

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO EM ESTUDOS DE
CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA CULTIVADA EM
DIFERENTES CONDIÇÕES

Laerte Souza Bárbaro Junior
Engenheiro Agrônomo

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO EM ESTUDOS DE
CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA CULTIVADA EM
DIFERENTES CONDIÇÕES

Laerte Souza Bárbaro Junior

Orientador: Prof. Dr. José Frederico Centurion

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Pessôa da Cruz Centurion

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

B229m Bárbaro Junior, Laerte Souza
Metodologias de inoculação em estudos de controle do mofo branco em soja cultivada em diferentes condições. / Laerte Souza Bárbaro Junior. -- Jaboticabal, 2015
x, 86 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: José Frederico Centurion
Coorientadora: Maria Aparecida Pessoa da Cruz Centurion
Banca examinadora: Helena Baroni Junqueira Franco de Luca, Gisele Herbst Vazquez, Rita de Cássia Panizzi, Mariluce Pascoina Nepomuceno de Melo
Bibliografia

1. *Sclerotinia sclerotiorum*. 2. Controle químico. 3. Controle biológico. 4. *Glycine Max*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.9:633.34

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LAERTE SOUZA BÁRBARO JUNIOR, nascido em 23 de março de 1985, na cidade de Bebedouro-SP, filho de Laerte Souza Bárbaro e Elenice Marino Bárbaro, Engenheiro Agrônomo formado na Faculdade de Agronomia Dr. Francisco Maeda (FAFRAM), Ituverava-SP em agosto de 2009. Durante a graduação estagiou na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Pólo Regional da Alta Mogiana, Colina - SP onde participou de vários projetos de pesquisa na área de Fitotecnia e Exploração Vegetal, com ênfase nas culturas da soja e milho, que culminaram na co-autoria em vários trabalhos científicos e desenvolvimento de trabalho de conclusão de curso de graduação (TCC). Realizou o estágio curricular no Departamento de Produção Vegetal da Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal – SP, onde também concluiu o curso de mestrado em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal em 2011, recebendo o auxílio financeiro da FAPESP. Ingressou no curso de doutorado em Agronomia, pelo mesmo programa e instituição de ensino e pesquisa em 2012.

O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.

Eleanor Roosevelt

Aos meus pais, Laerte e Elenice
aos meus irmãos Ricardo, Débora, Ivana e Alessandra
e meu sobrinho Gustavo
com imensa gratidão **DEDICO**

Com amor, **OFEREÇO** à minha esposa, Otávia

Aos meus orientadores Maria Aparecida e Frederico, pela amizade, confiança e estímulo nos momentos mais difíceis e também pela extrema competência com que me orientaram nesta tese.

HOMENAGEIO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em minha vida.

A Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Jaboticabal – SP e ao Departamento de Produção Vegetal, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

A Profa. Dra. Maria Aparecida Pessôa da Cruz Centurion e Prof. Dr. José Frederico Centurion, pela amizade, orientação, suporte e aos conhecimentos compartilhados, somatizando para minha formação profissional e até mesmo humana.

Aos meus queridos pais, Laerte e Elenice, pelo amor, amizade, carinho, luta, apoio, incentivo e confiança.

A minha esposa Otávia, pela amizade, apoio, amor, carinho e companheirismo.

A minha irmã Ivana Marino Bárbaro Tornelli pela grande amizade e extrema importância na minha formação profissional.

Aos meus irmãos Ricardo, Débora e Alessandra pelo carinho, amizade e estímulo.

Ao meu sobrinho Gustavo pelas horas de descontração e amor.

Aos amigos Marilei Lenha Verde, Paula Regina de Oliveira, Lucas Cardoso dos Santos, Saulo Strazeio Cardoso, Hélio Francisco da Silva Neto e Bruno Modesto Homem, pelas inúmeras situações engraçadas, amizade e convivência.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/UNESP, campus de Jaboticabal, SP, Sr. Sebastião e Osmar, pela paciência e presteza na realização dos trabalhos e pela grande amizade.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram e consideram-se responsáveis pela realização deste trabalho

MUITO OBRIGADO

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
SUMMARY	iv
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. A cultura da soja.....	2
1.2. Distribuição geográfica e importância econômica do mofo branco na cultura da soja	4
1.3. Etiologia	5
1.4. Sintomatologia	6
1.5. Epidemiologia.....	7
1.6. Controle Químico	9
1.7. Controle Biológico do Mofo Branco.....	11
1.8. Controle Genético	13
1.9. Métodos de Inoculação	14
4. REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 2 - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA.....	29
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	31
2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	31
2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	32
2.3. Etapa 3 -Controle de <i>S. sclerotiorum</i>	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4. CONCLUSÕES.....	51
5. REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 3 - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO EM PLÂNTULAS DE SOJA CULTIVADAS EM BANDEJAS.....	57
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	59
2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	60
2.3. Etapa 3 - Controle de <i>S. sclerotiorum</i>	60

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4. CONCLUSÕES.....	69
5. REFERÊNCIAS	69
CAPÍTULO 4 METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO DE PLÂNTULAS DE SOJA CULTIVADAS EM VASOS EM CASA DE VEGETAÇÃO	
1. INTRODUÇÃO.....	73
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	75
2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de <i>S. sclerotiorum</i>	76
2.3. Etapa 3 -Controle de <i>S. sclerotiorum</i>	76
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4. CONCLUSÕES.....	83
5. REFERÊNCIAS	83

METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO EM SOJA CULTIVADA EM DIFERENTES CONDIÇÕES

RESUMO - No Brasil, a cultura da soja destaca-se no agronegócio mundial devido ao atual crescimento de produção e exportação de grãos. Porém o aumento de doenças ocasionado principalmente pela monocultura em áreas extensivas acarreta perdas significativas em produção. Entre as 40 doenças já identificadas causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus que incidem sobre a soja, o mofo branco tem se destacado como uma das mais graves. Causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, o mofo branco pode acarretar perdas próximas a 100%. Paralelamente, menciona-se o fato de que, a falta de resistência varietal a *S. sclerotiorum* e a resistência a fungicidas por populações de *S. sclerotiorum* contribuem para a dificuldade de controle da doença. Os altos custos e o acúmulo de resíduos dos produtos químicos no meio ambiente, especialmente em cultivos protegidos, torna o controle biológico como um método alternativo e seguro para o controle do *S. sclerotiorum*. Apesar da inquestionável eficiência de métodos de inoculação artificial de fitopatógenos verifica-se que há poucos estudos referentes ao mofo branco na cultura da soja. Deste modo, o presente trabalho teve por objetivos verificar a viabilidade de metodologias de inoculação artificial do referido patógeno em diferentes condições, além de testar a reação de cultivares e a efetividade de produtos químicos e biológicos a *S. sclerotiorum*. Para isso, experimentos em laboratório com folhas destacadas de soja e plantas em bandejas e vasos em casa-de-vegetação foram instalados. As avaliações foram efetuadas através de escalas de notas dos sintomas foliares e contagem de escleródios. Em folhas destacadas, o método de inoculação artificial dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno destacou-se pela maior reprodução dos sintomas foliares. Dentre as cultivares testadas a SYN 1157 RR e Emgopa 316 retardaram os sintomas da doença. O produto químico tiofanato metílico, reduziu os sintomas foliares além de inibir a formação de escleródios. Em bandejas, o isolado proveniente da cultura da soja e o método dos grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura apresentaram as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas. Não foram verificadas diferenças na reação de suscetibilidade ou resistência entre as cultivares estudadas. Os produtos à base de metabólitos produzidos pelo *Tricoderma harzianum* e o tiofanato metílico apresentaram os melhores resultados na redução da porcentagem da mortalidade de plântulas. Em casa-de-vegetação, independente do isolado, o método de inoculação artificial dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno e depositados em sulco de semeadura apresentou as maiores médias de plântulas mortas, portanto a maior eficácia no desenvolvimento dos sintomas da doença. Dentre as cultivares, a M 8330 IPRO apresentou maior resistência à doença pela menor porcentagem de plântulas mortas obtidas. Já em relação ao controle, o bioproduto a base de metabólitos foi mais eficaz na redução da doença.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*, controle químico, controle biológico, *Glycine max*

INOCULATION METHODOLOGIES IN STUDIES OF CONTROL WHITE MOLD IN SOYBEAN GROWN IN DIFFERENT CONDITIONS

SUMMARY – In Brazil, soybean stands out in the global agribusiness due to the current growth of production and export of grain. But the increase of diseases mainly caused by monoculture in extensive areas entails significant losses in production. Among the 40 already identified diseases caused by fungi, bacteria, nematodes and viruses that focus on soybeans, white mold has emerged as one of the most serious. Caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, white mold can cause losses close to 100%. At the same time, it is mentioned the fact that the lack of varietal resistance to *S. sclerotiorum* and fungicide resistance by populations of *S. sclerotiorum* contribute to the difficulty of controlling the disease. The high costs and the accumulation of waste chemicals in the environment, especially in greenhouses, makes the biological control as an alternative and safe method for the control of *S. sclerotiorum*. Despite the unquestionable efficiency of artificial inoculation of pathogens methods it appears that there are few studies related to white mold in soybeans. Thus, this study aimed to verify the feasibility of artificial inoculation methods of that pathogen in different conditions, and test the reaction of cultivars and the effectiveness of chemical and biological products to *S. sclerotiorum*. For this, laboratory experiments with detached leaves of soybeans and plants in trays and pots in a greenhouse, were installed. The evaluations were made through note scales of foliar symptoms and sclerotia count. In detached leaves, artificial inoculation method of the colonized grain sorghum with the pathogen stood out for most reproduction of foliar symptoms. Among cultivars tested SYN Emgopa 316 1157 RR and slowed disease symptoms. The chemical thiophanate methyl, reduced foliar symptoms and inhibits the formation of sclerotia. In trays, isolated from the soybean crop and the method of grain sorghum colonized and deposited in planting furrow showed the highest average percentage of dead seedlings. There were no differences in the response of susceptibility or resistance among cultivars. Based products of metabolites and Thiophanate Methyl showed the best results in reducing the percentage of seedling mortality. Home-de-vegetation Independent isolated, artificial inoculation method of the colonized grain sorghum with the pathogen and deposited in planting furrow presented with higher averages of dead seedlings, so the more effectively in the development of disease symptoms. Among the cultivars, M 8330 IPRO showed greater resistance to disease by the lower percentage of dead seedlings obtained. In relation to the control, the byproduct metabolites of the base was more effective in reducing disease.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*, chemical control, biological control, *Glycine max*

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das mais importantes commodities do mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores. Na safra brasileira 2014/15, a produção de soja estimada foi de 95,070 milhões de toneladas (CONAB, 2015).

