoculadas (T1 - T6). Isso pode ter relação ao fato de que esse micro-organismo apresente potencial para o controle de mofo-branco pela ação de metabólitos e também pelo parasitismo que exerce sobre as hifas do patógeno (CARVALHO FILHO, 2013).

Além disso, Medina et al. (2010) concluíram que existe relação entre a indução de produção de auxinas por *T. harzianum* e o estímulo ao crescimento vegetal. De forma semelhante. Carvalho et al. (2011) verificaram que três isolados de *T. harzianum* proporcionaram percentuais de germinação superiores nas sementes de feijão comum, cv. 'Jalo Precoce', que não foram tratadas.

Em relação ao IVG (Tabela 1), pode-se observar que os tratamentos com menor velocidade de emergência foram T4 (*B. subtilis*) e T5 (*B. amyloliquefasciens*) e a testemunha (T6) (Tabela 1). Os tratamentos com fungicida e *Trichoderma* (T2 e T3) favorecem o aumento da velocidade de germinação, o que diminui o tempo necessário para o estabelecimento da cultura e assim proporciona maior habilidade competitiva frente a plantas daninhas, as quais podem causar competição e redução na produtividade, que em alguns casos chega a níveis de 60-70% em feijão (SALGADO et al., 2007).

Já no envelhecimento acelerado, apenas os tratamentos com fungicida foram superiores (Tabela 1), tanto em sementes com o patógeno, quanto sem a exposição a ele.

Singh et al. (2014), relatam que a temperatura para incubação de vários isolados fúngicos, como *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Graphium* sp. e *Trichoderma* é de 30 °C, os autores também demonstram que nenhuma das espécies de *Trichoderma* cresce acima de 40 °C. Desse pode-se explicar porque nesta variável os tratamentos realizados com *Trichoderma* e *Bacillus* não beneficiaram o vigor das sementes.

No teste de frio, os resultados obtidos foram semelhantes ao de germinação (Tabela 1). Barros et al. (1999), apontaram que geralmente os resultados de germinação no teste de frio sem solo, sejam semelhantes aos de germinação, pois a capacidade das sementes germinarem em solos úmidos e frios, está ligada a fatores fisiológicos da própria semente, fatores como sua herança genética ou danos mecânicos.

Tabela 2. Emergência (%) de plantas de feijão, cv. IPR Tuiuiú, aos 7, 14, 21 e 30 dias após a sementeira, com sementes inoculadas ou não com *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa) e posteriormente tratadas.

Tratamentos ¹	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias
 %			
T1) Fungicida + Ss	0 ^{ns}	79 abc [*]	79 abc	79 abc
T2) <i>Trichoderma asperellum</i> + Ss	0	67 cd	67 cd	67 cd
T3) <i>Trichoderma harzianum</i> + Ss	0	74 abc	74 abc	74 abc
T4) <i>Bacillus subtilis</i> + Ss	0	68 cd	68 cd	68 cd
T5) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + Ss	0	72 bcd	72 bcd	72 bcd
T6) Testemunha positiva	0	57 d	57 d	57 d
T7) Fungicida	0	88 a	88 a	88 a
T8) <i>Trichoderma asperellum</i>	0	79 abc	79 abc	79 abc
T9) <i>Trichoderma harzianum</i>	0	84 ab	84 ab	84 ab
T10) <i>Bacillus subtilis</i>	0	77 abc	77 abc	77 abc
T11) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0	75 abc	75 abc	75 abc
T12) Testemunha negativa	0	72 bc	72 bc	72 bc
C.V. (%)**	0	4,97	4,97	4,97

¹Tratamentos: Ss: Sementes inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*; *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ** Coeficiente de variação.

Na análise de emergência, os tratamentos em que as sementes não foram inoculadas e as que foram tratadas com fungicida, apresentaram os melhores resultados aos 14, 21 e 30 dias (Tabela 2). Zancan (2011) explica que de forma geral os fungicidas são capazes de inibir o crescimento do fungo em até 87,3%, não havendo crescimento micelial do mesmo nas sementes de feijão quando tratadas, possibilitando que elas germinem sem a interferência do fungo, que muitas vezes mata a semente, antes do início da germinação. Já para Brand et al. (2009), em sementes de soja, tratadas com diferentes combinações de *Trichoderma* spp. e de tratamento químico (carboxina + tiram), não houve diferença estatística para emergência. Silva et al. (2017), constataram que o mofo branco foi muito agressivo, reduzindo a emergência das plantas de soja, além de o tratamento biológico não ter sido eficiente.

