

**INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS
CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA
LUCIANO MOREIRA TANIGUCHI**

EFEITO DE HERBICIDAS COMERCIAIS SOBRE FITOPATÓGENOS

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
2016**

LUCIANO MOREIRA TANIGUCHI

EFEITO DE HERBICIDAS COMERCIAIS SOBRE FITOPATÓGENOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia, de Minas Gerais - Campus São João Evangelista, como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Dr. Aderlan Gomes da Silva.

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

T165e Taniguchi, Luciano Moreira
2016

Efeito de herbicidas comerciais sobre fitopatógenos / Luciano Moreira Taniguchi. – 2016.

31 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista, 2016.

Orientador: Dr. Aderlan Gomes da Silva.

1. Herbicidas. 2. Rhizopus. 3. Colletotrichum. I. Taniguchi, Luciano Moreira. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista. III. Título.

CDD 632.954

Elaborada pela Biblioteca Professor Pedro Valério – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista

Bibliotecário Responsável: Veríssimo Amaral Matias – CRB-6/3266

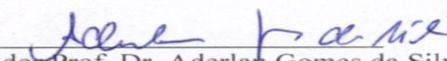
LUCIANO MOREIRA TANIGUCHI

EFEITO DE HERBICIDAS COMERCIAIS SOBRE FITOPATÓGENOS

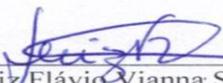
Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia, de Minas Gerais - Campus São João Evangelista, como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Aprovada em 14 / 01 / 2016

BANCA EXAMINADORA


Orientador Prof. Dr. Aderlan Gomes da Silva
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista


Prof. Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista


Prof. Dr. Luiz Flávio Vianna Silveira
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Mário Taniguchi e Ana Moreira da Costa, a quem devo todas as minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e familiares pela força e carinho;

Ao professor Aderlan Gomes da Silva, por três anos de orientação em projetos de pesquisa;

Às pessoas que de alguma forma contribuíram em alguma parte deste trabalho: Danusa Costa e Natália Alves.

RESUMO

Os agrotóxicos são utilizados em larga escala na agricultura atualmente. Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito desses produtos nos organismos não alvo. Nesse sentido, este trabalho objetivou testar, *in vitro*, o efeito de dois herbicidas sobre o crescimento micelial de *Rhizopus* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides*. Após o crescimento das colônias até a borda da placa, repicou-se os fungos para as placas contendo soluções dos herbicidas, Fomesafen e 2,4-D, misturadas ao meio de cultura. Os testes foram realizados de forma independentes. Em cada experimento foram testadas cinco doses de cada herbicida, sendo utilizadas três repetições por dose. Cada experimento foi repetido três vezes. Os herbicidas foram incorporados, separadamente ao meio BDA fundente nas concentrações de 10%, 1,0%, 0,1% e 0,01% da dosagem recomendada pelo fabricante. Nas testemunhas (T0), os herbicidas foram substituídos por água esterilizada. Após a solidificação do meio, foi realizada a repicagem dos fungos. Posteriormente, as placas foram vedadas e levadas para incubação em câmara BOD. O delineamento experimental utilizado com cada fitopatógeno foi inteiramente ao acaso em arranjo fatorial completo (dose x herbicida). Após a análise de variância foi realizada análise de regressão do percentual de inibição de crescimento micelial em função da dose. Foram ajustados modelos lineares que melhor explicaram cada situação. Todas as análises foram realizadas considerando-se o nível de probabilidade de 5%. Houve 100% de inibição do crescimento de *Rhizopus* sp. quando em contato com o herbicida Fomesafen nas dosagens de 1% e 10% da recomendada pelo fabricante. Esse mesmo fungo teve seu crescimento anulado na dosagem de 10% do herbicida 2,4-D. Já *C. gloeosporioides* teve sua inibição total nas doses de 1% e 10% quando exposto ao herbicida 2,4-D. Quando exposto ao Fomesafen, houve inibição total somente na dose de 10%. Para o Fomesafen, a dose mínima de inibição total para *Rhizopus* sp. foi de 2,5 g ia/ha e 67g ia/ha do herbicida 2,4-D. Para o *C. gloeosporioides* a dose mínima para inibir totalmente o crescimento do fungo foi de 25 g ia/ha do herbicida Fomesafen e 6,7 g ia/ha de 2,4-D. Conclui-se que os fungos reagiram de maneira diferente em relação a cada herbicida, sendo que a dosagem mais alta utilizada neste trabalho, inibiu totalmente o crescimento dos dois fungos independente do herbicida.

Palavra-chave: Herbicidas; *Rhizopus*; *Colletotrichum*.

Abstract

Pesticides are used extensively in agriculture today. However, little is known about the effect of these products on non-target organisms. Therefore, this study aimed to test in vitro the effect of two herbicides on the mycelial growth of *Rhizopus* sp. and *Colletotrichum* sp. After growth of the colonies to the edge of the plate-peaked if the fungi plates containing solutions of herbicides and 2,4-D Fomesafen, mixed with the culture medium. The tests were performed independent manner. In each experiment were tested five doses of each herbicide being used three replicates per dose. Each experiment was repeated three times. The herbicides were incorporated separately flux to BDA medium at concentrations of 10%, 1.0%, 0.1% and 0.01% of the dosage recommended by the manufacturer. In the controls (T0), the herbicides were replaced by sterile water. After solidification of the medium, pricking of fungi was made. Subsequently, the plates were sealed and taken to incubation in growth chamber. The experiment with each pathogen was completely randomized in complete factorial (dose x herbicide). After the analysis of variance was performed regression analysis of the percentage inhibition of mycelial growth depending on dose. Linear models were adjusted to better explain the situation. All analyzes were done considering the probability level of 5%. There was 100% inhibition of growth of *Rhizopus* sp. when in contact with the herbicide Fomesafen the dosages of 1% and 10% of the recommended by the manufacturer. This same fungus had their void growth at the dosage of 10% of the herbicide 2,4-D. *C. gloeosporioides* already had a total inhibition at doses of 1% to 10% when exposed to 2,4-D. When exposed to Fomesafen, there was total inhibition at a dose of only 10%. For Fomesafen, the minimum amount of total inhibition for *Rhizopus* sp. was 2.5 g ai / ha 67g ai / ha 2,4-D. To *C. gloeosporioides* the minimum dose to completely inhibit the growth of fungus was 25 g ai / ha fomesafen and 6.7 g ai / ha 2,4-D. It is concluded that fungi reacted differently for each herbicide, with the highest dose used in this study completely inhibited the growth of both fungi independent of the herbicide.

Palavra-chave: Herbicides; *Rhizopus*; *Colletotrichum*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1	INTERAÇÃO HERBICIDA-PLANTA-PATÓGENO	7
2.2	DINÂMICA DOS HERBICIDAS NO AMBIENTE	9
2.3	ASPECTOS GERAIS DOS HERBICIDAS FOMESAFEN (FLEX) E ÁCIDO 2,4 DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D).....	11
2.3.1	Fomesafen (Flex).....	11
2.3.2	Ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D)	12
2.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FUNGOS <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Rhizopus</i> sp.14	
3	METODOLOGIA	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

Devido ao aumento populacional, abertura de novos mercados e expansão das fronteiras agrícolas, o índice de produção do setor primário vem sofrendo avanços significativos no que diz respeito aos níveis de tecnificação. Esses avanços baseiam-se em práticas como o uso intensivo do solo, investimentos em tecnologia de precisão, aumento no uso de agroquímicos e fertilizantes, além de uso de cultivares melhoradas (SILVA, 2012).

Dentre as técnicas supracitadas, o emprego de produtos químicos no controle de pragas nas lavouras tem sido empregado em larga escala. Entretanto, é de suma importância que se observe o efeito dessas moléculas nos organismos não-alvo (DUKE et al., 2006).

Vários métodos podem ser usados no controle de plantas invasoras para inibir a competição com as plantas cultivadas. Porém, o controle químico ainda é mais empregado nas grandes lavouras devido a maior praticidade em relação aos outros meios (RIZZARDI et al. 2003).

Os efeitos dos herbicidas no desenvolvimento de doenças geralmente resultam de interações do seu efeito direto no patógeno e de efeitos indiretos em respostas mediadas pelas plantas (DEVINE et al., 1993).

Para que sejam eficientes, os herbicidas devem ter uma forte atividade biológica contra as plantas de maneira direta. Indiretamente, eles podem influenciar outros parâmetros, inclusive a susceptibilidade das plantas às doenças (DUKE et al., 2006).