O aumento de doenças na cultura da soja é um dos fatores que mais afetam a produtividade, acarretando perdas significativas. Em algumas situações, dependendo da doença, essas perdas podem se aproximar dos 100%, como é o caso do mofo branco (EMBRAPA, 2014a). Causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, o mofo branco também conhecido como podridão branca da haste, tem se tornado uma doença importante para a cultura da soja em muitas regiões brasileiras.

Os sintomas típicos de mofo branco na cultura da soja iniciam-se a partir de lesões aquosas nos tecidos de onde formam abundante micélio. Os tecidos infectados apodrecem em consequência da ação das diversas toxinas produzidas por *S. sclerotiorum*. Nessa fase, pode ser observado o apodrecimento de hastes laterais, vagens e folhas, ou mesmo da haste principal com a morte de toda planta (GRAU; RADKE, 1984).

Uma alternativa utilizada por muitos agricultores para o controle da doença é a aplicação de fungicida via água de irrigação por aspersão. O controle químico deve ser preferencialmente de forma preventiva sempre visando à diminuição do inóculo inicial. Já, o tratamento de sementes deve também ser feito para controlar as infecções no momento da germinação (CARVALHO; CHIAVEGATO, 2006). O controle químico do mofo-branco pode ser inviável em razão dos custos e das dificuldades de se obter uma cobertura total da planta durante a pulverização.

Não há registro de cultivares de soja resistente a *S. sclerotiorum*, porém segundo Homechin (1983); Boland e Hall (1987); Silva e Machado (1989); Wegulo, Yang e Martinson (1998); Chaves, Martinelli e Loch (1996), diferenças entre

cultivares de soja quanto à reação a *S. sclerotiorum* têm sido avaliadas no campo, casa de vegetação e laboratório.

O uso do controle biológico é uma alternativa para o manejo fitossanitário, cujas práticas contemplam a conservação dos recursos naturais (SIVAN; CHET, 1992). O agente de controle biológico de doenças mais estudado e utilizado no Brasil e em outros países da América Latina é o fungo *Trichoderma* sp. (BETTIOL et al., 2008).

Além do *Trichoderma* sp., a bactéria *Bacillus subtilis* apresenta elevado potencial antagonico de bactérias, sendo estudada em vários trabalhos de controle biológico de doenças em plantas (BETTIOL; KIMATI, 1990). Os produtos comerciais à base de microrganismos antagonistas podem servir como uma ferramenta de controle de fitopatógenos, em rotação com outros fungicidas químicos em cultivos convencionais.

Recentemente na literatura, os métodos existentes de inoculação para o mofo branco não apresentam eficácia no sentido de se obter níveis desejáveis de infecção, pois na grande maioria consistem em inocular discos de batata – dextrose – Agar (BDA) colonizados com *S. sclerotiorum* em diversas partes de plantas (MACHADO et al., 2001). A determinação e adoção de métodos eficientes de inoculação são imprescindíveis para a identificação de potenciais fontes de resistência e tratamentos de controle (FERREIRA et al., 2013).

O estudo de antagonistas à *S. sclerotiorum* através da técnica de cultivo da folha destacada pode ser uma alternativa prática e vantajosa, pois economiza espaço, material vegetal e inóculo além do maior controle e manipulação dos fatores ambientais durante o experimento.

Diante da importância da cultura e da doença, pretendem-se verificar a viabilidade de metodologias de inoculação artificial sob as técnicas de cultivo de soja em folhas destacadas, bandejas e vasos além de testar a reação de cultivares ao patógeno e a efetividade de produtos químicos e biológicos a *S. sclerotiorum*.

1.1. A cultura da soja

A soja cultivada [*Glycine max* (L.) Merrill] pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, gênero *Glycine* tendo como principal centro de origem a China. É uma espécie autógama, herbácea,

anual, ereta, de crescimento morfológico diversificado, variando de 0,3 a 2,0 metros de altura, podendo ser muito ou pouco ramificada, com ciclo de 75 a 200 dias, dependendo da cultivar e das condições ambientais (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009).

No Brasil, foi introduzida primeiramente no estado da Bahia, em 1882, e após 10 anos chegou ao município de Campinas, no estado de São Paulo (COSTA, 1996; GOMES, 1990). Contudo, foi no Rio Grande do Sul que esta leguminosa começou a ser cultivada em maior escala, em razão da suinocultura, servindo como um alimento rico em proteínas, e da triticultura, com a utilização da soja em sucessão ao trigo, possibilitando duas safras no mesmo ano agrícola (BLACK, 2000). A partir de 1970 a fronteira agrícola da soja se estendeu para os estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Bahia, Maranhão e demais Estados ao Norte e Nordeste (ROESSING; GUEDES, 1993).

Considerada uma das mais importantes “commodities” produzidas e comercializadas no mundo, a soja destaca-se pela composição química de seus grãos que apresentam 40% de proteínas e 20% de óleos, constituindo-se como fonte alimentar protéica de grande importância mundial, proporcionando múltiplas utilizações comerciais e a formação de um complexo industrial destinado ao seu processamento (SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009). Além do alto teor de proteínas, a semente de soja possui elevado teor de ácidos graxos (GOMES, 1990). Após o seu processamento industrial, são originados diversos subprodutos. Dentre eles, o de maior consumo é o farelo, utilizado na formulação de rações para animais e o óleo, para alimentação humana (BLACK, 2000).

Atualmente, o Brasil é uma potência agrícola, destacando-se na produção de grãos, carnes e biocombustíveis, de acordo com a Conab (2015), a produção nacional de grãos de soja na safra 2014/15 foi de 95,070 milhões de toneladas, representando um incremento considerável em relação à safra 2013/14. Os estados brasileiros com as maiores produções de soja são Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás, os quais contribuem para mais de 70% do total produzido do país (CONAB, 2015). O cultivo do grão de soja vem aumentando, tanto em área, quanto em produtividade, ao longo dos anos. Na safra 2013/14, a área cultivada foi de 30,173 milhões de hectares e a produtividade média de 2,854 kg ha⁻¹, valores inferiores aos da safra atual, que atingiram 31,504 milhões de hectares e 2,993 kg ha⁻¹ (CONAB, 2015).

1.2. Distribuição geográfica e importância econômica do mofo branco na cultura da soja

O aumento de doenças ocasionado principalmente pela monocultura em áreas extensivas tem acarretado significativas perdas à cultura da soja. As perdas anuais estimadas na produção ficam em torno de 15 a 20%. Em algumas situações, dependendo da doença, essas perdas podem se aproximar dos 100% como é o caso do mofo branco. (EMBRAPA, 2014a)

Cassetari Neto e Machado Silva (2010), estimaram os danos causados pelo mofo branco doença em 10 a 20%, porém segundo os mesmos, perdas superiores a 50% podem ocorrer em ataques severos. De acordo com Grau e Hartman (1999), para cada 10% de incidência da doença, os danos atingiram 250 kg ha⁻¹. Em outros trabalhos, a redução do rendimento variou de 170 a 335 kg ha⁻¹, para cada 10% de incidência da doença no campo (YANG et al., 1999), e de 147 a 263 kg ha⁻¹ (HOFFMAN et al, 1998), ocorrendo variação de acordo com a cultivar utilizada. Em estudo de Danielson et al. (2004), a perda estimada de rendimento de soja com incidência de 10% pelo mofo branco, ficou entre 83 kg ha⁻¹ a 229 kg ha⁻¹, com uma perda média de 136 kg ha⁻¹ e também reduziu o peso das sementes. Perdas de rendimento devido a doença nas culturas hospedeiras são variáveis, podendo chegar a 100% (PURDY, 1979).

Calcula-se que a taxa de infecção do mofo branco em sementes de soja varia de 0,3% a 0,7%, sendo que a alta incidência da doença na cultura pode afetar negativamente a germinação das sementes e a quantidade de óleo (HOFFMAN et al., 1998).

O patógeno causador do mofo branco, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um fungo de ampla ocorrência em todo o mundo, com pelo menos 408 espécies de plantas hospedeiras entre elas plantas de importância econômica como soja, feijão, algodão e girassol (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; BOLAND; HALL, 1994).

Na cultura da soja, a doença foi relatada pela primeira vez em 1924, na Hungria, e desde então foi detectada em vários outros países (GRAU; HARTMAN, 1999).

Em 1921, foi relatada pela primeira vez no Brasil na cultura da batata, em São Paulo e, posteriormente, em outros estados em diferentes hospedeiros (CHAVES, 1964). Em soja, a primeira epidemia grave de mofo branco foi relatada na década de 70, em cultivos de soja no Paraná (HENNING, 2004; YAMASHITA; YOSHIKAWA; 1978). Posteriormente, a doença foi disseminada na região dos Cerrados onde, entre as décadas de 80 e 90, se fez presente em 50% das áreas cultivadas sob pivô central.

O mofo-branco até a safra 2003/04 era praticamente restrito a cultivos em sistemas de irrigação, principalmente na cultura do feijão. Em áreas de sequeiro, ocorria somente de forma esporádica, sem causar grandes preocupações. A partir de então, a doença começou a causar danos na cultura da soja, tanto em áreas de irrigação como também em áreas de sequeiro. Isso ocorreu principalmente pelas práticas inadequadas de uso da terra, como não rotação de culturas e não formação de palhada (EMBRAPA, 2014b).

1.3. Etiologia

A doença conhecida como mofo branco ou podridão branca de esclerotinia, é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (sin, *Whetzelinia sclerotiorum*), pertencente ao Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, Ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae, não possuindo ciclo assexuado (MASSOLA JÚNIOR; KRUGNER, 2011).