Tabela 3. Massa verde (MV, g) e seca (MS, g) após 30 dias, de plantas cujas sementes foram inoculadas ou não com *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa) e posteriormente tratadas.

Tratamentos ¹	Massa Verde (g)	Massa Seca (g)
T1 - Fungicida + Ss	3,88 abcd*	0,56 abc
T2 - <i>Trichoderma asperellum</i> + Ss	2,88 bcd	0,36 c
T3 - <i>Trichoderma harzianum</i> + Ss	4,09 abc	0,54 abc
T4 - <i>Bacillus subtilis</i> + Ss	3,38 bcd	0,46 bc
T5 - <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + Ss	4,05 abcd	0,55 abc
T6 - Testemunha positiva	2,58 cd	0,42 c
T7 - Fungicida	3,20 bcd	0,47 bc
T8 - <i>Trichoderma asperellum</i>	3,67 abcd	4,09 abc
T9 - <i>Trichoderma harzianum</i>	3,38 bcd	0,48 bc
T10 - <i>Bacillus subtilis</i>	5,08 a	0,699 ab
T11 - <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5,13 a	0,72 a
T12 - Testemunha negativa	2,45 d	0,42 c
C.V. (%)**	26,78	28,88

¹ Tratamentos: Ss: Sementes inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*; *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ** Coeficiente de variação.

No teste de emergência à campo, verificou-se que os tratamentos com *Bacillus*, apresentaram os melhores resultados para a massa verde e seca (g) (Tabela 3). Segundo Araujo et al. (2005), isso pode estar relacionado ao fato de *Bacillus* spp. ser uma bactéria de solo que produz hormônio como ácido indol-acético (AIA) e indol butírico (AIB), secreta enzimas importantes para a nutrição das plantas, principalmente por facilitar a nodulação. Canbolat et al., (2006) relataram aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas, proporcionado pelo incremento da nodulação, em plantas de milho e algodão, quando inoculadas com *Bacillus subtilis*.

Os demais tratamentos não diferiram estaticamente entre si, na variável de massa verde e massa seca, porém, as testemunhas, tanto negativa quanto a positiva, apresentaram os piores resultados. Chowdappa et al. (2013), também evidenciam que o nível de ácido indolacético aumentou em 45% em raízes de mudas de tomate inoculadas com *Trichoderma*, quando comparadas as plantas não inoculadas. Similarmente, Zangui et al. (2017), constataram que as raízes laterais de soja aumentaram até 34,3 % em relação a plantas que não foram inoculadas com *Trichoderma*.

Alves & Nunes (2016) explicam que plantas com maior massa de raiz exploram maior volume de solo, melhorando as condições nutricionais e proporcionando com isso, maior tolerância às condições adversas, que podem ser encontradas no campo, tornando-se menos sensíveis aos possíveis patógenos de solo e de parte aérea.

Conforme os resultados demonstrados nesse trabalho, percebe-se que o método mais eficiente para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão é o tratamento químico. No entanto, o uso de *Trichoderma* e de *Bacillus* também foram eficientes quando comparadas a testemunha (T6) corroborando o que Zhang et al. (2017), observaram em plantas colonizadas por *Trichoderma harzianum* em que houve maior capacidade de combater ataques de fungos patogênicos. Portanto, mesmo que em alguns aspectos o antagonista colabore para melhoria do potencial das plântulas, atende seu propósito de proteção das mesmas.

CONCLUSÃO

1) A técnica de restrição hídrica proporciona uma eficiente infecção de sementes de feijão, cultivar. 'IPR Tuiuiú', com o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, mesmo quando utilizado tempos de inoculação menores.

2) O tratamento químico com fungicida, assegura a manutenção da qualidade fisiológica das sementes, o que se reflete sobre a germinação, vigor e sanidade das sementes.

3) A microbiolização tanto com *Trichoderma asperellum*, quanto com *Trichoderma harzianum*, proporciona melhoria na germinação, vigor e sanidade das sementes de feijão, mas ainda não é melhor do que o fungicida.

4) Os tratamentos com *Bacillus subtilis* e *B. amyloliquefaciens*, embora menos eficientes que o fungicida o *Trichoderma harzianum* e *T. asperellum*, proporcionam melhoria na germinação, vigor e sanidade das sementes, assim como para massa verde e seca (g) das plantas, em que se destaca pelos melhores resultados.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. L.; NUNES, M. Uso de *Trichoderma* spp. no controle de antracnose na cultura do feijoeiro comum *Phaseolus vulgaris*. **Revista técnico-científica do CREA-PR**, ed. 4, n.4, p. 2-14, 2016.