Quando ocorre redução da intensidade de doenças fúngicas por herbicidas, geralmente há redução do crescimento do micélio ou inibição da esporulação (DUKE et al., 2006).

Muitos dos efeitos dos herbicidas tem sido observados em campo. Entretanto, essas observações não permitem determinar se o efeito observado é devido à interação direta herbicida-patógeno ou ao efeito indireto, tornando as plantas menos ou mais resistentes ao patógeno (RIZZARDI et al. 2003).

Os herbicidas podem aumentar ou diminuir a severidade das doenças devido a alterações metabólicas e fisiológicas que suas moléculas desencadeiam no metabolismo das plantas. Nesse sentido, seus mecanismos de defesa estão diretamente ligados nesses processos, dependendo então, do mecanismo de ação do herbicida, pois dependendo do princípio ativo, o acúmulo de fitoalexinas pode ser inibido ou estimulado, sendo essa considerada um dos principais mecanismos de defesa das plantas, estando diretamente associada à prevenção da infecção por muitos patógenos (DUKE et al., 2006).

Há relatos de que os herbicidas pertencentes ao grupo dos difeniléteres, usados comumente nas culturas de feijão e soja, aumentam a síntese de compostos secundários, enquanto testes feitos com glifosato mostram efeito positivo na severidade das doenças, devido à supressão das suas defesas (RIZZARDI et al., 2003).

Outro aspecto importante inerente a estes xenobióticos é o fato de possuírem ou não efeito residual, uma vez que o solo é o destino final dos produtos químicos usados na agricultura, sejam eles aplicados diretamente no solo ou aplicados na parte aérea das plantas (MANCUSO, 2011).

Diversos fatores interferem na dissipação desses produtos, entre eles, o tipo de solo, pH, teor e o tipo de matéria orgânica e solubilidade do herbicida. Esses fatores interferem diretamente no processo de sorção dessas moléculas aos colóides do solo, influenciando a atividade da microbiota do solo (MANCUSO, 2011).

Segundo Spadotto (2015), a deriva também é um problema que ocorre no processo de aplicação desses produtos, pois a molécula pode dispersar por grandes distâncias. Isso pode gerar o efeito de ‘hormensis’ no ambiente, alterando a atividade microbiana.

Os impactos causados pelo uso de agrotóxicos podem ser minimizados por meio da utilização consciente destes produtos químicos. A qualidade da aplicação, a escolha certa do produto e da dosagem adequada para determinada cultura além do conhecimento técnico por parte dos profissionais são fatores determinantes para a manutenção da qualidade e saúde ambiental, bem como para incremento da produtividade e redução de custos.

Dessa forma objetivou-se com a realização do presente trabalho testar, in vitro, o efeito de dois herbicidas sobre o crescimento micelial de *Rhizopus* sp. e *Colletotrichum* sp.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Interação herbicida-planta-patógeno

Os agrotóxicos estão entre os principais instrumentos do atual modelo da agricultura brasileira, centrado em ganhos de produtividade, onde se tem atualmente, os herbicidas como os mais utilizados entre o grupo de agrotóxicos (IBGE,2015).

Embora visem o controle de plantas daninhas ou invasoras, estes produtos acabam afetando os microrganismos não-alvo, inibindo ou acelerando seu crescimento.

Segundo Rizzardi et al. (2003) vários eventos bioquímicos e fisiológicos acontecem após o herbicida agir em seu local primário. Alguns desses efeitos podem interferir nas

reações das plantas perante o ataque de patógenos, aumentando ou diminuindo a severidade das doenças.

No caso dos fungos fitopatogênicos, esses produtos podem aumentar ou diminuir a progressão de doenças causadas por eles (DUKE et al., 2006). Ahmad e Malloch (1995) constataram aumento significativo na incidência de doenças ocasionadas por fitopatógenos de solo, devido ao uso de herbicidas, em virtude da diminuição de 40% da população bacteriana, disponibilizando assim, mais nutrientes para os organismos causadores de doenças.

Alguns herbicidas como os difeniléteres, contribuem para o aumento de compostos secundários que conferem maior resistência às plantas (DEVINE et al., 1993). Hammerschmidt (2000) constatou aumento da indução de resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em soja, associando a isto, o acúmulo da fitoalexina gliceolina. Entretanto, Lévesque & Rahe (1992) utilizando subdoses de glifosato, relataram a inibição das reações de resistência a *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão e para *Fusarium* spp. em tomate, em virtude de alterações no metabolismo secundário das plantas.

A redução ou o aumento da progressão de doenças ocorre devido a alterações metabólicas e fisiológicas nas plantas. Os mecanismos de defesa estão envolvidos diretamente nessas alterações. Para se defender dos agentes bióticos e abióticos, as plantas ativam estes mecanismos, onde cada célula possui capacidade de defesa tanto induzida, quanto pré-formada (BARBOSA, 2010).

Os herbicidas podem agir como indutor de defesa, como é o caso dos difeniléteres em soja. Estes atuam como inibidores da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), enzima envolvida na biossíntese de citocromos de clorofila na rota fotossintética (DAN HESS, 2000). Essa inibição resulta na produção de forma reativas de oxigênio (FROs) e peroxidação de lipídios (DEVINE et al., 1993). As FROs mediam a ativação dos genes de defesa responsáveis pela síntese de fitoalexinas e, também, por reação de hipersensibilidade, conferindo maior resistência. Assim, as FRO explicam o acúmulo de gliceolina nas folhas danificadas pelo herbicida lactofen utilizado na cultura da soja (DANN et al., 1999). O mesmo autor, em outro estudo, relata que não houve redução do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* quando usado o herbicida bentazon, que pertence ao grupo dos inibidores do fotossistema 2.

Uma compreensão mais detalhada desses efeitos em organismos não-alvos fornecerá uma avaliação mais completa do impacto dos herbicidas na produção da cultura. Segundo Lydon & Duke (1989), se um herbicida alterar a resistência de uma planta daninha ou da cultura a danos causados por patógenos, essa informação deveria ser considerada na

determinação do nível de dano econômico de sua utilização, bem como na escolha do herbicida e sua dosagem. Na escolha do herbicida deve-se considerar o impacto desse sobre a doença, bem como as conseqüências do uso continuado do herbicida no potencial de inóculo em condição de lavoura. De outra forma, o uso de subdoses de herbicidas que aumentem a severidade do patógeno e não eliminem as plantas daninhas fará com que as plantas sobreviventes aumentem o potencial de inóculo, ocasionando problemas para culturas que serão semeadas em sucessão (RIZZARDI et al, 2003).

Verifica-se que muitos dos efeitos dos herbicidas sobre as doenças, e seus agentes causais, ainda são desconhecidos, por isso um maior número de informações relacionadas a este tema, poderia contribuir para o desenvolvimento de estratégias de controle de doenças em diversas culturas causadas por fitopatógenos.

2.2 Dinâmica dos herbicidas no ambiente

Grande parte das moléculas desses produtos chega ao solo diretamente, como é o caso dos pré-emergentes, e também, indiretamente, seja por deposição da planta tratada ou por deriva durante a aplicação (MORAES; REZENDE, 1998). Uma vez na solução do solo, essas moléculas podem seguir várias rotas. Podem ser absorvidas pelas raízes e outros organismos vivos, podem sofrer degradação química, biológica ou fotodegradação (superfície do solo) ou ainda sofrer lixiviação por água das chuvas ou irrigação (OLIVEIRA, 2014).

Para que um herbicida entre em processo de degradação, seja biológica ou por reações químicas diversas, ele primeiramente, deve estar na solução do solo, ou fracamente adsorvido, do contrário torna-se indisponível para o processo (DE OLIVEIRA et al., 2011).

O processo de degradação destes produtos, assim como em qualquer outro xenobiótico, consiste na transformação de sua estrutura molecular, que pode ser tanto biótico ou abiótico. As transformações abióticas estão subdivididas em transformações químicas e fotodegradação. Uma das formas de transformação química é a hidrólise, que basicamente, é uma ligação da molécula original com a água, formando uma nova ligação carbono-oxigênio, que resulta no rompimento de uma ligação de carbono com a molécula do produto. Dependendo do teor de umidade do solo, a hidrólise pode apresentar ação intensa, principalmente quando conjugada com outros processos, como a biodegradação (SPADOTTO, 2015).