A espécie *S. sclerotiorum* é conhecida e estudada desde 1837. A subdivisão Ascomycotina representa os fungos ascomicetos e se constitui no grupo mais numeroso de fungos. Sua característica básica é a formação, após a meiose, de esporos sexuais, os ascósporos, dentro de uma estrutura em forma de saco, o asco (KRUGNER; BACCHI, 1995). O micélio desse grupo de fungos é constituído por hifas hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas. A característica mais marcante da Ordem Helotiales é a formação de escleródios bem desenvolvidos; já a família Sclerotiniaceae caracteriza-se pela produção, no ciclo sexual, de apotécios com estipe, a partir da germinação dos escleródios (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Os escleródios são constituídos por um enovelamento de hifas, de coloração inicialmente branca, tornando-se negros posteriormente. A coloração escura é

resultante da presença de melanina, pigmento que possivelmente desempenha papel importante na proteção de condições adversas e na degradação microbiana. De acordo com o hospedeiro o tamanho dos escleródios varia sendo o formato sempre irregular. Na cultura do girassol o escleródio pode atingir mais de 35 µm de diâmetro enquanto que, no feijão, o escleródio possui de 2 a 10 µm de diâmetro (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

A germinação do escleródio, por sua vez, pode ser carpogênica ou miceliogênica, desencadeando novo ciclo da doença. A germinação carpogênica ocorre através dos escleródios a produção de apotécios e sucessivamente os ascósporos. Já a germinação miceliogênica é caracterizada pelo crescimento de hifas hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas, com origem a partir de microporos do escleródio. Segundo Paula Júnior et al. (2010), cada escleródio é capaz de dar origem a mais de 20 apotécios, nos quais são formados milhares de ascos e, a partir destes, são liberados os ascósporos, sendo que durante o período funcional (5 a 10 dias), mais de dois milhões de ascósporos podem ser liberados de um único apotécio.

1.4. Sintomatologia

Na cultura da soja, os sintomas típicos do mofo branco iniciam-se a partir de lesões encharcadas de onde crescem as hifas e ocorrendo após abundante desenvolvimento micelial. A ação das diversas toxinas produzidas pela *S. sclerotiorum* apodrecem os tecidos infectados. Pode ser observado nesse período o apodrecimento de diversas partes da planta, inclusive a haste principal ocasionando a morte da planta (GRAU; RADKE, 1984). Com o avanço da colonização do tecido vegetal pelo fungo, as lesões inicialmente aquosas tornam-se secas e não apresentam mais sinais externos ocorrendo assim a formação de escleródios tanto na superfície como no interior da haste e das vagens infectadas.

Geralmente, os sintomas se concentram no terço inferior das plantas, o que é considerado como um indicativo de origem interna (de dentro da lavoura) do inóculo (BOLAND; HALL, 1988).

Na cultura da soja, a fase mais vulnerável à infecção vai da floração plena (R2) ao início da formação dos grãos (R5) (DANIELSON; NELSON; HELMS, 2004). Sementes infectadas são pequenas, sem brilho, com descoloração, enrugamento e

peso menor, ou também podem se apresentar assintomáticas (CANTERI; DALLA PRIA; SILVA, 1999; PAULA JUNIOR et al., 2010). Podem apodrecer e não germinar, ocorrendo a formação de escleródios (PAULA JUNIOR et al., 2010). Aquelas sementes que germinam podem resultar em plantas doentes ou então morrerem logo em seguida, caracterizando o sintoma de tombamento (PAULA JUNIOR et al., 2010).

1.5. Epidemiologia

A capacidade de formar estruturas de resistência (escleródios) garante a sobrevivência do patógeno por vários anos, mesmo em condições adversas, limitando a utilização de práticas como a rotação de culturas. De acordo com Adams e Ayres (1979), na ausência de hospedeiro suscetível, o fungo pode persistir no solo em forma de escleródios por até 8 anos.

Existe uma ampla gama de fatores ligados ao tempo de sobrevivência, à capacidade de germinação carpogênica ou miceliogênica, à atividade enzimática, ao potencial de infecção, e à distribuição espacial de escleródios no solo (SUN; YANG, 2000; CLARKSON et al., 2003; WU; SUBBARAO, 2008).

Os fatores ambientais condicionantes da germinação carpogênica do escleródio incluem temperatura, umidade do solo e profundidade em que o escleródio encontra-se no solo (LIU; PAUL, 2007; WU; SUBBARAO, 2008). A espécie hospedeira também pode estimular a germinação de escleródios, por meio de exsudatos radiculares e pelo microclima formado sob o seu dossel. Em zonas de clima temperado, as condições ideais partem de uma combinação de eventos úmidos e secos, baixas temperaturas e períodos decorridos (BARDIN; HUANG, 2001). Em contraste, isolados oriundos dos trópicos não requerem frio no processo de germinação carpogênica. Portanto, a origem geográfica dos isolados é de fundamental importância em estudos envolvendo o patógeno *S. sclerotiorum* (BOLTON et al., 2006).

Os escleródios presentes no solo sob temperatura na faixa de 10 a 21°C e condições de alta umidade, germinam e desenvolvem os apotécios (ALMEIDA et al., 2005). Cada apotécio produz milhares de ascos, formando milhões de ascósporos que podem sobreviver por até duas semanas no campo, causando infecções primárias nas plantas (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

As disseminações em curtas distâncias são realizadas por ascósporos transportados por correntes de ar (100 m); a distâncias médias, por implementos agrícolas, animais e homens; e a longas distâncias, por material propagativo infectado (CARDOSO, 1990; NAPOLEÃO et al., 2006; KORA et al., 2003).

Para germinação dos ascósporos e conseqüentemente infecção, é necessária a presença de água livre e uma fonte de nutriente exógena fornecida por tecidos senescentes e necróticos presentes no solo ou retidos nas hastes das plantas (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; CANTERI; DALLA PRIA; SILVA, 1999). Em condições de alta umidade, o fungo pode colonizar os tecidos sadios entre 16 e 24 horas após a infecção do tecido floral senescente. Em tempo seco, o progresso da doença pode ser retardado ou paralisado, mas é retomado quando as condições de alta umidade retrocedem (PAULA JÚNIOR et al., 2010).

Na literatura, há diversos relatos sobre as condições favoráveis para os processos de germinação e infecção por *S. sclerotiorum*. Segundo alguns relatos, a germinação dos ascósporos ocorre em condições de alta umidade relativa e temperatura ótima entre 5-10°C, enquanto a temperatura ótima para crescimento micelial está na faixa de 15°-25°C (ABAWI; GROGAN, 1975). Outras condições requeridas para o processo de infecção, além da temperatura, são o pH do solo entre 6,0 e 9,7 e presença de 8 horas de luz, no mínimo (COOK; STEADMAN; BOOSALIS, 1975).

O micélio pode permanecer viável em tecidos infectados por até 144 horas em condições desfavoráveis e retoma o desenvolvimento quando as condições favoráveis regressam (HARIKRISHNAN; DEL RÍO, 2006).

Para que o fungo possa se desenvolver e provocar uma epidemia, é necessário que a umidade adequada do solo seja mantida por certo período de tempo (HUNTER et al., 1984), variando em função do local e do tipo de solo. Em geral, a umidade do solo correspondente à tensão de 7,5 bar ou menor favorece o patógeno (GROGAN; ABAWI, 1975; MORRALL, 1977).

Extensos períodos de molhamento da superfície da planta durando 40 a 120 horas e temperaturas médias diárias de 12°C a 24°C são favoráveis à infecção e ao desenvolvimento do mofo branco em soja (BOLAND; HALL, 1988).

Em temperaturas amenas, inferiores a 10°C ocorre o desenvolvimento da doença, porém seu progresso é lento (WEISS; KERR; STEADMAN, 1980), e com temperaturas abaixo de 5°C não há o desenvolvimento da doença (ABAWI;

GROGAN, 1979), devido à formação do tubo germinativo ser prejudicado pelos baixos valores de temperatura (ABAWI; GROGAN, 1975). Em contrapartida, Hikishima, Geraldine e Lobo Jr. (2010) demonstraram que o fungo *S. sclerotiorum* foi capaz de provocar a doença a 10°C, porém apenas quando o molhamento sobre a superfície do vegetal foi igual ou superior a 28 horas.

Em condições de temperaturas de 30°C, ou superiores, o desenvolvimento do fungo é cessado e lesões não aparecem (WEISS; KERR; STEADMAN, 1980; ABAWI; GROGAN, 1979; HANNUSCH; BOLAND, 1996; HIKISHIMA; GERALDINE; LOBO Jr, 2010). Abawi e Grogan (1975), afirmaram que na temperatura de 30°C a infecção não ocorre, pois não há desenvolvimento do tubo germinativo.

Posteriormente a penetração do hospedeiro, o patógeno se desenvolve inter e intracelular com o crescimento de hifas, as quais, posteriormente dão origem a novos escleródios e após 72 horas de desenvolvimento do micélio, escleródios já podem ser formados (CANTERI; DALLA PRIA; SILVA, 1999).

1.6. Controle Químico

A severidade do mofo branco em diferentes hospedeiros de *S. sclerotiorum* é, em geral, proporcional à densidade de inóculo do patógeno no solo. Portanto, a redução da população de escleródios é essencial para o controle efetivo do mofo branco, bloqueando a formação de apotécios e a ejeção de ascósporos minimizando a produção de novos escleródios pelo controle preventivo da doença na parte aérea das plantas (GORGEN et al., 2010).

Apesar do uso de fungicidas ser comum para manejo de doenças, existem poucos fungicidas registrados no Brasil para controle do mofo branco na soja, limitando-se a cinco ingredientes ativos: fluazinam, procimidona, tiofanato metílico, carbendazin e cloreto de benzalcônico (AGROFIT, 2013). Nos Estados Unidos os produtos registrados para o controle do mofo branco na soja são: tiofanato metílico, boscalid, tetraconazole e prothioconazole (PELTIER et al., 2012).