ARAUJO, F. F.; HENNING, 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 & Biotechnology**, v. 21, n.21, p. 1639-1645, 2005.

ARAUJO, R.F; ZONTA, B. J; ARAUJO, F.E; HEBERLE, H.; ZONTA, G. M. F. Teste de condutividade elétrica para sementes de feijão-mungo-verde. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33. n. 1 p.123-130, 2011.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. **American Phytopathology Society**, Minnesota, ed 4. 218 p. 1999.

BARROS, A. S. do R.; DIAS, M. C. L. de L.; CICERO, S. M.; KRYZANOVSKI, F. C. Testes de frio. In: KRYZANOVSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. de BARROS (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Associação Brasileira de Tecnologia de sementes, 218 p., 1999.

- BATISTA, B.T.; COSTA, N.L.M.; CRUCIOL, D.C.G.; NASCIMENTO, D. M.; BARDIVIESSO, M. E. Controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.19, p.594, 2014.
- BINOTTI, F. F. S.; ARF, O.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, A. C. C.; KAMIMURA, K.M. Fontes, doses e modo de aplicação de nitrogênio em feijoeiro no sistema plantio direto. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 473-481, 2009.
- BRAND, S. C.; ANTONELLO, L. M.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E.; SANTOS, V. J. dos; REINIGER, L. R. S. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja submetidas a tratamento com bioprotetor e fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p. 87-94, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: MAPA, 2009a. p.200.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. MAPA/ACS, 2009b. p. 395
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº45 de 17 de setembro de 2013**: padrões para a produção e a comercialização de sementes de soja. Anexo XXIII, 2013. p. 29.
- CADORE, P.C; TORMEN, R.N. **Como controlar mofo branco em feijão**. Cultivar grandes culturas. n.190, p. 38 – 40, 2015.
- CANBOLAT, M.; BILEN, S.; ÇAKMAKÇI, R.; SAHIN, F.; AYDI, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and oil compaction on barley seeding growth, nutrient uptake soil properties and rhizosphere microflora. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 3. p. 350-357, 2006.
- CARVALHO FILHO, M. R. **Relações filogenéticas, identificação e potencial de uso de isolados de *Trichoderma* no controle do mofo-branco em feijoeiro**. p. 98
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 28-34, 2011.

CHOWDAPPA, P.; MOHAN, K. S.P.; LAKSHMI, M.J.; UPRETI, K.K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v.65, n.1 p. 109–117, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, v.5, Safra 2018/2019, n.8, oitavo levantamento, mai. 2019.

COUTINHO, W.M.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.C.V.; GUIMARÃES, R.M.; FERREIRA, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p.127-135. 2001.

CRUCIOL, G. C. D.; COSTA, M. L. N. Influência de metodologias de inoculação de *Macrophomina phaseolina* no desempenho de cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 4, p. 337-343, 2017.

DUTRA, A.S.; BEZERRA, F.T.C.; NASCIMENTO, P. R.; LIMA, D. C. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão caupi em função da adubação nitrogenada. **Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 816-821, 2012.

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

GUISCHEM, J. M. FARIAS, S.A.; FIGUEIREDO, T. R.; CHAVES, S. M.A.; FIGUEIREDO, T. B.; PEREIRA, C.F.; ARAUJO, G. R.J.; MARTINS, R.M. Teste de

frio e envelhecimento acelerado na avaliação de vigor de sementes de feijão-frade. Lisboa: **Revista de Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 182-191, 2010.

HENNING, A. A. **Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja**. Brasília: Embrapa Soja, p. 25, 2015.

HENNING, A. A.; PAULA, F. Y. H.; MONTEMEZZO, C. A. O.; BOSSE, E. J.; BERGONSI, J. S. S. **Avaliação de princípio sativos para o controle químico de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja – safra 2008/2009**. Informativo Abrates. n.1. v. 19., 2009.

KLINGELFUSS, L.H.; YORINORI, J.T.; DESTRO, D. Métodos de inoculação para quantificação de resistência em soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 50-55, 2007.

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.M.; VIEIRA, M.G.; ALVES, M.C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 62-67, 2004.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000, p.128.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emerge and vigor. **Crop Science**, v. 2, n.11, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p. 1-21.