Outra forma de transformação química é a oxi-redução, que vai depender do potencial redox do meio. Atua principalmente nas trocas químicas que o produto fitossanitário é submetido em reações de fotodegradação ou biodegradação, sendo catalisada pela ação da luz

ou de microrganismos, respectivamente. Entretanto, em alguns casos especiais, essas reações podem ocorrer sozinhas, e estão relacionadas a ambientes sem luz e à ausência de microrganismos, em camadas profundas de solo ou em água subterrânea (SPADOTTO, 2015).

A fotodegradação ou fotólise também é um mecanismo químico de transformação das moléculas desses produtos. Ocorre quando sua molécula se encontra na superfície do solo ou das plantas, sendo esse processo considerado por isso, o de maior espectro de ação. Neste mecanismo, a luz provoca uma excitação nos elétrons da molécula do produto, resultando na quebra de suas ligações químicas. É um processo que depende de alguns fatores como comprimento da onda e sua intensidade, tempo de exposição, pH da solução, estado físico da solução, entre outros (OLIVEIRA, 2014). Assim, herbicidas que agem no solo e são facilmente fotodecompostos devem ser incorporados ao solo (DE OLIVEIRA et al., 2011).

As transformações bióticas, também chamadas de biodegradação, compreendem os processos bioquímicos nos quais os microrganismos e suas enzimas estão envolvidos (OLIVEIRA, 2014), no sentido de utilizar tais substâncias diretamente como substrato, a fim de obter energia necessária ao seu crescimento e metabolismo (DA SILVA, 2013).

Para Oliveira (2014), a biodegradação pode ser dividida em cinco processos: catabolismo, onde a molécula original serve de substrato para o microrganismo; cometabolismo, processo no qual a molécula é transformada devido a reações metabólicas; polimerização ou conjugação, que consiste na junção da molécula do produto com compostos naturais do solo; acúmulo, onde o microrganismo incorpora a molécula do produto; e efeitos secundários da atividade microbiana, processo em que a transformação do herbicida acontece em virtude de alterações no pH, por exemplo (LAVORENTI; PRATA; REGITANO, 2003; RACKE et al., 1997).

A atividade microbiana é diretamente influenciada por variáveis externas, como pH, nível de fertilidade do solo, taxa de matéria orgânica, umidade e temperatura, sendo estes dois últimos os mais importantes. A adição de material orgânico e de fertilizantes, por exemplo, aumenta a atividade biológica dos solos, aumentando assim, a degradação dos herbicidas. É relevante considerar também, que o histórico de utilização do herbicida na mesma área, tem influência na taxa de decomposição do herbicida (SPADOTTO, 2015).

A degradação microbiológica dos herbicidas pode se dar por duas vias distintas. Primeiramente, por meio da ação adaptativa da microbiota, e segundo, por meio da degradação acidental. A primeira refere-se à seleção de certas classes microbianas em virtude da aplicação sucessiva do mesmo princípio ativo numa mesma área. Essa seleção ocorre

devido a vantagens competitivas que beneficiam determinadas populações, resultando numa supremacia destas em relação às demais, o que incide numa degradação mais rápida do herbicida. Este processo pode ocorrer tanto para aplicações do mesmo herbicida, tanto para herbicidas do mesmo grupo químico (DE OLIVEIRA et al., 2011).

A outra via é a degradação acidental. Neste processo, segundo De Oliveira et al. (2011), a microbiota não tem o herbicida como substrato principal, portanto, determinados microrganismos não recebem vantagem particular nisso. Nesse mecanismo, não há o chamado “enriquecimento do solo” que, basicamente, consiste num acelerado desenvolvimento da microbiota do solo capaz de degradar rapidamente as moléculas do herbicida. Neste caso então, não existe alteração da população microbiana, e os microrganismos degradam as moléculas dos herbicidas que estiverem no ambiente. Em geral, os herbicidas que são degradados por via de ação adaptativa da microbiota são menos persistentes do que os que são degradados acidentalmente.

A constatação desses efeitos implica na adoção de estratégias de manejo que minimizem seus impactos negativos ou que se beneficiem desses efeitos (Dan Hess, 2000; Rizzardi et al., 2003).

2.3 Aspectos gerais dos herbicidas Fomesafen (Flex) e Ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D)

2.3.1 Fomesafen (Flex)

O Fomesafen pertence ao grupo dos difeniléteres e é utilizado de modo seletivo nas culturas do feijão, soja em pós-emergência, com as plantas daninhas jovens e com bom estado de vigor vegetativo (SILVA, 2012). Seu mecanismo de ação se dá através da inibição da enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) na presença de luz, tendo como consequência final, o extravasamento do conteúdo citoplasmático, em virtude do rompimento da membrana plasmática e peroxidação dos lipídios (HESS; WELLER, 2000).

O produto deve ser aplicado na dosagem de 225 a 250 g.ha⁻¹ de acordo com o estágio de desenvolvimento das plantas daninhas na cultura do feijoeiro (SILVA, 2012). Pode ser aplicado via água de irrigação, mediante dosagem recomendada pelo fabricante. Segundo Vieira et al. (2003), os herbicidas aplicados via água de irrigação devem possuir características como baixa solubilidade em água, rápida absorção foliar e absorção pelas raízes. O Fomesafen, apesar de ter alta solubilidade em água (600.000 mg.L⁻¹), apresenta rápida absorção foliar, em torno de uma hora sem chuva, e boa absorção pelas raízes, o que lhe torna apto para ser aplicado por tal método (VIEIRA et al., 2006).

Os herbicidas podem apresentar efeito residual (*carryover*), que pode acarretar em impacto ambiental negativo. Um herbicida residual é aquele que apresenta um maior período de atividade no ambiente (MANCUSO et al., 2011). O potencial de *carryover* depende do herbicida utilizado, da cultura em sucessão e das condições ambientais após a aplicação de herbicidas. No caso do Fomesafen, sua degradação ocorre em torno de três semanas nos solos em condições de anaerobiose, e de seis a doze meses em solos aeróbicos (JOHNSON; TALBERT, 1993). Geralmente, apresenta-se na forma aniônica, em solos brasileiros, em virtude de estes terem pH mais baixo do que os solos de outros países. Isso interfere diretamente na dinâmica de dissipação do herbicida, uma vez que nessa forma, há forte adsorção aos colóides do solo, material orgânico e às cargas positivas dos óxidos de ferro e alumínio (SILVA, 2012). Segundo Santos (1991); Cobucci et al. (1998); Jakelaitis et al. (2006), o Fomesafen é o que possui mais relatos de *carryover* dentre os herbicidas utilizados na cultura do feijão.

Para Vidal et al. (1999), os herbicidas inibidores da PROTOX, são comumente indicados para manejo da resistência a outros mecanismos de ação. Entretanto, já foram constatados casos de resistência a herbicidas com esse mecanismo de ação. No Brasil, foi identificado nos estados do Paraná e Santa Catarina, em 2003 (Trezzi et al., 2005), que *Euphorbia heterophylla* adquiriu resistência a esse princípio ativo (Weed Science, 2006). Cataneo & Carvalho (2008) relatam resistência de *Ambrosia artemisiifolia* nos Estados Unidos, planta daninha conhecida no Brasil como ambrósia ou cravorana. Segundo Cataneo & Carvalho (2008), todos os biótipos de plantas daninhas resistentes a este princípio ativo, foram encontrados em áreas de produção de soja.

Embora ainda existam algumas alternativas para o manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas, não se deve descartar medidas tradicionais de manejo, dentre elas destacam-se a rotação de culturas e herbicidas, limpeza do maquinário, aquisição de sementes de qualidade, etc.

2.3.2 Ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D)

Foi o primeiro herbicida seletivo bem sucedido, sendo introduzido em 1946, sendo nessa época, o herbicida mais utilizado mundialmente (AMARANTE JUNIOR et al, 2002).

Suas propriedades fitotóxicas já foram utilizadas para fins militares. Durante a guerra do Vietnã, o herbicida juntamente com o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5- T) e o pentaclorofenol formaram o conhecido “agente laranja”, utilizado pela força aérea americana como desfolhante (AMARANTE JUNIOR et al., 2002). Após a guerra, foi utilizado

largamente em substituição a capina mecânica, reduzindo assim, a mão-de-obra (PRADO; VIEIRA, 1999).

O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) pertence ao grupo dos herbicidas clorofenoxiacéticos, Rodrigues & Serra (1996). Compreende o grupo dos mimetizadores auxínicos, sendo os mais importantes o 2,4-D, Picloram, Triclopyr, Fluroxipyr, Quinclorac. Estes mimetizam os efeitos das concentrações das auxinas endógenas (CATANEO & CARVALHO, 2008).

