



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



Biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *S. sclerotiorum* na cultura da soja

BIOCONTROL WITH TRICHODERMA AND BACILLUS TO *S. SCLEROTIURUM* IN SOYBEAN

Bruno dos Santos Backes, Sérgio Miguel Mazaro, Isabela Schmoller; Alison Grassi, Fábio Giongo, Roberto Sadão Sinabucro Saburo

RESUMO

A *Sclerotinia sclerotiorum* é um patógeno que atinge várias culturas agrícolas, com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia dos agentes de biocontrole na colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, sob cultivo de soja. O experimento foi desenvolvido no ano agrícola de 2020/2021 na estação experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Dois Vizinhos sendo os tratamentos *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e associação *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens*. Foram realizadas duas aplicações. Após 20 dias da última aplicação dos biocontroles foi realizada a avaliação carpogênica dos escleródios, em laboratório. Foram acondicionados em caixa gerbox contendo 200 g de solo auto-clavado e incubados à temperatura de 18°C e fotoperíodo (12 horas) por 20 dias. Na avaliação carpogênica foram quantificados o número de escleródios germinados, colonizados, degradados ou podres, número de estirpes, apotécios por escleródios e percentual de controle. Os resultados demonstraram que *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*, tiveram efeito de biocontrole sobre *S. sclerotiorum*, não diferindo entre si quanto a eficiência de controle, no entanto, quando se utilizou a associação de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* e *Bacillus amyloliquefaciens* demonstrou maior eficiência de controle de *S. sclerotiorum*, comprovando que houve um sinergismo entre os agentes biológicos.

Palavras-chave: Controle biológico. Controle alternativo. Mofo branco.

ABSTRACT

Sclerotinia sclerotiorum is a pathogen that affects various agricultural crops; therefore, the aim of this study was to evaluate the effectiveness of biocontrol agents in the colonization of *S. sclerotiorum* sclerotia in the soil under soybean cultivation. The experiment was carried out in the agricultural year of 2020/2021 at the experimental station of the Federal Technological University of Paraná - UTFPR - Dois Vizinhos with the treatments *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and association *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. Two applications were performed. Twenty days after the last application of the biocontrols, the carpogenic evaluation of the sclerotia was carried out in the laboratory. They were placed in a gerbox containing 200 g of autoclaved soil and incubated at a temperature of 18°C and photoperiod (12 hours) for 20 days. In the carpogenic evaluation, the number of germinated, colonized, degraded or rotten sclerotia, number of strains, apothecia per sclerotia and percentage of control were quantified. The results showed that *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* had a biocontrol effect on *S. sclerotiorum*, not differing in terms of control efficiency, however, when the association of *Trichoderma*

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com



harzianum, *Trichoderma asperellum* and *Bacillus amyloliquefaciens* was used, it demonstrated greater efficiency of control of *S. sclerotiorum*, proving that there was a synergism between the biological agents.

Keywords: Biological control. Alternate control. White mold.

1. INTRODUÇÃO

Entre as doenças que incidem sobre a soja, o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary), também conhecido como podridão-de-esclerotínia, tem se destacado como uma das mais graves. “O patógeno sobrevive no solo por meio de estruturas de resistência chamadas de escleródios e pode atacar mais de 400 espécies hospedeiras, entre elas plantas de importância econômica como soja, feijão, algodão e girassol” (BOLTON et al., 2006). “O micélio pode permanecer viável em flores infectadas por até 144 horas em condições desfavoráveis e retoma o desenvolvimento quando as condições favoráveis retornam” (HARIKRISHNAN; DEL RÍO, 2006). Não existem cultivares de soja resistentes a *S. sclerotiorum*, e o controle químico do mofo-branco possui limitações, em razão dos custos, perda de eficiência dos fungicidas e das dificuldades de se obter uma proteção total da planta durante as pulverizações. “Entre as recomendações para manejo do mofo-branco, podem ser destacadas práticas como o controle cultural com formação da palhada para o sistema de plantio direto (SPD) e o controle biológico com antagonistas” (GÖRGEN et al., 2009). Pensando nisso, quais seriam esses antagonistas e quais os efeitos que trazem ao fitopatógeno em questão?

“No Brasil o *Trichoderma* é o principal agente de biocontrole, sendo que as formas de ação de *Trichoderma* envolvem competição, antibiose, micoparasitismo, promoção de crescimento, solubilização de nutrientes, indução de resistência e ação endofítica” (MONTE, et al., 2019; WOO et al., 2014). “Parte da eficiência de isolados de *Trichoderma spp.* no controle biológico depende também da sua capacidade de adaptação ao agroecossistema, do qual não são originários” (LOBO JÚNIOR, 2009).