MEDINA, A. M.; PACUAL, J. A.; ALFOCEA, F. P.; ALBACETE, A.; ROLDÁN, A. *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices* modify the hormone disruption induced by *Fusarium oxysporum* infection in melon plants. **Phytopathology**, v. 100, n. 7, p. 682-688, 2010.

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

MIGLIORINI, P.; DORNELES, R. K.; RODRIGUES, F.G.; PAULA, G.; TUNES, M. V. L. Métodos de inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão e danos em plântulas. **Biotemas**, v. 30, n. 1, p. 37-43, 2017.

MIGLIORINI, P.; MILANESI, P.M.; MEZZOMO, R. MACIEL, C. G.; MUNIZ, M.F.B. *Fusarium solani* and *F. oxysporum*: Etiological agents of damping off in crambe. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n.1, e5510, 2018.

MIGUEL, M. H.; CICERO, S. M. Teste de frio na avaliação de vigor de sementes de feijão. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1233-1243. 1999.

NASEBY, D.C.; PASCUAL, J.A.; LYNCH, J.M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* population, soil microbial communities and soil enzyme activities. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.161-169, 2000.

ORDOÑEZ L., M.I. **Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 86 p. Dissertação de Mestrado.

PEDROSO, D. C. MENEZES, V.O.; MUNIZ, M, F, B.; PIVETA, G.; TUNES, L.M.; MULLER, J., MENEZES, N.L.; Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**. 2010, v.32, n.3, p.79-85.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; ROSA, M.C.M.; OLIVEIRA, G.E.; COSTA NETO, J. Tratamento fungicida de sementes de soja inoculadas com *Colletotrichum truncatum*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2390-2395, 2009.

PERUCH, L.A.M.; SILVA, A.C.F. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. **Ciência**

Rural, v.38, n.9, p.2413-2418, 2008.

REY, M.S.; SANTOS, J, D.; PIEROBOM, C.R. Transmissão semente plântula de *Colletotrichum lindemuthinum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 465-470. 2014.

REZENDE, P.M.; MACHADO, J. C.; GRIS, C. F.; GOMES, L.L.; BOTREL, E. P.; Efeito da semeadura a seco e tratamento de sementes na emergência, rendimento de grãos e outras características da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência Agrotécnica**, v.27, n.1, p.76-83, 2003.

SALGADO, T.P. et al. Interferência das plantas daninhas no feijoeiro carioca. **Planta Daninha**, v.25, n.3, p. 443-448, 2007.

SCUDELER, F; VENEGAS, F. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Ensaio e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.16, n.5, p. 9-19, 2012.

SILVA, F.F.; Emergência e análise ultraestrutural de plântulas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* sob efeito da aplicação de *Trichoderma harzianum*. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.1, p. 41-45, 2017.

SINGH, A.; SHAHID, M.; SRIVASTAVA, M.; PANDEY, S; SHARMA, A.; KUMAR, V. Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. **Virology & Mycology**. v.3, p 3-10, 2014.

SMANIOTTO, T. A. de S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C. de O.; SIMON, G. A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.4, p.446-453, 2014.

SOUZA, P.C.R. **Efeito de fungicidas para controle de mofo branco em sementes de feijão para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. Documentos, IAC, Campinas, 85, 2008.

VENTUROSOS, L. R.; BACCHI, L.; GAVASSONI, W. L.; VENTUROSOS, L. A. C. Inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de oleaginosas: transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas. **Ciência Rural**, v. 45, n. 5, p. 788-793, 2015.

WU, B.M.; SUBBARAO, K.V. Effects of soil temperature, moisture, and burial depths on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. **Phytopathology**, v.98, n.10, p.1144-1152, 2008.

ZANCAN, W. L. A. **Sensibilidade a fungicidas e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijoeiro**. Faculdade de Agronomia. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Lavras, p. 54, 2011.

ZHANG, K.; HE, Y.; CHEN, C.; JI, X. *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean. **Journal of Plant Physiology**, v.10, p. 84-94, 2017.

ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; WERNER, F.; RAMOS, E.U. NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.19, n.8, p.803–809, 2015.

APÊNDICE I

Tabela 3. Sanidade de sementes de feijão, cv. ‘IPR-Tuiuiú’, inoculadas ou não com *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa) e posteriormente tratadas.