Seu uso principal se encontra no controle ervas daninhas dicotiledôneas presentes nas culturas de cereais, trigo, milho, arroz e sorgo. No Brasil, seu uso mais frequente se encontra na cultura da cana-de-açúcar (VIEIRA et al., 1999).

Este herbicida, uma vez absorvido pelas plantas por via foliar, é translocado apoplasticamente, penetrando no floema. A partir daí, segue o fluxo dos nutrientes, acumulando-se principalmente, nas regiões de crescimento vegetativo intenso, como em regiões meristemáticas apicais e radiculares (AMARANTE JUNIOR et al., 2002). Quando absorvido pelas raízes, as moléculas seguem o curso da transpiração via xilema até as partes aéreas da planta. A presença do herbicida provoca intensa divisão celular no câmbio, endoderme, periciclo e floema, causa tumores no meristema intercalar, formação de raízes aéreas, multiplicação e engrossamento das raízes, rachaduras nas raízes e caules. Em espécies dicotiledôneas sensíveis, os primeiros sintomas são caracterizados por anormalidades no crescimento como o encurtamento do tecido internerval das folhas e a epinastia (ALMEIDA & RODRIGUES, 1988). Posteriormente a estes fenômenos, ocorre dano nos cloroplastos, causando clorose e desestabilização da membrana e do sistema vascular, resultando em dessecação e necrose dos tecidos (COBB, 1992; STERLING & HALL, 1997; GROSSMANN, 2000a).

Para Grossmann et al., (1996), o retardamento do crescimento inicial da planta, está ligado ao etileno. Este é produzido por indução da auxina, que resulta num aumento da síntese de ácido abscísico (ABA). O crescimento é então, interrompido, uma vez que o ABA é distribuído na planta, havendo fechamento estomático, limitando a produção de biomassa. O ABA ainda inibe a atividade enzimática fotossintética, além de promover a senescência foliar (TAIZ & ZEIGER, 2004). Portanto, Grossmann (2000b), deduz que o etileno e o ABA contribuem para o efeito mimetizador das auxinas, principalmente no processo de indução de morte foliar.

Na questão de manejo da resistência de plantas daninhas ao 2,4-D, outros herbicidas podem ser utilizados. Os inibidores da PROTOX podem ser utilizados como alternativas, por

exemplo, o Fomesafen, flumioxazin e oxyfluorfen tem amplo espectro de controle sobre as invasoras dicotiledôneas (CATANEO & CARVALHO, 2008).

No solo, a dinâmica do 2,4-D pode ser afetada por vários fatores como escoamento superficial (*run off*), adsorção, degradação química e microbiológica, fotólise e lixiviação (GUEDES, 2010). A degradação microbiana é considerada a principal via na decomposição de 2,4-D no solo, sendo influenciada pelo potencial hídrico, profundidade e temperatura do solo (GUEDES, 2010). Segundo Bolan e Baskaran (1996), os processos de adsorção e dessorção podem interferir diretamente na biodegradação, pois tornar as moléculas do herbicida indisponível para os microrganismos decompositores. A adsorção do 2,4-D está ligada ao conteúdo orgânico do solo, pois diferentes tipos solos com maior porcentagem de matéria orgânica apresentaram maior adsorção do pesticida (LUCHINI, 1987).

A fotodegradação desempenha um papel de menor escalão da degradação do 2,4-D em virtude de só ocorrer sobre a parte superior do solo (GUEDES, 2010). Guedes (2010), ainda relata um estudo de fotólise realizado numa indústria de 2,4-D, em que não foram encontrados produtos de degradação com concentrações acima de 1,1%, indicando a recalcitrância do 2,4-D à fotodegradação em solos (TAMMA-VITHALA, 1989).

A biodegradação do 2,4-D em meio aquoso segundo Howard (1991), vai depender das características da água, como nível de nutrientes presentes, temperatura e disponibilidade de oxigênio. Ghassemi et al. (1981), através de testes em laboratórios, afirma que para a degradação microbiana do 2,4-D ser eficaz, a água deve ser rica em nutrientes. Entretanto, Guedes (2010), afirma que as águas de superfície apresentaram baixa quantidade de nutrientes, sendo insuficientes para manter as populações da microbiota aquática capazes de decompor o herbicida.

A introdução de outros xenobióticos no ambiente pode influenciar no processo de degradação do 2,4-D. Fournier et al. (1981), por exemplo, detectaram decréscimo na biomineralização após aplicação de inseticidas organofosforados.

Devido ao uso ainda bastante difundido de 2,4-D e aos efeitos que causa ao ambiente e à saúde humana, torna-se de fundamental importância o conhecimento das principais propriedades do citado herbicida, bem como ter em mente os limites estabelecidos pela legislação em vigor.

2.4 Caracterização dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus* sp.

Os fungos são seres eucariotos heterotróficos altamente eficientes na degradação de uma ampla gama de substratos. Ocorrem em associação com outras espécies como líquens e

micorrizas, como patógenos de animais ou plantas ou como espécies de vida livre (LOPES, 2011).

Apresentam algumas características que permitem sua diferenciação em relação às plantas. Dentre elas: não sintetizam clorofila ou qualquer outro pigmento fotossintético; não possuem celulose na parede celular, exceto alguns fungos aquáticos; e não armazenam amido como substância de reserva (TRABULSI, 2008).

No caso dos fungos fitopatogênicos em particular, estes constituem um grupo numeroso de organismos bastante diversificado morfológica e filogeneticamente (AMORIM et al., 2011).

C. gloeosporioides, por exemplo, se caracteriza por apresentar conídios hialinos, uninucleados e cilíndricos, em acérvulos, que em condições de umidade elevada, possui massa conidial alaranjada ou creme, na superfície do tecido afetado (SOUZA, 2004). É o agente etiológico da antracnose, que se desenvolve numa faixa ótima de temperatura de 22-28°C, principalmente quando há coincidência do período chuvoso com o ativo crescimento e florescimento da planta.

As plantas estão sujeitas ao ataque dessa doença em todas as fases de seu desenvolvimento, sendo que esse patógeno pode ser disseminado de uma planta para outra por meio de agentes externos ou ainda, via sementes infectadas, induzindo, posteriormente, sintomas de *damping-off* em pré e pós-emergência (MENEZES, 2013).

O sintoma típico da doença é caracterizado por lesões arredondadas, grandes, necróticas, onde são produzidas massas de conídios de coloração alaranjada, podendo ocorrer uma podridão-mole nos frutos, prejudicando a sua comercialização (SILVA, 2006).

Em folhas, as lesões surgem próximas ou sobre as nervuras, com o desenvolvimento da doença, as folhas atacadas ficam quebradiças e sujeitas a cair precocemente. Nos ramos, ocorrem necroses escuras e secas, e nas flores, ocorre seca e abscisão das mesmas (AMORIM et al., 2011).

Algumas espécies são mais específicas a determinados hospedeiros. Na cultura da soja, *C. truncatum*, em condições de alta umidade, causa apodrecimento e queda das vagens, abertura das vagens imaturas e germinação dos grãos em formação. Causa com maior frequência, alta redução do número de vagens e induz a planta à retenção foliar e haste verde (GALLI, 2005). *C. truncatum* pode ocasionar também tombamento, redução na germinação e na sobrevivência das plântulas.

Em frutíferas, o gênero *Colletotrichum* exerce mais importância na pós-colheita, pois os frutos podem ser infectados ainda no campo, porém o fungo permanece latente até a

maturação dos frutos, apresentando manchas que podem ocasionar podridão, desintegração e decomposição dos tecidos (ROZWALKA et al., 2008).

Em milho, destaca-se o fungo *Colletotrichum graminicola*, o qual pode atacar qualquer parte da planta e em todos os estádios de crescimento da cultura e causar perdas significativas. No colmo, pode ser observado mediante corte longitudinal, o escurecimento e apodrecimento dos tecidos internos. A degeneração dos tecidos do colmo causa a morte prematura das partes superiores da planta, sintoma conhecido como “dieback” (DA COSTA et al., 2010).

O controle de epidemias causadas por esses organismos é realizado mediante associação de métodos químicos e culturais. Segundo KIMATI et al. (1997), maior espaçamento entre as plantas favorecendo a aeração e penetração de luz, uso de cultivares resistentes, rotação de culturas, plantio das culturas em áreas menos úmidas, utilização de sementes sadias e manuseio correto no pós-colheita, contribuem efetivamente para o controle da antracnose em diversas culturas.