“Outros agentes biológicos destacam-se, como do gênero *Bacillus* onde se encontra em constante estudo devido à sua capacidade antagonista, demonstrando ação efetiva na prevenção e controle de doenças causadas por várias espécies de patógenos” (FERREIRA et al., 1991). “Estas bactérias podem atuar em vários mecanismos, como antibiose, competição, indução de resistência, mineralização de fosfatos, fixação de nitrogênio e reguladores de crescimento, além de serem capazes de inibir o crescimento de outros organismos no solo” (ROMEIRO, 2005).

A associação de agentes de biocontrole, com uso de *Trichodermas* e *Bacillus* tem demonstrado maior espectro de ação dos microorganismos, e com isso vem melhorado a eficiência no controle de *S. sclerotiorum*. O estudo tem como objetivo avaliar a eficiência dos agentes de biocontrole *Trichoderma* e *Bacillus* na colonização de escleródios de *S. sclerotiorum* no solo, sob cultivo de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no ano agrícola de 2020/2021 conduzido na área de produção orgânica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada na estrada para Boa Esperança, Km 04 - Zona Rural, Dois Vizinhos – PR. Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental de blocos

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

casualizados, em parcelas de 8 linhas de 6 m em cinco repetições. Foram consideradas como parcela útil as quatro linhas de 6 m centrais. A cobertura vegetal que antecedeu a cultura da soja foi a Aveia Preta BRS 139, semeadas à campo (90Kg/ha) e quando atingiu o estágio fenológico de plena floração, foi rolada, com auxílio de rolo faca, e semeado soja cultivar BRS 282, na primeira quinzena de setembro para os dois anos de cultivos, com uma população de 330mil/plantas/ha.

Os tratamentos foram compostos por uma formulação de propágulos de *Trichoderma harzianum* (1×10^{10} UFC/g do produto Ecotrich) uma formulação de *Bacillus subtilis* (mínimo de 1×10^9 UFC/g de ativo do produto Serenade) e a associação de *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120, *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901 (mínimo 5×10^8 UFC/g de pc do produto Pardella) e a testemunha, sem aplicação de biofungicidas (Tabela 1).

Foram realizadas duas aplicações dos agentes de biocontrole no início do estágio vegetativo, nos estádios V2 e V4 (duas e quatro folhas verdadeiras), respectivamente. As doses dos produtos seguiram as recomendações dos fabricantes. Os tratamentos foram aplicados em dias nublados após período chuvoso, no final da tarde. As pulverizações foram realizadas com pulverizadores pressurizados com CO₂, barras com 4 pontas de jato plano e calibrados para vazões de 200 L ha⁻¹.

Amostras contendo 50 escleródios foram colocadas em sacos de tela de náilon com malha de 1,5 mm e dispostas na parcela, e acomodando-os de forma que metade de sua altura fique abaixo da superfície do solo. Em seguida, os escleródios tiveram uma cobertura uniforme de palhada em sua superfície.

As amostras de escleródios foram recolhidas aos 20 dias após a última aplicação, quando os escleródios foram acondicionados em sacos de papel e devidamente identificados. Esses foram transportados em caixas de papelão e direcionados para análises imediatas em laboratório, onde foram realizados os testes de germinação carpogênica.

As avaliações de germinação carpogênica dos escleródios foram realizadas em caixas gerbox contendo 200 g de solo de barranco autoclavado, umedecido até atingir 80% da capacidade de campo. Em cada caixa gerbox foram acondicionados 25 escleródios, e incubados à temperatura de 18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo (12horas) por 20 dias.

Após esse período, foram quantificados o número de escleródios germinados, número de estirpes e apotécios por escleródios, escleródios colonizados, escleródios degradados ou podres, e percentual de controle.

Para as análises estatísticas foram realizadas pelo programa SAS® versão 9.1.3. (SAS / STAT, 1999), com as médias analisadas pelo teste de Tukey (5%).

3. RESULTADOS

Os resultados demonstraram que porcentagem de escleródio germinado (%EG) na testemunha apresentou o maior valor de média. O tratamento com *Trichoderma* ou *Bacillus* apresentaram valores intermediários, enquanto a associação de *Trichoderma* + *Bacillus* ocorreu o menor valor demonstrando a eficiência dos agentes de biocontrole. Já o número de estirpes por escleródios ou apotécios por escleródios não demonstrou uma relação direta com os tratamentos (Tab. 1).

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

Tabela 1 – Médias da porcentagem de escleródio germinado (%EG), número de estirpe por escleródio (NEE), número de apotécio por escleródio (NAES), avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%EG	NEE	NAES
Testemunha	85,60 a	2,14 a	1,64 ab
<i>Trichoderma</i>	60,80 b	1,69 ab	1,40 b
<i>Bacillus</i>	62,40 b	1,50 b	1,63 ab
Assoc. biol.	45,0 c	1,84 ab	2,10 a
C.V. (%)	7,59	15,39	16,46

Fonte: Autoria própria (2021).