Métodos físico-químicos já foram adotados para reduzir os impactos do mofo branco na agricultura. O uso de agroquímicos, entre outros são exemplos desses métodos de controle (VICENT et al., 2003).

Uma alternativa utilizada por muitos agricultores para o controle da doença é a aplicação do fungicida via água de irrigação por aspersão, técnica denominada

fungigação. Embora haja poucos estudos sobre essa técnica no controle do mofo-branco, os resultados são alentadores (VIEIRA; SUMNER, 1999). O controle químico deve ser preferencialmente de forma preventiva, sempre visando à diminuição do inóculo inicial. Já o tratamento de sementes com fungicidas é feito para controlar as infecções no momento da germinação (CARVALHO; CHIAVEGATO, 2006).

O uso continuado de fungicidas é preocupante quanto ao desenvolvimento de variantes do patógeno resistentes aos produtos disponíveis no mercado. O desenvolvimento de resistência ao fungicida benomil por isolados de *Sclerotinia* spp. nas culturas do alface e amendoim foi reportado por Mueller et al (2002). Hubbard, Subbarao e Koile (1997) atribuíram falha no controle de *S. minor* por resistência a fungicidas. Testes realizados com 91 isolados de *S. sclerotiorum* indicaram potencial para resistência a tiofanato metílico (MUELLER et al., 2002).

Segundo Mueller et al.(2002), o controle químico do mofo branco na cultura da soja pode ser ineficiente devido às dificuldades de atingir uma cobertura total da planta. Colaboram para esta limitação, dificuldades de ajuste do momento da aplicação com a liberação de ascósporos, bem como dificuldades em atingir o terço inferior da planta, onde, normalmente onde está a maioria das lesões do patógeno.

Os fungicidas são usados com maior frequência no controle do mofo branco, porém os produtos químicos são normalmente caros, sua eficiência é variável e não são todos ambientalmente seguros (LU, 2003). Na cultura da soja, Danielson, Nelson e Helms (2004) observaram que infecções iniciadas em diferentes estágios fenológicos, seja R2 ou R5, apresentaram valores semelhantes de redução da massa de cem sementes. Mueller et al. (2004), nos anos de 1998, 1999 e 2000, trabalhando em doze ambientes, com diferentes cultivares de soja nos Estados de Illinois, Ohio e Wisconsin, comprovaram que o tiofanato metílico não apresentou níveis significativos de controle de *S. sclerotiorum*, apenas maiores produtividades de grãos em alguns casos.

Costa e Costa (2004) concluíram, em condições controladas, que o fungicida vinclozolin inibiu 100% da germinação de estipes e apotécios e 60% da germinação miceliogênica, após 75 dias de incubação. O fungicida fluazinam permitiu a formação de estipes inviáveis, e não foi eficiente na inibição da germinação miceliogênica. Já o fungicida tiofanato metílico reduziu, após 15 dias de incubação, 75% da germinação miceliogênica e não apresentou eficiência na inibição da

formação de apotécios, apresentando apenas diminuição do tamanho do estipe. O fungicida procimidone, aos trinta dias de incubação inibiu 60% da germinação miceliogênica, mas não foi eficiente na inibição de estipes e apotécios. Estes resultados frequentemente não são observados em lavouras de feijão irrigado, provavelmente devido ao fungicida ser lavado rapidamente dos escleródios pelo intenso uso da irrigação.

O tratamento de sementes é um eficiente método para controle do patógeno e redução de formação de escleródios a partir de sementes infectadas. Mueller, Hartman e Pedersen (1999) comprovaram controle superior a 98% na redução de escleródios formados a partir de sementes.

1.7. Controle Biológico do Mofo Branco

O controle de doenças causadas por patógenos de solo é dificultado devido à complexidade do ambiente, no qual o controle químico tem sua eficiência prejudicada ou sua aplicação dificultada. Dentre as alternativas para a redução do uso de agrotóxicos, o controle biológico é um dos mais discutidos, podendo tanto aproveitar o controle biológico natural quanto realizar a introdução de um agente de controle biológico (BETTIOL et al., 2009)

A maior parte dos trabalhos que visam à seleção de antagonistas fúngicos a fitopatógenos ocorre com testes *in vitro*, que são mais fáceis e rápidos que os efetuados com solo, permitindo que uma grande população seja avaliada (MARIANO, 1993), mas que nem sempre apresentam correlação com os resultados obtidos em condições de campo (GHINI; NAKAMURA, 2001).

A técnica do controle biológico é conhecida a cerca de 70 anos, porém somente na década de 1960 é que a teoria uniu-se à prática (PAULITZ; BELANGER, 2001). A incidência do mofo branco é favorecida pela alta densidade de plantio, períodos prolongados de precipitação, elevada umidade do ar e temperaturas amenas (PURDY, 1979; ILLIPRONTI; MACHADO, 1993). Em virtude de problemas como a falta de resistência varietal a *S. sclerotiorum* (LI; HUANG; ACHARYA; 2003), a resistência a fungicidas por populações de *S. sclerotiorum* (GOSSEN; RIMMER; HOLLEY; 2001), e o acúmulo de resíduos desses produtos no meio ambiente, especialmente em cultivos protegidos, o controle biológico se apresenta como um método alternativo para o controle do *S. sclerotiorum*.

Alguns fungos foram relatados como importantes agentes de biocontrole de *S. sclerotiorum* tais como *Coniothyrium minitans* Campbell (HUANG et al., 2000; LI; HUANG; ACHARYA; 2003), *Gliocladium roseum* Bainier (HANNUSCH; BOLAND, 1996), *Trichoderma virens* (Miller, Giddens ; Foster) von Arx (HUANG et al., 2000) *T. viride* Pers. Ex Fr. (HANNUSCH; BOLAND, 1996), *T. harzianum* Rifai (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993; MENENDEZ; GODEAS, 1998); *T. hamatum* (Bon.) Bainer (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993); *Talaromyces flavus* (Klöcker) A. C. Stock & R. A. Sansom (MELO, 1998; HUANG et al., 2000); *Ulocladium atrum* Preuss (LI; HUANG; ACHARYA; 2003) *Penicillium* spp. (RAI; SAXENA, 1975; ZAZZERINI; TOSI, 1985); *Fusarium solani* (Mart) Sacc. (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993) e *Fusarium* spp. (ZAZZERINI; TOSI, 1985).

O *Trichoderma* sp. é, sem dúvida, o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado e utilizado no Brasil e em outros países da América Latina (BETTIOL et al., 2008). A obtenção do controle biológico através da seleção e formulação de antagonistas para aplicação em campo também visa o controle do mofo branco e de outras doenças causadas por patógenos habitantes do solo. Para ocorrência da viabilidade de antagonistas ao mofo branco, a aplicação deve ser feita antes da germinação dos escleródios.

Em experimento conduzido por Menendez e Godeas (1998) observou-se que a aplicação de *Trichoderma* sp. pode reduzir em 62,5% o número de escleródios viáveis.

Junto ao *Trichoderma* sp., o *Bacillus subtilis* é um dos microrganismos mais estudados e utilizados no controle de fungos fitopatogênicos (FURLAN; VERCHIATO, 2005). O potencial antagônico de bactérias foi estudado em vários trabalhos de controle biológico de doenças em plantas (BETTIOL; KIMATI, 1990). Produtos formulados a partir de *Bacillus subtilis* são utilizados desde 1983 nos EUA para o tratamento de sementes de amendoim, aplicações foliares e no solo.

De acordo com Maffia e Mizubuti (2005), a utilização de agentes de biocontrole deve estar relacionada com o manejo integrado, para que se tenha sucesso. Os produtos comerciais à base de microrganismos antagonistas podem servir como uma ferramenta de controle de fitopatógenos, em rotação com outros fungicidas químicos em cultivos convencionais.

Dentro do controle biológico, as rizobactérias podem desempenhar papel de supressão de doenças contra microrganismos patogênicos, mediante a produção

de antibióticos, sideróforos, resistência sistêmica induzida e competição com fitopatógenos, sintetizando ou facilitando às plantas o acesso a determinados estímulos que auxiliam na melhoria da fitossanidade vegetal (CATTELAN; HARTEL, 2000).

A supressão de doenças através de agentes de biocontrole se manifesta na interação entre a planta, o patógeno, o agente de biocontrole, a comunidade microbiana sobre e ao redor da planta e o ambiente físico em questão (HANDESMAN; STABB, 1996). Segundo Baker e Cook (1974), o controle biológico deve atuar em um contexto de equilíbrio biológico, sem o qual sua chance de sucesso será menor.

1.8. Controle Genético

A ausência de cultivares de soja resistentes à *S. sclerotiorum*, tem sido causa de grandes prejuízos na produção, porém segundo Homechin (1983); Boland e Hall (1987); Silva e Machado (1989); Wegulo, Yang e Martinson (1998) e Chaves, Martinelli e Loch (1996), diferenças entre cultivares de soja quanto à reação a *S. sclerotiorum* têm sido avaliadas no campo, casa de vegetação e laboratório, sendo observadas respostas que variam de elevada resistência a completa suscetibilidade.

Plantas geneticamente resistentes dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, apresentam capacidade de atrasar ou evitar a entrada e/ou a atividade de um patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI; LEITE, 1995). Relatos de resistência em cultivares de soja, muitas vezes são devido ao escape da infecção das flores ocorrer antes da esporulação do patógeno (GRAU, 1988), ou mesmo da própria característica da planta, em que arquiteturas mais abertas reduzem o microclima e permite a circulação de ar no dossel, promovendo o rápido secamento das superfícies da folha e solo facilitando a penetração de luz reduzindo a infecção das plantas (COYNE; STEADMAN; ANDERSON; 1974).

Yang et al. (1999) verificaram que a incidência de *S. sclerotiorum* em cultivares de soja está relacionada com os grupos de maturação. Segundo os autores, cultivares de ciclo longo são mais suscetíveis, devido ao maior período de florescimento, o que causa maior predisposição das plantas à infecção pelos ascósporos.

Homechin (1983), estudou a reação de 76 cultivares de soja em campo naturalmente infestado por *S. sclerotiorum*. Nenhuma foi imune à doença, mas 13 apresentaram baixo número de plantas infectadas, denotando possível resistência. Silva e Machado (1989) testaram 20 cultivares de soja à *S. sclerotiorum* através de inoculação artificial e verificaram que nenhuma cultivar foi imune ao final de 60 horas de incubação.