Os fungos habitantes do solo podem comprometer a qualidade de sementes e causar podridões, como é o caso do gênero *Rhizopus*, que vive saprofiticamente em restos culturais. A ocorrência de tempo úmido durante a maturação dos grãos, colheita ou armazenamento pode levar à podridão de sementes por fungos desse gênero ou aumentar a podridão após o plantio (MICHEREFF, 2005).

O gênero *Rhizopus*, segundo Freitas et al. (2000), está entre os principais fungos encontrados nas sementes durante o armazenamento, podendo prejudicar a qualidade das sementes, decorrente de sua deterioração.

Em soja, a espécie de *Rhizopus* sp. mais encontrada em sementes é o *Rhizopus stolonifer*. Como contaminante, normalmente dificulta a detecção de patógenos importantes, por cobrir as sementes devido ao seu rápido crescimento (GOULART, 1997), o que possibilita a ação de outros microrganismos, afetando sua qualidade fisiológica e sanitária, e alguns casos, inibindo por completo ou reduzindo a capacidade germinativa do lote de sementes.

Em teste de sanidade e avaliação de vigor, que normalmente, apresentam grande a contaminação por *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp., o crescimento destes tipos de microrganismos dificulta a precisão do teste, impedindo o real conhecimento da qualidade da semente (GOULART, 1997).

Avaliando os efeitos de fungicidas em sementes de amendoim, Bittencourt et al., (2007), constataram que houve transmissão de *Rhizopus* sp. das sementes para a parte aérea,

pelo estabelecimento desse patógeno nos cotilédones e nas folhas das plântulas de amendoim. O sintoma de *Rhizopus* sp., detectado nas plântulas normais, caracterizou-se pela deformação das primeiras folhas emitidas pelas plântulas, sem manifestação dos sintomas nas folhas subsequentes. Relataram ainda, que houve, ‘*damping-off*’ de pós-emergência em todos os tratamentos e necrose do epicótilo nas plântulas anormais.

Em testes com diferentes agentes químicos em diferentes concentrações, pH e o tempo de imersão para assepsia eficiente nos microrganismos infestantes em sementes de soja, Zorato et al. (2001), observaram variações nos tratamentos avaliados, sendo constatado, maior ocorrência de *Rhizopus* sp., em sementes mortas. Outra consideração importante foi relatada por Phipps (1984), na qual, o *Rhizopus* sp. aparece como importante patógeno de sementes em amendoim, porém, não provocando doenças em plântulas no campo. De acordo com Tanaka & Machado (1985), nem sempre a associação de patógenos com as sementes resulta em doenças após a sementeira. Apesar da patogenicidade do *Rhizopus* sp., ainda não ter sido esclarecida totalmente, existem preocupações quanto aos possíveis efeitos desse fungo sobre a qualidade das sementes (NOVEMBRE & MARCOS-FILHO, 1991).

3 METODOLOGIA

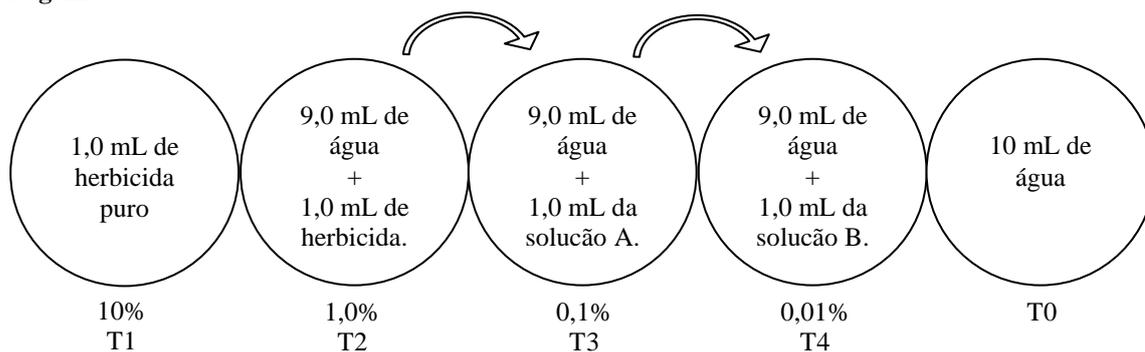
Os testes foram conduzidos no laboratório de botânica do Instituto Federal de Minas Gerais, *campus* São João Evangelista, situado na região Leste de Minas Gerais, no Vale do Rio Doce.

Foram utilizados um isolado de *Rhizopus* sp. e um de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de bananeiras situadas no setor de olericultura do *campus*, para o teste ‘*in vitro*’ da ação de dois diferentes herbicidas sobre o crescimento destes micro-organismos. Os fungos, após serem isolados, foram repicados para placas de Petri de 9 cm contendo BDA (Batata-Dextrose-Ágar) esterilizadas em autoclave e incubados por três e sete dias, respectivamente, numa temperatura de 25°C. Após o crescimento das colônias até a borda da placa, retiraram-se discos do meio de cultura, de 5 mm de diâmetro, e fez-se a transferência destes para as placas contendo soluções dos herbicidas Fomesafen e 2,4-D, (marcas comerciais FLEX[®] e DMA[®] 806 BR, respectivamente) misturadas ao meio de cultura. Os experimentos com os fungos foram realizados de forma independente, ou seja, os experimentos foram realizados separadamente, sendo avaliado um fungo por vez. Em cada experimento foram testadas cinco doses de cada herbicida, sendo utilizadas três repetições por dose. Cada experimento foi

repetido três vezes. Primeiramente, foi realizado o teste com *Rhizopus* sp. e, ao término, realizou-se a experimentação com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Os herbicidas foram incorporados, separadamente, ao meio BDA mediante soluções de concentrações específicas (Figura 1), que proporcionaram concentração final de herbicida no meio de cultura de 10%, 1,0%, 0,1% e 0,01% da dosagem recomendada pelo fabricante. Nas testemunhas (T0), os herbicidas foram substituídos por água esterilizada. As soluções foram adicionadas ao meio de cultura, quando este ainda se encontrava fundente para facilitar a uniformidade da distribuição da solução na placa, utilizando-se para isso, duas pipetas, sendo uma de 10 mL e a outra de 1,0 mL. Após a solidificação do meio, foi realizada a repicagem dos fungos, na qual foi utilizada uma pinça esterilizada termicamente. Posteriormente, as placas foram vedadas e levadas para incubação em câmara BOD à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas.

Figura 1 - Esquema das concentrações das soluções incorporadas ao meio BDA, anteriormente a repicagem.



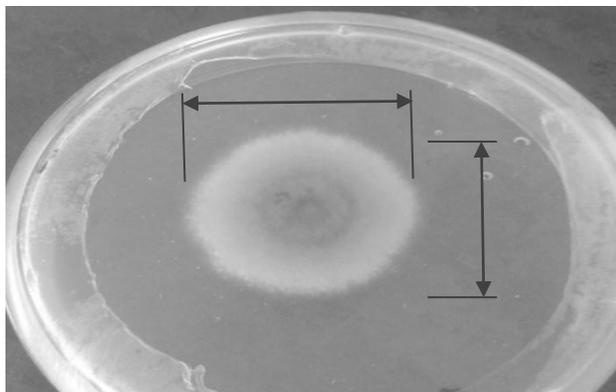
Fonte: O autor.

As avaliações de cada tratamento foram realizadas periodicamente a cada 24 horas até que os fungos atingissem a borda da placa (independente do tratamento). O diâmetro das colônias foi obtido da média de duas medidas diametralmente opostas (Figura 2), com o uso de uma régua graduada transparente. Com os valores dos diâmetros calculou-se o percentual de inibição do crescimento micelial em cada dose de cada herbicida, em relação ao crescimento micelial na dose zero dos produtos.

A análise estatística dos experimentos foi realizada de forma análoga para os dois fungos. Os dados de percentual de inibição do crescimento micelial dos três experimentos de cada fungo foram agrupados e realizou-se uma análise de variância conjunta para verificar o efeito dos herbicidas sobre o crescimento do micélio de cada fungo. O delineamento experimental utilizado com cada fitopatógeno foi inteiramente ao acaso em arranjo fatorial

(dose x herbicida). Os dados foram analisados de forma descritiva por meio das médias, desvios padrão e análise gráfica.

Figura 2 - Esquemática das médias das medidas mensuradas periodicamente a cada 24 horas.