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, com nível de significância de 5%.

A utilização de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* com potencial de controle biológico já vem sendo demonstrados em diversos estudos no controle de *S. sclerotiorum* (ARAÚJO et al., 2005).

As bactérias antagonistas do patógeno causador do mofo branco se destacam por agir com diferentes mecanismos de ação como a antibiose, a indução a resistência, o parasitismo ou através da junção destes mecanismos, sendo *Pseudomonas* e *Bacillus* as mais utilizadas como alternativas de biocontrole (DURÉ et al., 2018). A ação do *Trichoderma* spp., por sua vez, depende de condições edafoclimáticas favoráveis para atingir seu máximo potencial no controle de fitopatógenos, o que dificulta uma padronização nos resultados de eficácia no controle biológico de *S. sclerotiorum* (MEYER et al., 2016).

Quando testados *in vitro*, o *Trichoderma asperellum* colonizou e produziu esporos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* enquanto *Bacillus subtilis* mostrou-se eficiente no controle desse patógeno, porém não impediu a formação de escleródios, levando em consideração os metabólicos tóxicos voláteis dos antagonistas como modo de ação (GABARDO et al., 2020). Os resultados deste ensaio, realizado em campo, mostrou que ambos os tratamentos por *Trichoderma* ou pelo *Bacillus* foram eficientes, no entanto a associação destes promoveu um efeito ainda melhor no biocontrole. A associação de fungos e bactérias no tratamento com *Trichoderma* + *Bacillus* promoveu maior porcentagem de escleródios colonizados pelos agentes de biocontrole (%CB), resultando em maior porcentagem controle (%C). Além disso, nos tratamentos que continham *Bacillus* se mostraram mais eficientes em causarem o apodrecimento dos escleródios (%P).

Tabela 2 – Médias da porcentagem colonizados biocontrole (%CB), porcentagem de podre (%P), porcentagem controle (%C) avaliados no ano de 2020-2021 do biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja. UTFPR – Dois Vizinhos/PR, 2021.

Tratamentos	%CB	%P	%C
Testemunha	6,40 c	8,00 b	14,40 c
<i>Trichoderma</i>	29,60 ab	9,60 b	39,20 b
<i>Bacillus</i>	21,60 b	16,00 a	37,60 b
Assoc. biol.	36,00 a	18,40 a	54,40 a
C.V. (%)	20,94	22,29	10,83

Fonte: Autoria própria (2021).

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, com nível de significância de 5%.

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

O uso de palhada, condição desse experimento, favoreceu a eficiência de controle biológico na cultura da soja, pois os agentes de biocontrole são sensíveis às condições ambientais e dependentes de alta umidade no solo e pouco incidência de luz solar (MEYER et al., 2019). Segundo Paula Júnior et al., 2006 a rotação com plantas pertencente à família *Poaceae* (*Gramineae*) como é o caso da Aveia Preta é de grande importância pois essa não é suscetível ao patógeno, outro fator importante na redução da doença.

4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que *Trichoderma harzianum* isolado URM 8119 e *Bacillus subtilis* linhagem QST 713 tiveram efeito de biocontrole sobre *S. sclerotiorum*, não diferindo entre si quanto a eficiência de controle, no entanto, quando utilizou-se a associação de *Trichoderma harzianum*, isolado URM 8119, *Trichoderma asperellum*, isolado URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens*, isolado CCT 7901 demonstrou maior eficiência de controle de *S. sclerotiorum*, comprovando que houve um sinergismo entre os agentes biológicos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. F. et al. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

BOLTON, M.D. et al. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v.11, p.1-16, 2006.

DURÉ, L. M. M. et al. Seleção e prospecção de rizobactérias para o controle biológico do mofo branco em espécies de *Crotalaria* spp. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 22, n. 2, p. 90-96, 2018.

FERREIRA, J. H. S. et al. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 3, p. 238-287, 1991.

GABARDO, G. et al. *Trichoderma asperellum* *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020.

GORGEN, C. A. et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.12, p.1583-1590, dez. 2009.

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



HARIKRISHNAN, R.; DEL RÍO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**, v.90, p.946-950, 2006.

LOBO JÚNIOR, M. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum.** Goiás, Go: Embrapa, 2009.

MEYER, M.C. et al. Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2015/2016: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: **Embrapa Soja**, 2016.

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

ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas.** Viçosa-MG: UFV, 2005. 417 p.

SAS/STAT® **Versão 9.1.3 do sistema SAS para Windows**, copyright© 1999-2001 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

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

* Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; bruno.backes01@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; sergio@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; schmollerisabela@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; alison_grassi@outlook.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; giongofa@gmail.com

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; robertossaburo@gmail.com