Garcia e Juliatti (2012), estudaram o comportamento de 90 cultivares quanto à reação a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas e verificaram que dez comportaram-se como resistentes, sete como moderadamente resistentes, sete como moderadamente suscetíveis e 66 como suscetíveis. Entre as cultivares classificadas como resistentes, Emgopa 316, BR 16 e BRSGO Milena foram as que apresentaram menor severidade da doença.

1.9. Métodos de Inoculação

Atualmente, os métodos existentes de inoculação para o mofo branco não apresentam eficácia no sentido de se obter níveis desejáveis de infecção, pois na maioria consistem em inocular discos de ágar colonizados com *S. sclerotiorum* diretamente em partes de plantas já adultas (MACHADO et al., 2001). A inoculação de fungos em plantas, já em desenvolvimento, apresenta alguns inconvenientes devido a fatores não controlados durante o desenvolvimento das plantas (MACHADO et al., 2001). A determinação e adoção de métodos eficientes de inoculação são imprescindíveis para a identificação de potenciais fontes de resistência e tratamentos de controle (FERREIRA et al., 2013).

Segundo Pratt e Rowe (1991), o inóculo comumente é aplicado em folhagens, caules e botões florais para determinação da patogenicidade. Pode ser aplicado nos internódios de hastes ou axilas das folhas, ou sobre partes aéreas inteiras de plantas. Segundo o mesmo autor simultaneamente aos discos de ágar, no sítio de inoculação, ferimentos em plantas por picadas podem ser eficientes, promovendo maior infecção.

Lim (1991), utilizou grãos de aveia para avaliação da reação de cultivares de soja a *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, seguindo-se as modificações sugeridas por

Hartman et al. (1997) e Balardin e Rubin (1999) que utilizaram grãos de sorgo (*Sorghum bicolor*).

Para inoculação do mofo branco em soja, ascósporos e escleródios também podem ser usados como inóculo em casa de vegetação e campo (PRATT; ROWE, 1991). Após qualquer forma de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*, deve-se manter alta umidade por 24-72 horas. Partes inoculadas apresentam melhores resultados de infecção se cobertas com sacos plásticos para prevenir o secamento e preservar a umidade. Temperaturas de 20-25°C são favoráveis para inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* (PRATT; ROWE, 1991)

A cultura da folha destacada, definida como a manutenção de folhas vivas por um certo período após ter sido destacada da planta mãe (YARWOOD, 1946; TUIITE, 1969) é uma técnica que apresenta vantagens quanto à economia de espaço, de material vegetal e de inóculo; facilidade de controle e manipulação de fatores ambientais; redução na contaminação; uniformidade experimental; facilidade e exatidão nas observações, uma vez que, se pode examinar o material sob microscópio sem prejudicar a cultura; eliminação quanto à necessidade de luz quando o cultivo é feito em solução de sacarose; crescimento exuberante de alguns parasitas obrigatórios como ferrugem e oídios (YARWOOD, 1946; HOOKER; YARWOOD, 1966; TUIITE, 1969; HENESSY; SACKSTON, 1970; MIGNUCCI, 1978). Esta técnica foi inicialmente utilizada em estudos de fisiologia vegetal, como absorção de água, transpiração, respiração e fotossíntese. Após alguns anos de sua descoberta, os fitopatologistas começaram a utilizá-la para testes de inoculação e estudos de fisiologia de parasitismo (YARWOOD, 1946), sendo desenvolvida ao longo do tempo, através de diferentes métodos. Todos os métodos desenvolvidos possuem uma característica em comum, a simplicidade. Um dos métodos mais simples consiste em acondicionar as folhas em placas de Petri contendo uma camada de algodão recoberta com papel de filtro umedecido (MIGNUCCI, 1978; CENTURION; KIMATI, 1994; CENTURION et al., 1994).

Por ser simples e apresentar inúmeras vantagens, a técnica da folha destacada é empregada principalmente para estudos do desenvolvimento de parasitas obrigatórios como *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* e *Microsphaera diffusa* (BRODWER, 1964; MIGNUCCI, 1978); para estudos das relações patógeno-hospedeiro, especialmente nos casos de ferrugens (HOOKER; YARWOOD, 1966; HENESSY; SACKSTON, 1970; LUMBROSO et al., 1977); para a seleção de microrganismos

antagônicos à ferrugem do feijoeiro (CENTURION; KIMATI, 1994, CENTURION et al., 1994); e para a determinação da resistência de diferentes genótipos nas combinações trigo/*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, alfafa/*Phoma herbarum* var. *medicaginis*, amendoim/*Puccinia arachidis* (WARD, 1959; WILCOXSON; ATIF; KOWMAND, 1974; MORAES; SAVY FILHO, 1983), soja/*M. diffusa* (CENTURION et al., 2000; CENTURION et al., 2001). Mais recentemente, Franco (2004) testou a viabilidade da técnica da folha destacada para determinação da reação de genótipos de soja à podridão vermelha da raiz, e obteve resultados que evidenciaram que *F. solani* f. sp. *glycines* infecta a folha destacada enraizada inoculada pelo método do palito de dente, provocando morte do pecíolo e amarelecimento gradual da folha a partir da base. Entretanto, o método do palito de dente nem sempre permitiu a caracterização de cultivares resistentes. Segundo Franco (2004) o emprego da técnica da folha destacada poderá ser promissor nos estudos de determinação de reações de genótipos de soja a doenças com ajustes de metodologia.

Garcia e Juliatti (2012) consideram que para soja, o estágio V1 seja ideal para inoculação do patógeno, pois os tecidos são tenros, o que facilita a infecção por *S. sclerotiorum*, patógeno de crescimento rápido. No estágio R1, as plantas estão mais desenvolvidas e com tecidos mais lignificados, o que reduz a severidade de doença.

4. REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, p. 899-890, 1979.

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Source of primary inoculums and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelina sclerotiorum*, **Phytopathology**, v.65, p.300-309, 1975.

ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Lancaster. Vol. 69 (8): 896-899. 1979.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 10 out.2014.

ALMEIDA, T. S.; FONTANA, D. C.; MARTORANO, L. G.; BERGAMASCHI, H. Índices de vegetação para a cultura da soja em diferentes condições hídricas e de sistema de manejo do solo. In: **8º Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Goiânia. Anais, INPE. p.17-24, 2005.

BAKER, R.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens**, San Francisco. W. H. Freeman, 1974

BALARDIN, R.S.; RUBIN, S.A.L. Reação de germoplasma de soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Anais, **Congresso Brasileiro de Soja**, Embrapa Soja, Londrina PR. 1999. p. 461.

BARDIN, S.D.; HUANG, H.C.. **Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada**. Can. J. Plant Pathol. 23 (1): p. 88-98, 2001

BETTIOL, W; KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 25:1165-1174. 1990.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A. M. C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. In: Alves, S. B. & Lopes, R. B. (Eds) **Controle Microbiano de Pragas América Latina – Avanços e desafios**. Piracicaba. FEALQ. 2008. p. 303-331.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORREA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 17, p. 111-147, 2009.

BLACK, R. J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectivas. In: CÂMARA, G. M. S. **Soja: tecnologia da produção II**. Piracicaba: ESALQ, LPV, 2000. cap. 1, p. 1-18.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Pathol.* 16:93-108, 1994.

BOLAND, G. J.; R. HALL. 1988. Epidemiology of *Sclerotinia* stem rot in soybeans in Ontario. *Phytopathology* 78:1241-1245.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Epidemiology of white mold bean in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**. v.9, p.218-224, 1987.

BOLTON, M.D.; THOMMA, B.P.H.J.; NELSON, b.d. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v.7, n.1, p.1-16, 2006.

BROWDER, L. E. A modified detached-leaf culture technique for study of cereal rusts. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.48, p. 906 - 908. 1964.

CANTERI, M.G.; DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. **Principais doenças fúngicas do feijoeiro: orientações para manejo econômico e ecológico**. Ponta Grossa: UEPG, 1999. 178 p.

CARDOSO, J.E. **Doenças do feijoeiro causadas por patógenos de solo**. Goiânia : EMBRAPA-CNPAP, 1990. 30p. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 30).

CARVALHO, L. H.; CHIAVEGATO, E. J. Semeadura adensada incrementa produção e reduz custos. **Visão agrícola**. n. 6, p. 88-90, jul./dez. 2006.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q.; SILVA, R.A. **Manual de doenças de soja**. São Paulo: Cheminova Brasil LTDA, 2010. 57 p.

CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G. Traits associated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Tópicos em Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 213-234, jan./abr. 2000.

CENTURION, M. A. P. C.; TRABUCO, M.; FRANCO, H. J. B.; NEPOMUCENO, M.; MAURO, A. O. Di; FERREIRA, G. T. Correlação entre níveis de infecção do oídio da soja em diferentes condições. In: XXXIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2001, São Pedro. XXXIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2001. v. 26. p. 395.

CENTURION, M. A. P. C.; KIMAT, H.; PEREIRA, G. T. Mecanismos de atuação antagonistas selecionados para o controle biológico da ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli* (Reben.) Wint.) **Científica**, São Paulo, v.22, p.163-175, 1994.

CENTURION, M. A. P. C.; GONÇALVES, C P.; MAURO, A. O; PEREIRA, G. T. Reação de genótipos de soja ao oídio (*Microsphaera diffusa*) em folhas destacadas e em condições de casa de vegetação e de campo. In: XXIII Congresso Paulista de Fitopatologia., 2000, Campinas. XXIII Congresso Paulista de Fitopatologia., 2000. v. 26. p. 109-109.

CENTURION, M. A. P. C.; KIMATI, H. Seleção e identificação de microorganismos antagônicos a ferrugem do feijoeiro (*Uromyces phaseoli*). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.20, n.3/4, p.174-178, 1994.

CHAVES, G. M. **Estudo sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Experientiae***, Viçosa, v.4, n. 2, p. 69-133, 1964.

CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J.A.; LOCH, L.C.; Uso de micélio seco de *Sclerotinia sclerotiorum* como método de inoculação e avaliação da resistência de cultivares de soja. **Summa Phytopathologica** v. 22, p. 221-224, 1996.

CLARKSON, J.P.; STAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C.S.; WHIPPS, J.M. Ascospores release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, v.107, p.213-222, 2003.

CONAB. **Oitavo Levantamento da Safra de Grãos 2014/2015**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf> Acesso em: 21/05/2015.

COOK, G. E., J. R. STEADMAN; M. G. BOOSALIS. 1975. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in Western Nebraska. **Phytopathology**, 65 (3): 250-255.

COSTA, G. R.; COSTA, J. L.da S. Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Brasília. Vol. 34: 133-138. 2004.

COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: I. Manica; J. A. Costa, 1996. 233 p.

COYNE, D. P.; STEADMAN, J. R.; ANDERSON, F. N. Effect of modified plant architecture of great northern dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) on White mold severity, and components of yield. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 5, n. 4, p. 379-382, 1974.

DANIELSON, G.A.; NELSON, B.D.; HELMS, T.C. Effect of *Sclerotinia* stem rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. **Plant Disease**, v.88, p.297-300, 2004.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2014a. 240p. ; 21cm. – (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, 16).

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2014b. 262p. ; 21cm. – (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, 16).

FERREIRA, L.U.; SOUZA, T.L.P.O.; LOBO JÚNIOR, M.; PEREIRA, H.S.; MELO, L.C.; FARIA, L.C; WENDLAND, A.; RIBEIRO, V.A.; MELO; P.G.S. Avaliação de Métodos de Inoculação Artificial e Caracterização de Cultivares de Feijoeiro Comum Quanto à Reação ao Mofo Branco. In: 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2013, Uberlândia. **Anais do 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Uberlândia, MG, 2013.

FRANCO, H.B.J. *Fusarium solani* f. sp. *glycines*: crescimento , esporulação e viabilidade do emprego da técnica da folha destacada para estudos de reações em genótipos de soja. 2004. 105p. Trabalho conclusão de curso - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FURLAN, S.H. ; VECHIATO, M.H. . Efeito de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma sp.* em tratamento de sementes de feijão visando o controle de *Colletotrichum lindemuthianum*. 2005.

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 196 – 203, 2012.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade de solos a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em microcosmos e in vivo. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.3, p.318-322, 2001.

GOMES, P. **A soja**. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1990. 149 p.

GORGEN, C. A.; CIVARDI, E. A.; RAGAGNIN, V. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.45, n.10, p.1102-1108, out. 2010.

GOSSSEN, B.D.; RIMMER, S.R.; HOLLEY, J.D. First report of resistance to benomyl fungicide in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease** 85:1206. 2001. (Note).

GRAU, C. R. *Sclerotinia* stem rot of soybean. In: Soybean Diseases of the North Central Region. T. D. WYLLIE; D. H. SCOTT, **The American Phytopathological Society**, Saint Paul, p. 56-66, 1988.

GRAU,C.R.; HARTMAN, G.L. *Sclerotinia* stem rot. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. Compendium of soybean diseases. 4 ed. Saint Paul: **American Phytopathological Society**, 1999. p. 46-48.

GRAU, C.R.; RADKE, V.L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Plant Disease**, St. Paul, v.68, n.1, p.56-58, 1984. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1984Articles/PlantDisease68n01_56.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2014.

GROGAN, R.G.; ABAWI, G.S. Influence of water potencial on growth and survival of *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology** 65:122-138. 1975.

HANDESLMAN, J.; STABB, E.V. Biocontrol of soilborne plant pathogens. **The Plant Cell** 8:1855-1869, 1996.

HANNUSCH, D.J. & BOLAND, G.J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of White mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Phytopathology** 86:156-162. 1996.

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

HARTMAN, G.L.; HUANG, Y.H.; NELSON, R.L.; NOEL, G.R. Germoplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. **Plant Disease**, v.81, p.515-518, 1997.

HENNESSY, C. M.; SACKSTON, W. E. Studies on sunflower rust .5. Culture of *Puccinia helianthi* throughout its complete life cycle on detached leaves of sunflower (*Helianthus annuus*). **Canadian Journal of Botany**, v. 48, n. 10, p. 1811-1813, 1970.

HENNING, A A. **Patologia e tratamento de sementes**: Noções gerais. Londrina: Embrapa CNPSo, 2004, 51 p. (Documentos 235).

HIKISHIMA, M; GERALDINE, A. M.; LOBO Jr., M. Influência da temperatura e do período de molhamento foliar no desenvolvimento de mofo branco em feijão. In:

Workshop de epidemiologia de Doenças de Plantas, 3, 2010, Bento Gonçalves.
Anais do III Workshop de epidemiologia de Doenças de Plantas, Bento Gonçalves, RS, 2010.

HOFFMAN, D.D.; HARTMAN, G. L.; MUELLER, D. S.; LEITZ, R. A.; NICKELL, C. D.; PEDERSEN, W. L. Yield and seed quality of soybean cultivars infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 7, p. 826-829, 1998.

HOMECHIN M (1983) Reação de cultivares comerciais de soja a *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira** 8:559. (Resumo)

HOOKER, A.L.; YARWOOD, C.E. Culture of *Puccinia sorghi* on detached leaves of corn and *Oxalis corniculata*. **Phytopathology**, St. Paul, v.56, p.536-539, 1966.

HUANG, H.C., BREMER, E., HYNES, R.K.; ERICKSON, R.S. Foliar application of fungal biocontrol agents for the control of white mold by dry bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control** 18:270-276. 2000.

HUBBARD, J.C.; SUBBARAO, K.V.; KOILE, S.T. Development and significance of dicarboximide resistance in *Sclerotinia* minor isolates from commercial lettuce fields in California. **Plant Disease**. Saint Paul. Vol. 81: 148-153. 1997.

HUNTER, J.E., PEARSON, R.C., SEEM, R.C., SMITH, C.A.; ALUMBO, D.R. Relationship between soil moisture and occurrence of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mold disease on snap beans. **Protection Ecology** 7:269-280. 1984

ILLIPRONTI JR., R.A.; MACHADO, J.C. Antagonismo de fungos a *Sclerotinia sclerotiorum* em soja e feijão. **Fitopatologia Brasileira** 18:162-166. 1993.

KORA, C., MCDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. (2003). *Sclerotinia* rot of carrot. An example of phenological adaptation and bicyclic development by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, 87, 456–470.

KRUGNER, T. L.; BACHI, L. M. A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A. ; KIMATI, H. ; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. Cap.19, p. 46-95.

LI, G.Q., HUANG, H.C.; ACHARYA, S.N. Antagonism and biocontrol potential of *Ulocladium atrum* on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control** 28:11-18. 2003.

LIM, S.M. A Technique for inoculating soybeans in the greenhouse with *Fusarium solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.81, p.1238, 1991. (Abstract).

LIU, Y; PAUL, V.H. Studies on the germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Plant Diseases and Protection** v.114, p.7-9, 2007.

LU, G. Engineering *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in oilseed crops. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 2 (12), pp. 509-516. 2003.

LUMBROSO, E; ANIKSTER, Y.; MOSEMAN, J. G.; WAHL, I.. Completion life cycles on *Puccinia hodei* and *Uromyces siliarum* on detached leaves on their host. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, p.941-944, 1977.

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A; VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES, M.C. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.95-101, 2001.

MAFFIA, L. A; MIZUBUTI, E. S. G. Epidemiologia de doenças radiculares. In: MICHAREFF, Sami J; ANDRADE, Domingos e G T; MENEZES, Maria (Comp.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: UFRPE, **Imprensa Universitária**, 2005. Cap. 9, p. 207-246.

MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção "in vitro" para controle microbiológico. **Revisão Anual de patologia de Planta**, Passo Fundo, v.1, p.369-409, 1993.

MASSOLA JÚNIOR, N. S.; KRUGNER, T. L. fungos Fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Org.). **Manual de Fitopatologia** volume I – Princípios e Conceitos. 4 ed. São Paulo: Ceres, v.1. 2011. 149-206 p.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S. & Azevedo, J.L. (Eds.) **Controle biológico**. Jaguariúna. EMBRAPA. 1998. pp.17-66.

MENENDEZ, A.B.; GODEAS, A. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). **Mycopathologia** 142:153-160. 1998.

MIGNUCCI, J. S., Development of soybean leaf cultures for maintenance and study of *Microsphaera diffusa*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, n.62, p. 271-273. 1978.

MORAES, S.A.; SAVY FILHO, A. Reações de seis cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) a *Puccinia arachidis* Speg. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, 9(1/2):140-153, 1983.

MORRALL, R.A.A. A preliminary study of the influence of water potential on sclerotium germination in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Botany** 55:11. 1977.

MUELLER, D. S., DORRANCE, A. E., DERKSEN, R., OZKAN, E., GRAU, C. R., GASKA, J. M., KURLE, J. E., HARTMAN, G. L., BRADLEY, C. A.; PEDERSEN, W. L. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential control of *Sclerotinia* stem rot on soybean. **Plant Disease**. Saint Paul. Vol. 86:26-31. 2002

MUELLER, D. S., HARTMAN, G. L.; PEDERSEN, W. L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**. Saint Paul. Vol. 83:1113-1115. 1999.

MUELLER, D.S.; BRADLEY, C.A. GRAU, C.R. GASKA, J.M; HURLE, J.E. PEDERSEN, W.L. Aplication of thiophanate-methyl at different host growth stages for

management of sclerotinia stem rot in soybean. **Crop protection**. Guildford. Vol. 23, 983-988. 2004.

NAPOLEÃO, R.; CAFÉ FILHO, A.C.; NASSER, L.C.; LOPES, C.A.; SILVA, H.R.L. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.374-379, 2006.

PASCHOLATI, S.F; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de Resistência. In: BERGAMIN FILHO, A. ; KIMATI, H. ; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, cap.22:p. 417-452. 1995.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R.F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M.A.B.; CARNEIRO, J.E.S. Mofo branco. In: PRIA, M.D.; SILVA, O.C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. Cap. 6 e 7.

PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R.R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 103-133, 2001.

PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, Annapolis, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012.

PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Differential responses of alfalfa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 188-191, 1991.

PURDY, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology** 69: 875-880. 1979.

RAI, J.N.; SAXENA, V.C. Sclerotial mycoflora and its role in natural biological control of white rot disease. **Plant and soil** 43:509-513. 1975.

ROESSING, A. C.; GUEDES, L. C. Aspectos econômicos do complexo soja: sua participação na economia brasileira e evolução na região do Brasil Central. In: ARANTES, N.E., SOUZA, P.T.M. (Ed). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafós, 1993. p.1-69.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. de C.; BARROS, H. B. Origem, evolução e importância econômica. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenaz, 2009.

SILVA S. M; MACHADO J. C. Metodologia de inoculação e comportamento de alguns cultivares de soja (*Glycine max* L.), em relação a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **FITOPATOLOGIA BRASILEIRA**, 1989. Resumos... ref. 14-118., 1989.

SIVAN, A.; CHET, I. **Environmental Microbiology: Microbial control of plant diseases**. Editor Wiley-Liss; New York, NY. p. 335-354, 1992

SUN, P.; YANG, X.B. Light, temperature, and moisture effects on apothecium production of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.84, p.1287-1293, 2000.

TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria**. Minneapolis: Burgess. 239p., 1969.

VIEIRA, R.F.; SUMNER, D.R. Application of fungicides to foliage through overhead sprinkler irrigation - a review. **Pesticide Science** 55:412-422. 1999.

VINCENT C, HALLMAN G, PANNETON B, FLEURAT-LESSARD F. 2003. Management of agricultural insects with physical control methods. **Annu. Rev. Entomol.** 48: 261-281.

WARD, C. H. The detached-leaf technique for testing alfafa clones for resistance to blach stem. **Phytopathology**, St. Paul, v.49, p. 690-696, 1959.

WEGULO, S. N.; YANG, X. B.; MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, p. 1264-1270, 1998.

WEISS; A.; KERR, E. D.; STEADMAN, J. R. Temperature and moisture influences on development of white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) on Great Northern beans. **Plant Disease**, v. 64, p. 757-759, 1980.

WILCOXSON, R. D.; ATIF, A. H.; KOWMAND, B. Slow rusting of weath in the field correlated with stem rust severity on detached leaves in the greenhouse. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.58, p.1085-1087, 1974.

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, p.1144-1152, 2008.

YAMASHITA, I.; K. IINO; S. YOSHIKAWA. Alcohol dehydrogenase from strawberry seeds. **Agr. Biol. Chem.** 42: p. 1125- 1132. 1978.

YANG, X.B.; LUNDEEN, P.; UPHOFF, D.; Soybean varietal response and Yield loss caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.83, p.456-461, 1999.

YARWOOD, C.E. Detached leaf culture. **The Botanical Review** 5:1-56. 1946

ZAZZERINI, A.; TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**. v. 34. p. 415-421. 1985.

CAPÍTULO 2- METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO EM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA

RESUMO - O acréscimo do número de doenças na cultura da soja têm acarretado perdas significativas na produção, destacando-se o mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, como uma das mais graves. A capacidade em produzir estruturas que garantem a sobrevivência do patógeno no solo, ausência de resistência varietal e a inviabilidade do uso de fungicidas devido a diversos fatores, dificultam o controle da doença. A preocupação com a sustentabilidade ambiental faz do controle biológico um método alternativo e seguro. Além de que, na literatura os métodos de inoculação reportados para o mofo branco não apresentam eficácia em se obter níveis desejáveis de infecção. O presente trabalho objetivou avaliar metodologias de inoculação artificial em folhas destacadas de soja, reação de cultivares, bem como, a efetividade de produtos químicos e biológicos no controle da doença. As avaliações foram efetuadas através de escalas de notas dos sintomas foliares e contagem de escleródios. O método de inoculação artificial dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno destacou-se pela maior reprodução dos sintomas foliares. Dentre as cultivares testadas a SYN 1157 RR e Emgopa 316 retardaram os sintomas da doença. O produto químico tiofanato metílico, reduziu os sintomas foliares além de inibir a formação de escleródios.

Palavras-chave: controle biológico; controle químico; *Glycine max* (L.) Merrill; cultivares.

1. INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é uma das mais importantes commodities, sendo o Brasil um dos maiores produtores do grão. A expectativa de produção na temporada 2014/15 está estimada em 95,070 milhões de toneladas (CONAB, 2015). O aumento de doenças na cultura da soja é um dos fatores que limitam a produtividade. Em algumas situações, as perdas podem se aproximar dos 100%, como é o caso do mofo branco (EMBRAPA, 2014). Causada pelo fungo *Sclerotinia*

sclerotiorum (Lib.) de Bary, o mofo branco tem se tornado uma doença importante para a cultura da soja em muitas regiões brasileiras.

Os sintomas típicos de mofo branco na soja iniciam-se a partir de lesões aquosas nos tecidos com abundante crescimento de micélios, apodrecendo logo adiante. Nessa fase, ocorre a formação dos escleródios no interior das hastes laterais, vagens e folhas, ou mesmo a haste principal, causando a morte da planta (GRAU; RADKE, 1984). Os escleródios são estruturas de resistência às condições adversas e na degradação microbiana (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Não há registro de cultivares de soja resistentes a *S. sclerotiorum*, porém segundo Wegulo, Yang e Martinson (1998), diferenças quanto à reação a *S. sclerotiorum* têm sido avaliadas em condições de campo, casa de vegetação e laboratório. Uma alternativa utilizada para o controle da doença é a aplicação do fungicida via água de irrigação por aspersão. Carvalho e Chiavegato (2006) relataram que o controle químico deve ser utilizado de forma preventiva. Todavia o alto custo com aplicações e as dificuldades na obtenção de uma cobertura total durante a pulverização dos fungicidas torna o controle químico muitas vezes inviável. Por outro lado, o controle biológico vem revolucionando o manejo fitossanitário na agricultura (BETTIOL; GHINI, 2003). Frente a isso, produtos comerciais à base de microrganismos antagonistas, tornam-se uma ferramenta segura de controle de fitopatógenos, em rotação com outros fungicidas químicos em cultivos convencionais.

Atualmente, na literatura, os métodos de inoculação artificial reportados para *S. sclerotiorum* não apresentam eficácia no sentido de se obter níveis desejáveis de infecção (MACHADO et al., 2001). A determinação e adoção de métodos eficientes de inoculação são imprescindíveis para a identificação de potenciais fontes de resistência e métodos de controle (FERREIRA et al., 2013). O estudo de antagonistas à *S. sclerotiorum* através da técnica da folha destacada é prático e vantajoso, pois economiza espaço, material vegetal e inóculo além do maior controle e manipulação dos fatores ambientais durante o experimento (TUIITE, 1969).

Diante da importância da cultura e da doença, objetivou-se inicialmente escolher dentre algumas metodologias de inoculação artificial do patógeno em folhas destacadas de soja a mais promissora, para utilização em experimentos de reação de cultivares e efetividade de produtos químicos e biológicos no controle da doença.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos durante o outono/inverno de 2013 e 2014 e, primavera/verão de 2013/14 e 2014/15 em laboratório pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal/SP, UNESP. Foram instalados experimentos com folhas destacadas de soja, desenvolvidos em três etapas, sendo: Etapa 1 = Metodologias de inoculação artificial de *S. sclerotiorum*, Etapa 2 = Reação de cultivares à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* e Etapa 3 = Controle de *S. sclerotiorum*. Ressalta-se, que cada etapa envolveu dois experimentos referentes às épocas.

2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Para o cultivo de *S. sclerotiorum* foram utilizadas placas de Petri contendo o meio de cultura BDA - batata, dextrose e ágar. Dois isolados de *S. sclerotiorum* foram testados, sendo o primeiro isolado de plantas infectadas de tomateiro e o segundo de soja. Os mesmos foram mantidos através de sucessivas repicagens e também pela germinação de escleródios em placas de Petri em BDA. As placas de Petri contendo o fungo foram incubadas em câmara de germinação com temperatura ajustada para $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica até a formação de escleródios.

A cultivar de soja AS38 IPRO foi utilizada para compor esta etapa devido a melhor qualidade fisiológica e maior porcentagem de plântulas normais obtida nos testes de germinação e de emergência de plântulas em areia em relação as demais cultivares testadas.

As plantas foram coletadas no final da tarde (TUIITE, 1969), de 9 a 12 dias após a semeadura em vasos em casa de vegetação, estágio de desenvolvimento V1 (FEHR; CAVINESS, 1977). Em laboratório, as folhas foram destacadas da planta cortando-se o pecíolo imerso em água destilada com uma tesoura desinfestada, próximo à inserção com o caulículo. Em seguida, o pecíolo foi envolvido em algodão embebido com água destilada. Assim, as folhas preparadas foram colocadas em placas de Petri com diâmetro de 90 mm, contendo uma fina camada de algodão

recoberta com papel de filtro previamente umedecido com cerca de 20 mL de água destilada/placa. Foi colocada uma lâmina de vidro de microscopia sobre o papel de filtro com o intuito de evitar o contato direto do limbo foliar com a superfície úmida do papel de filtro. Antes de fechar a placa de Petri, um filme de plástico transparente foi utilizado sob a tampa para assegurar que a umidade relativa no seu interior se mantivesse alta. Após o preparo, as placas foram mantidas em câmara de germinação com temperatura ajustada para 28°C até as folhas enraizarem. Assim, foi efetuada artificialmente a inoculação dos dois isolados (isolado de plantas de tomateiro e isolado de plantas de soja) através de três métodos de inoculação propostos e descritos a seguir: método de grãos de sorgo colonizados com o patógeno: este método foi proposto por Balardin e Rubin (1999). Na inoculação foram utilizados dois grãos de sorgo, colocados em posição oposta, encostados à região do pecíolo das folhas destacadas com o auxílio de uma pinça; método do disco de colônia sobre a folha: dois discos de colônia de *S. sclerotiorum* com tamanho padronizado (0,5 cm de diâmetro) foram cortados e colocados sobre o limbo foliar das folhas destacadas e método do escleródio sobre a folha: dois escleródios de *S. sclerotiorum* foram colocados sobre o limbo foliar das folhas destacadas. Com relação às testemunhas foram utilizados grãos de sorgo e discos de meio de cultura sem a presença do patógeno, já para o método dos escleródios foi utilizada apenas a folha destacada para o estudo.