Fonte: O autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes in vitro para a verificação dos efeitos do herbicidas 2,4-D e Fomesafen no crescimento dos fitopatógenos *Rhizopus sp.* e *Colletotrichum gloeosporioides* foi constatada a interação significativa entre os herbicidas e as doses (Tabela 1). As medições dos diâmetros se encerraram após as testemunhas atingirem a borda da placa (Figura 3).

Tabela2 - Percentual de inibição do crescimento micelial de *Rhizopus sp.* e de *C. gloeosporioides* em função da concentração dos herbicidas Fomensafen e 2,4-D. em meio de cultura.

Concentração do produto comercial no meio de cultura	<i>Rhizopus sp.</i>				<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>			
	Flex		2,4-D		Flex		2,4-D	
	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância	Média	Variância
0%	0,00	0,0000	0,00	0,0000	0,00	0,0000	0,00	0,0000
0,01%	-3,26	108,7698	7,85	1118,6593	11,36	50,4836	10,68	124,7404
0,1%	16,52	396,6625	-4,97	475,8687	26,28	26,6281	31,07	37,2705
1,0%	100,00	0,0000	56,88	96,5114	71,01	12,2413	100,00	0,0000
10,0%	100,00	0,0000	100,00	0,0000	100,00	0,0000	100,00	0,0000

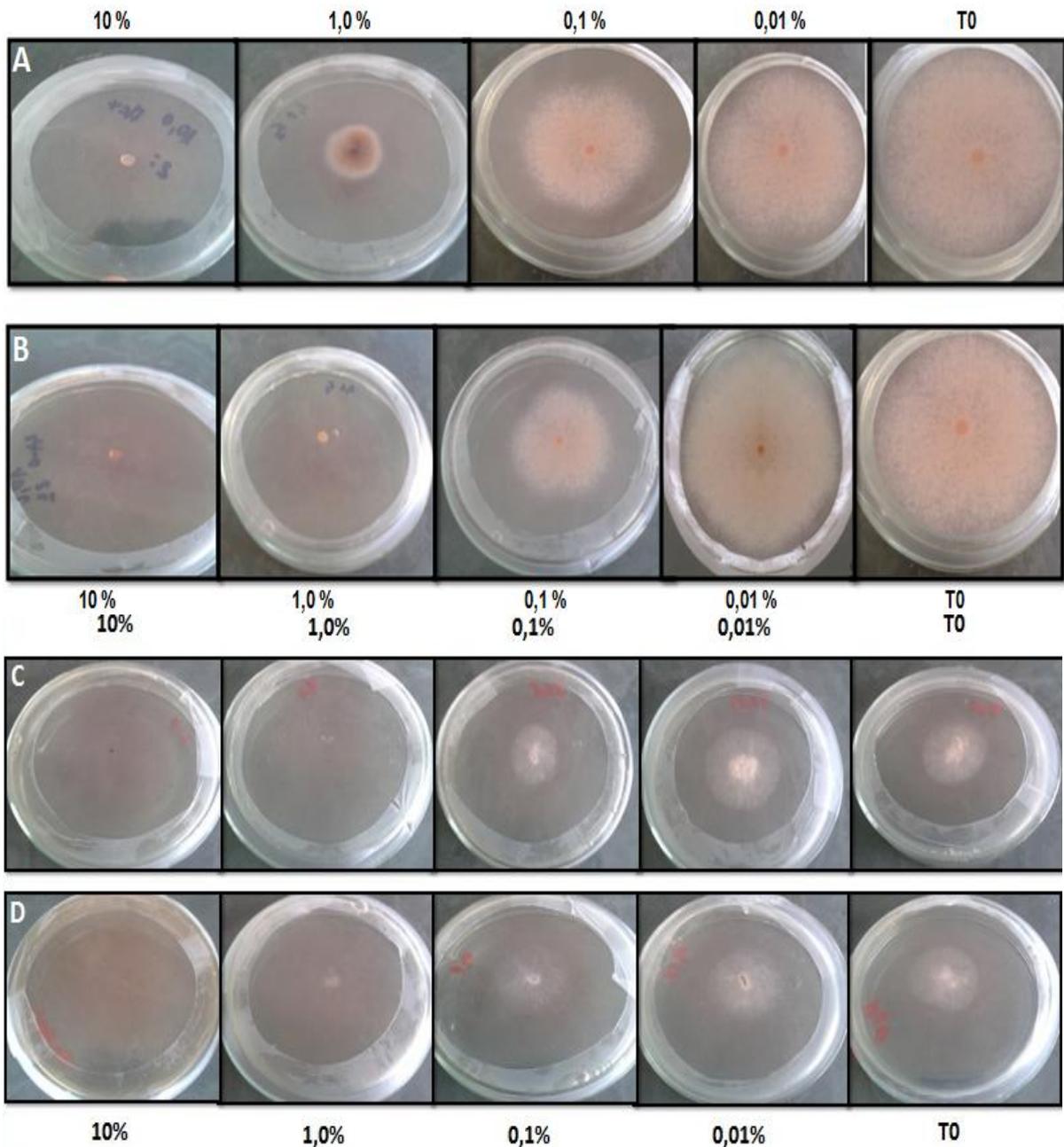
Fonte: O autor.

Analisando a tabela, nota-se que houve 100% de inibição do crescimento de *Rhizopus sp.* quando em contato com o herbicida Fomesafen nas dosagens de 1% e 10% da recomendada pelo fabricante. Esse mesmo fungo teve seu crescimento anulado na dosagem de 10% do herbicida 2,4-D. Já *C. gloeosporioides* teve sua inibição total nas doses de 1% e 10% quando exposto ao herbicida 2,4-D. Quando exposto ao Fomesafen, houve inibição total somente na dose de 10% (Figuras 4 e 5). Observa-se ainda que nas doses de 0,01% do

herbicida Fomesafen, e 0,1% de 2,4-D, houve estímulo de crescimento micelial por parte destes herbicidas.

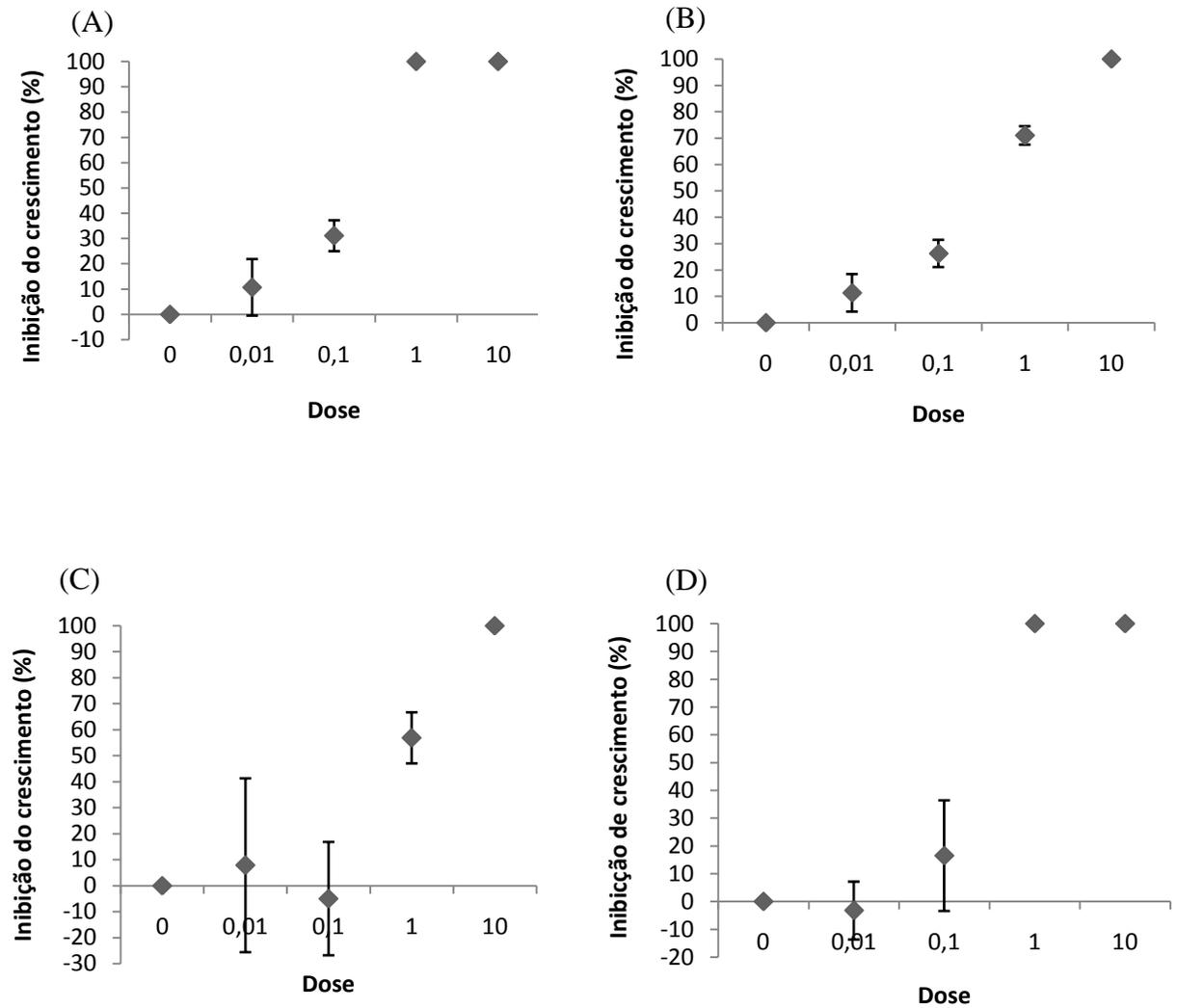
As diferentes respostas de *Rhizopus sp.* e *C. gloeosporioides* frente aos herbicidas utilizados podem estar relacionadas com os diferentes hábitos que esses fungos apresentam, uma vez que *Rhizopus sp.* é mais comum no solo e em pós colheita; e *C. gloeosporioides*, na parte aérea de algumas plantas e também em pós colheita.