Tratamentos ¹	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.
T1 – F + Ss	2,0 ab [*]	0,0 a	0,0 a	0,0 ^{ns}
T2 – Ta + Ss	26,0 de	3,0 ab	0,0 a	0,0
T3 – Th + Ss	30,0 ef	9,0 bcd	0,5 ab	0,0
T4 – Bs + Ss	20,0 cd	12,0 d	1,5 abc	0,0
T5 – Ba + Ss	11,0 bc	16,0 de	9,0 c	2,0
T6 – TP	40,0 f	13,0 de	1,50 abc	3,5
T7 – F	0,0 a	4,0 abc	5,0 bcd	0,5
T8 – Ta	0,0 a	10,0 bcd	4,5 abc	1,5
T9 – Th	0,0 a	11,0 de	4,0 abc	1,0
T10 – Bs	0,0 a	9,0 bcd	3,5 abc	4,0
T11 – Ba	0,0 a	12,0 d	3,0 abc	4,0
T12 – TN	0,0 a	20,0 e	3,5 abc	1,5
C.V. (%) ^{**}	24,27	24,24	38,31	45,02

¹Tratamentos: T1) Fungicida + *Sclerotinia sclerotiorum*; T2) *Trichoderma asperellum* + Ss; T3) *Trichoderma harzianum* + Ss; T4) *Bacillus subtilis* + Ss; T5) *Bacillus amyloliquefaciens* + Ss; T6) Testemunha Positiva; T1) Fungicida; T2) *Trichoderma asperellum*; T3) *Trichoderma harzianum*; T4) *Bacillus subtilis*; T5) *Bacillus amyloliquefaciens*; T6) Testemunha negativa; T7) Fungicida; T8) *Trichoderma asperellum*; T9) *Trichoderma harzianum*; T10) *Bacillus subtilis*; T11) *Bacillus amyloliquefaciens*; T12) Testemunha negativa. ^{ns} não significativo. *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{**} Coeficiente de variação.

APÊNDICE II

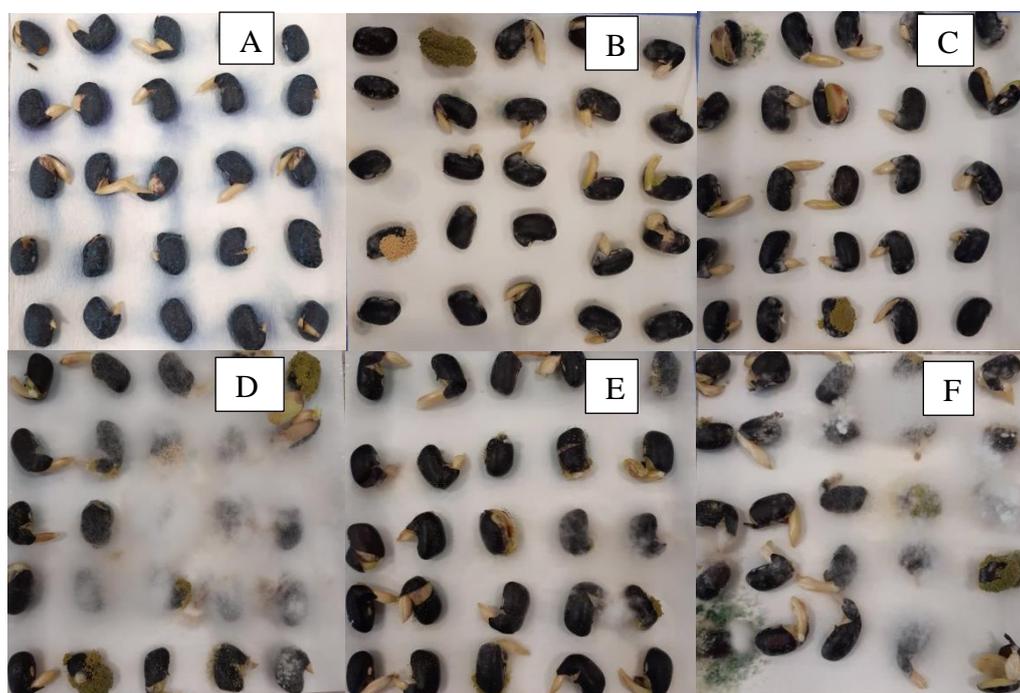


Figura 4. Incidência (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão, cv. ‘IPR-Tuiuiú’, inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de restrição hídrica com manitol (-0,6 MPa) e posteriormente tratadas com: Fungicida (A); *Trichoderma asperellum* (B); *Trichoderma harzianum* (C); *Bacillus subtilis* (D); *Bacillus amyloliquefaciens* (E); Testemunha positiva (F).