Figura 3 - Crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em exposição aos herbicidas Fomesafen (A) e 2,4-D (B), e crescimento de *Rhizopus sp.* em contato com o Fomesafen (C) e 2,4-D (D).



Fonte: O autor.

Figura 4. Inibição total de *C. gloeosporioides* nas doses de 1% e 10% quando submetido ao 2,4-D (A) e 10% quando exposto ao Fomesafen (B). Inibição total de crescimento de *Rhizopus* sp. na dose de 10% quando exposto ao herbicida 2,4-D (C) e inibição total do crescimento nas dosagens de 1% e 10% quando em contato com o herbicida Fomesafen (D).



Fonte: O autor.

O hábito de crescimento de um fungo é decorrente de suas características biológicas, e depende, além da resistência a fatores adversos presentes no ambiente no qual está inserido; do tipo de enzimas; da constituição genética de cada espécie, resultante de mutação, hibridação, heterocariose, parassexualidade e herança citoplasmática na fase ativa do organismo (MICHEREFF, 2005).

Para Siqueira & Franco (1988), a sobrevivência dos diferentes grupos de microrganismos dependem dentre outros fatores, da estrutura de sobrevivência, de dormência e de seu ciclo de vida; das condições que afetam a sobrevivência destas estruturas antes e após a germinação ou crescimento dos propágulos; dos fatores que controlam ou afetam a produção destas estruturas; da sua diversidade fisiológica; e eficiência na utilização de substratos.

Os herbicidas utilizados neste trabalho, nas concentrações mais altas, causaram algum tipo de estresse nos processos metabólicos dos fungos que inibiram e/ou atrasaram seu crescimento. Lehner et al., (2014) verificaram considerável redução do diâmetro de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* ao se aumentar a concentração do herbicida Fomesafen. SCHWAN-STOFFEL et al., (2012) constataram ação inibitória do Fomesafen (83%) na germinação de *Phakopsora pachyrhizi*. Rosa et al., (2010) confirmaram redução significativa no crescimento micelial de seis fitopatógenos quando expostos aos herbicidas Glifosato e Halosulfuron. Mendes et al., (2004) verificaram que não houve efeito inibitório no crescimento micelial, bem como não encontraram diferenças significativas na esporulação de *Fusarium* sp. quando exposto ao herbicida 2,4-D.

Considerando que para o Fomesafen, a recomendação é de 250 g ia/ha, e 670 g ia/ha para 2,4-D, a dose mínima de inibição total utilizada nesse trabalho para *Rhizopus* sp. foi de 2,5 g ia/ha do herbicida Fomesafen e 67g ia/ha do herbicida 2,4-D. Para o *C. gloeosporioides* a dose mínima para inibir totalmente o crescimento do fungo foi de 25 g ia/ha do herbicida Fomesafen e 6,7 g ia/ha de 2,4-D. Como são dois produtos aplicados em pós-emergência, a quantidade real do ingrediente ativo que atinge estes fitopatógenos em condições de campo, depende de alguns fatores como o hábito dos mesmos, tipo e vazão do bico que se utiliza, estágio de desenvolvimento da cultura e da planta daninha, tipo de argila e material orgânico presente no solo e etc. Entretanto, os dois fungos ao entrarem em contato com a solução que possui um mínimo de 10% de ingrediente ativo da dosagem recomendada terão seu crescimento inibido.

Neste sentido, vale destacar a importância do tempo de meia-vida, intervalo de aplicação e a dinâmica destes produtos no ambiente, pois de acordo com os resultados

obtidos, as doses inibitórias podem, em nível de campo, podem atrasar uma epidemia presente na lavoura.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que houve efeito inibitório para os dois produtos testados.

Utilizando o herbicida Fomesafen, a dose mínima de inibição total para *Rhizopus* sp. foi de 2,5 g ia/ha, e de 25 g ia/ha para *C. gloeosporioides*. A dose mínima de inibição total de 2,4-D foi de 67g ia/ha para *Rhizopus* sp. e 6,7 g ia/ha para *C. gloeosporioides*.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; MALLOCH, D. Interaction of soil microflora with the bioherbicide phosphinothricin. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 54, n. 3, p. 165-174, 1995.
- ALMEIDA, F. S.; RODRIGUES, B. N. Guia de herbicidas. 2.ed. Londrina:ALMEIDA e RODRIGUES, 1988. p.75-217.
- AMARANTE JUNIOR, O. P. et al. Revisão das propriedades, usos e legislação do Ácido 2, 4-diclorofenoxiacético (2, 4-D). **Cad. Pesq**, v. 13, n. 1, p. 60-70, 2002.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. Volume 1 Piracicaba, SP: Ceres, 2011. P. 150-151.
- BARBOSA, Kássia Aparecida Garcia et al. Interação entre herbicidas e cultivares de soja sobre o desenvolvimento populacional de Heteroderaglycines em campo. 2010.
- BITTENCOURT, Sonia Regina Mudrovitsch de et al. Eficiência do fungicida carboxin+ thiram no tratamento de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, p. 214-222, 2007.
- BOLAN, N. S. e BASKARAN, S. Biodegradation of 2,4-D Herbicide as Affected by its Adsorption -Desorption Behavior and Microbial Activity of Soils. *Journal Soil Research*. nº 34, pp. 1041-1053, 1996.
- CATANEO, ANA CATARINA; CARVALHO, JOSÉ CLAUDIONIR. RESISTÊNCIA DE PLANTAS A HERBICIDAS MIMETIZADORES DAS AUXINAS (Grupo 0). **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**, p. 62, 2008.
- COBB, A. Auxin-type herbicides. In: *Herbicides and Plant Physiology*. Capman& Hall, 1992.p.82-106.
- COBUCCI, Tarcísio et al. Effect of imazamox, fomesafen, and acifluorfen soil residue on rotational crops. **Weed Science**, p. 258-263, 1998.
- DA COSTA, Rodrigo Vêraset al. Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho. **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.
- DA SILVA, Marlene Rodrigues; DE CAMPOS, Ana Caroline Estrope; BOHM, Franciele Zanardo. Agrotóxicos e seus impactos sobre ecossistemas aquáticos continentais. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 2, 2013.
- DAN HESS, F. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science*, Lawrence, v.48, n.2, p.160-170, 2000.
- DANN, E.K.; DIERS, B.W.; HAMMERSCHMIDT, R. Suppression of *sclerotinia* stem rot of soybean by lactofen herbicide treatment. *Phytopathology*, Saint Paul, v.89, n.7, p.598-602, 1999.

DE OLIVEIRA, Maurílio Fernandes; BRIGHENTI, Alexandre Magno. Comportamento dos herbicidas no ambiente. **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro técnico-científico (ALICE)**, 2011.

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. Oxygen toxicity and herbicidal action; Secondary physiological effects of herbicides. In: _____. Physiology of herbicide action. New Jersey : Prentice-Hall, 1993. Cap.9, cap.16, p.177-188

DUKE, S. O.; CERDEIRA, A. L.; MATALLO, M. B. Uso de herbicidas e seus efeitos em doenças vegetais. *Informações Agronômicas*, Piracicaba, n. 115, p. 1-4, 2006.

FOURNIER, J.C.; MASSENOT, D.; DROGOUT, C. Effect of various pesticides of the degradation of 2,4-D, Isoproturon and Propamocarb. Importance of some experimental conditions. *Proceedings EWRSSymp. Theory and Practice of the Use of Soil Applied Herbicides*. 1981. p. 103-110.

FREITAS, R. A. de; DIAS, D. C. F. dos S.; CECON, P. R.; REIS, M. S. Qualidade Fisiológica e Sanitária de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 22, nº 2, p.94-101, 2000.

GALLI, Juliana Altafinet al. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, p. 182-187, 2005.

GHASSEMI, M.; L. Fargo, P.; Painter, S.; Quinlivan, R.; Scofield e A. Takata. (1981). Environmental Fates and Impacts of Major Forest Use Pesticides. EPA. Office of Pesticides and Toxic Substances. pp. 101-148.

GOULART, Augusto César Pereira. **Fungos em sementes de soja: detecção e importância**. EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997.

GROSSMANN, K. Induction of abscisic acid is a common effect of auxin herbicides in susceptible plants. *J. Plant Physiol.*, v.149, p.475-8, 2000.

GROSSMANN, K. Mode of action of auxinic herbicides: a new ending to a long, drawn out story. *Trends Plant Sci.*, v.5, n.12, p.506-8, 2000.

GROSSMANN, K.; SCHELTRUP, F.; KWIATKOWSKI, J. et al. Induction of abscisic acid is a common effect of auxin herbicides in susceptible plants. *J. Plant Physiol.*, v.149, p.475-8, 1996.

GUEDES, Sumaya Ferreira. Estudo da biodegradação do ácido 2, 4-diclorofenoxiacético, um herbicida selectivo amplamente utilizado na agricultura, por uma estirpe de *Penicillium*. 2010.

HAMMERSCHMIDT, R. Herbicide induced disease resistance and the mechanisms behind it. *Phytopathology*, Saint Paul, v.90, n.6, s.99, 2000.

HOWARD, P. P. (1991): Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals. Pesticides. Lewis Publishers. Vol.3, pp.712.

IBGE, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94254.pdf>.

JAKELAITIS, A. et al. Atividade residual no solo da mistura comercial dos herbicidas fluazifop-p-butil e Fomesafen utilizados no cultivo convencional e direto do feijoeiro. **Planta daninha**, v. 24, n. 3, p. 533-540, 2006.

JOHNSON, David H.; TALBERT, Ronald E. Imazaquin, chlorimuron, and fomesafen may injure rotational vegetables and sunflower (*Helianthus annuus*). **Weed Technology**, p. 573-577, 1993.

LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B. Comportamento de pesticidas em solos: fundamentos. **Tópicos em ciência do solo**, v. 3, p. 291-334, 2003.

LEHNER, M. S. et al. Potential of herbicides for controlling soil-borne fungal pathogens of common beans. **Planta Daninha**, v. 32, n. 1, p. 117-123, 2014.

LEITE, G. P. H.; CRUSCIOL, C. A. C.; LIMA, G. P. P. L.; SILVA, M. de A. Reguladores Vegetais e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar em meio de safra. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1843- 1850, 2008.

LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, v.30, p.579-602, 1992.

LOPES, Fernanda Cortez. **Produção e Análise de Metabólitos Secundários de Fungos Filamentosos**. 2011. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. p.15.

LUCHINI, L.C. **Adsorção-dessorção dos herbicidas paraquat, diuron e 2,4-D em seis solos brasileiros**. Piracicaba: 1987. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 91p.

LYDON, John; DUKE, Stephen O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pesticide science**, v. 25, n. 4, p. 361-373, 1989.

MANCUSO, Mauricio Antonio Cuzato; NEGRISOLI, Eduardo; PERIM, Lucas. Efeito residual de herbicidas no solo ("Carryover"). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MENDES, D.; PITELLI, R. A.; COELHO, L. Efeito de concentrações de herbicidas sobre aspectos biológicos de *Fusarium SP.* (isolado FCAV# 940). **Planta Daninha**, p. 85-93, 2004.

MENEZES, Maria. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, v. 3, p. 170-179, 2013.

MICHEREFF, Sami J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 1-18, 2005.

MORAES, Solange L.; REZENDE, Maria Olímpia de O. Comportamento sortido dos herbicidas s-triazinas em solo e em ácidos húmicos. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 8, 1998.

NOVEMBRE, A.D.L.C. & MARCOS-FILHO, J. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.2, p.105-113, 1991.

OLIVEIRA, Vitória de Souza de. Dinâmica do Fomesafen no solo e impacto de Tiametoxam e Fomesafen sobre três espécies de macrófitas aquáticas. 2014.

PHIPPS, P.M. Soybean and peanut seed treatment: new developments and needs. **Plant Disease**, St Paul, v.68, n.1, p.76- 77, 1984.

PRADO, A.G.S. VIEIRA, E.M. Avaliação das quantidades crônicas do herbicida 2,4-D aplicadas no solo baseada em estudos de adsorção/dessorção. *An. Assoc. Bras. Quím.*, São Paulo, V. 47, n. 3, p.239-246, 1998.

RACKE, K. D. et al. Pesticides report 38. Pesticide fate in tropical soils (technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 6, p. 1349-1372, 1997.

RIZZARDI, Mauro Antônio et al. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 957-965, 2003.

RODRIGUES, M. V. N. SERRA, G. E. Determinação de resíduos de 2,4D em amostras vegetais. *Pesticidas R. Téc.Cient.*, Curitiba, V. 6, p.99-104, 1996.

ROSA, Daniel Dias et al. Efeito de herbicidas sobre agentes fitopatogênicos. **Acta Sci. Agron**, v. 32, n. 3, p. 379-383, 2010.

ROZWALKA, Luciane Cristina et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

SANTOS, José Geraldo Martins. **Controle químico de plantas daninhas na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), no inverno**. 1991. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

SCHWAN-STOFFEL, A. V.; GAVASSONI, W. L.; BACCHI, L. M. A. Germinação de phakopsora pachyrhizi sid. & p. sid. sob diferentes herbicidas. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v. 79, n. 3, p. 381-387, 2012.

SILVA, Katiane Santiago et al. Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 131-133, 2006.

SILVA, VALDEVINO PEREIRA. **Eficiência e residual no solo de herbicidas aplicados em pós emergência na cultura do feijão**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Ministerio da Educacao e Cultura, 1988. 235 p., 1988.

SPADOTTO, Claudio. **Avanços na tecnologia de aplicação de produtos fitossanitários [recurso eletrônico]** – Botucatu : FEPAF, 2015, 109 p.

STERLING, T.M., HALL, J.C. Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides. In: ROE, R.M. et al. (Ed.) *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology*. IOS Press, **Amsterdam**, 1997. p.111-141.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre, 2004. p.449- 84, Capítulo 19.

TAMMA-VITHALA, R. V. (1989). **Photodegradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid on Soil**. Unpublished study. Artment of Pesticide Regulation. Sacramento, CA. pp.37-40.

TANAKA, M.A.S. & MACHADO, J.C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.123, p.40-46, 1985.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 479. v.18, n.1, p.36-40, 2007.

VIDAL, R.A.; MEROTTO JÚNIOR, A.; FLECK, N.G. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas de menor risco para desenvolver problemas. CURSO DE MANEJO E RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS, Ponta Grossa, 1999. **Anais**. Ponta Grossa: AEACG, 1999. p.68-72.

VIEIRA, E.M. et al. Estudo da adsorção/ dessorção do ácido 2,4- Diclorofenoxyiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, São Paulo, v.22, n.3, p.305-308, 1999. 70.

VIEIRA, R. F. et al. Aplicações sequenciais de Fomesafen via água de irrigação por aspersão no controle de *Bidens pilosa*. **Planta Daninha**, v. 24, p. 497-503, 2006.

VIEIRA, R. F.; SILVA, A. A.; RAMOS, M. M. Aplicação de herbicidas pós-emergentes via irrigação por aspersão - Revisão. *Planta Daninha*, v. 21, p. 495-506, 2003.

WEED SCIENCE. Registers of Protox-resistant weeds. Disponível em: <http://www.weedscience.org/summary/MOASummary.asp>. Acesso em: 03/12/2015.

ZORATO, M. F.; HOMECHIN, MARTIN; HENNING, A. A. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes, Brasília**, v. 23, n. 1, p. 159-166, 2001.