Após a inoculação, as folhas destacadas foram incubadas em temperatura ambiente e em câmara de germinação com temperaturas ajustadas para 22 °C e 28 °C e fotoperíodo de 12 horas .

As avaliações do nível de infecção do mofo branco em folhas destacadas foram feitas semanalmente após a inoculação das folhas destacadas, utilizando-se a escala de notas de 0 a 4, proposta por Garcia e Juliatti (2012) para avaliação de sintomas de *S. sclerotiorum*, em que: 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI.

2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

De posse dos melhores resultados quanto ao isolado, bem como, a metodologia de inoculação mais eficaz para a reprodução dos sintomas da doença foi conduzida a etapa 2 que consistiu na reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Para isso, foram utilizadas dez cultivares comerciais de soja com disponibilidade de sementes sendo: M 8330 IPRO, AS 38 IPRO, NS 7300 IPRO, SYN 1157 RR, SYN7059 RR, SYN 1163 RR, BMX Potência RR, BMX Pampa RR, TMG 1182 RR e Emgopa 316. A metodologia utilizada para os experimentos foram semelhantes a já descrita na etapa 1, acrescentando avaliações quanto ao número de escleródios.

2.3. Etapa 3. Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*

Com base nos resultados obtidos na etapa 2 referente ao estudo de reação de cultivares foram selecionados dois cultivares pelo padrão de resistência e suscetibilidade aos sintomas da doença.

Para o controle, além da testemunha foram utilizados cinco produtos: Trichodermil, à base de *Trichoderma harzianum*, cedido pela empresa Koppert; Ecotrich, à base de *T. harzianum*, cedido pela empresa Ballagro; Produto em fase de teste à base de Metabólitos de *T. harzianum*; Nemix, à base de *Bacillus subtilis*, cedido pela empresa FMC agrícola e o Cercobin (tiofanato metílico), fungicida do grupo dos Benzimidazois, cedido pela empresa Ihara. Todos os produtos foram utilizados nas concentrações recomendadas pelos fabricantes. As folhas destacadas de soja foram pulverizadas na face abaxial com o auxílio de um borrifador de água até o ponto de escorrimento em dois períodos diferentes, antes e depois da inoculação artificial do patógeno. Já, a testemunha constou apenas de água destilada e esterilizada. A metodologia dos experimentos de controle à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* foi a mesma já descrita para etapas 1 e 2.

Nas três etapas, os experimentos foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições para a etapa 1 e quatro repetições para as etapas 2 e 3. Cada repetição constou de uma placa de petri com as folhas destacadas. Os dados referentes aos níveis de infecção e número de escleródios foram transformados em raiz de $x + 0,5$ e submetidos à análise de variância pelo teste F e em seguida as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de

probabilidade seguindo-se o esquema fatorial por meio dos softwares AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2011) e SAS (SAS INSTITUTE, 2002).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 estão discriminados os resultados referentes a etapa 1. Nota-se que no outono/inverno de 2013, não foram observadas diferenças estatísticas significativas no nível de infecção nas três temperaturas testadas.

Tabela 1. Nível de infecção⁽¹⁾ de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* obtidos em folhas destacadas de soja AS 38 IPRO inoculadas por diferentes métodos e incubadas em três temperaturas nos experimentos realizados no outono/inverno de 2013

Tratamentos	Avaliações no Outono/Inverno de 2013			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(T) Temperaturas⁽³⁾				
Ambiente	0,88 a ⁽²⁾	1,02 a	1,06 a	1,11 a
22°C	0,77 a	0,84 a	1,00 a	1,04 a
28°C	0,80 a	0,93 a	0,95 a	1,04 a
F (T)	0,97 ns	1,53 ns	0,77 ns	0,05 ns
(I) Isolados⁽⁴⁾				
Tomate	1,15 a	1,31 a	1,48 a	1,53 a
Soja	1,31 a	1,48 a	1,53 a	1,66 a
Testemunha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
F (I)	106,53**	109,37**	148,22**	180,68**
(M) Métodos⁽⁵⁾				
Grãos de sorgo	2,22 a	2,45 a	2,60 a	2,64 a
Discos	0,15 b	0,15 b	0,26 b	0,40 b
Escleródios	0,08 b	0,15 b	0,15 b	0,15 c
F (M)	278,88**	278,48**	325,82**	331,02**
Teste F (TxI)	3,03*	2,48*	3,38*	1,81 ns
Teste F (TxM)	0,73 ns	1,66 ns	2,84*	4,52**
Teste F (IxM)	71,58**	71,59**	85,73**	84,11**
Teste F (TxIxM)	0,96 ns	1,30 ns	1,60 ns	3,64**
CV (%)	17,38	18,25	16,50	15,67

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. ⁽²⁾ Médias de 5 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Já, na primavera/verão de 2013/2014 (Tabela 2) houve diferenças apenas na primeira avaliação, em que as maiores médias de infecção foliar foram verificadas em temperaturas ambiente e de 22°C, corroborando com os resultados de Vuong et al. (2004), que observaram maior desenvolvimento do patógeno entre as temperaturas 20 a 25°C e supressão em temperaturas próximas a 30°C. Segundo Martins (1988), a faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento do fungo está entre 15 e 20 °C.

Tabela 2. Nível de infecção⁽¹⁾ de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* obtidos em folhas destacadas de soja AS 38 IPRO inoculadas por diferentes métodos e incubadas em três temperaturas nos experimentos realizados na primavera/verão de 2013/14.

Tratamentos	Avaliações na Primavera/Verão de 2013/14			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(T) Temperaturas⁽³⁾				
Ambiente	0,71 a	1,08 a	1,22 a	1,35 a
22°C	0,84 a	0,84 a	1,00 a	1,04 a
28°C	0,53 b	0,93 a	0,97 a	1,04 a
F (T)	5,07 **	2,42 ns	1,87 ns	1,94 ns
(I) Isolados⁽⁴⁾				
Tomate	0,77 b	1,35 a	1,57 a	1,68 a
Soja	1,31 a	1,51 a	1,62 a	1,75 a
Testemunha	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
F (I)	67,68**	99,12**	105,90**	103,45**
(M) Métodos⁽⁵⁾				
Grãos de sorgo	1,77 a	2,51 a	2,62 a	2,64 a
Discos	0,15 b	0,20 b	0,40 b	0,62 b
Escleródios	0,15 b	0,15 b	0,17 c	0,17 c
F (M)	130,33**	241,67**	199,53**	156,64**
Teste F (TxI)	12,73**	2,16 ns	2,07 ns	1,09 ns
Teste F (TxM)	7,54**	1,17 ns	1,18 ns	0,76 ns
Teste F (IxM)	38,52**	62,10**	52,84**	40,56**
Teste F (TxIxM)	7,74**	1,09 ns	1,41 ns	2,46*
CV (%)	20,86	19,43	20,22	21,51

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. ⁽²⁾ Médias de 5 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em relação aos isolados testados no outono/inverno de 2013, também não foram detectadas diferenças em severidade para os sintomas foliares entre as cepas de *Sclerotinia*, exceto do tratamento testemunha (Tabela 1). Na primavera/verão de 2013/2014, com exceção da primeira avaliação que o isolado de soja apresentou a maior patogenicidade, nas demais avaliações não foram observadas diferenças estatísticas entre os isolados (Tabela 2). A patogenicidade semelhante entre os isolados é devido à falta de especificidade de *S. sclerotiorum*, pois sintetizam grande variedade de enzimas que degradam paredes celulares das células hospedeiras (RIOU; FREYSSINET; FEVRE; 1991). Em estudo comparando-se a patogenicidade de 14 isolados de *S. sclerotiorum* em 11 hospedeiros diferentes, Price e Calhoun (1975) verificaram que houve variação no grau de patogenicidade. Sagata (2010), estudou a inoculação de sete isolados de *S. sclerotiorum* em 18 cultivares de soja em folha destacada e observou que o isolado proveniente da cultura do girassol promoveu severidades maiores que 50 %, tornando todas as cultivares suscetíveis.

Em todas as avaliações, tanto no experimento de outono/inverno de 2013, bem como, na primavera/verão de 2013/2014, a inoculação pelo método dos grãos de sorgo colonizados pelo patógeno apresentou os melhores resultados quanto ao nível de infecção, sendo portanto nas condições do presente trabalho, o método

mais efetivo na reprodução dos sintomas do mofo branco (Tabela 1 e 2). De acordo com Wegulo, Yang e Martinson (1998), a uniformidade do tamanho da folha, local e umidade adequada durante a inoculação são fatores importantes para o sucesso do método das folhas destacadas. Chaves (1995) concluiu que o estágio V1 é indicado para a avaliação de variedades de soja quanto à resistência a *S. sclerotiorum*, pois os tecidos estão tenros, o que facilita a infecção. Além disso, pesquisas indicam que a lignina, presente nos tecidos vegetais são de extrema importância para a resistência à *Sclerotinia*, como na taxa de crescimento do fungo, patogenicidade, etc (MAXWELL; LUMSDEN, 1970).

O fato do método dos grãos de sorgo colonizados ter se apresentado como o mais eficaz no desenvolvimento dos sintomas foliares de mofo branco pode ser explicado devido à própria relação carbono/nitrogênio do grão de sorgo em relação aos outros métodos. Diferentes espécies de *Sclerotinia* utilizam muitos compostos orgânicos, incluindo açúcares e ácidos orgânicos, para crescimento e produção de escleródios (LETORNEAU, 1979).

Em ambas as épocas, pode-se observar que houve diferenças estatísticas significativas entre os fatores em pelo menos uma das avaliações. Na Tabela 3, na quarta avaliação do teste de outono/inverno de 2013, em desdobramento significativo entre temperaturas e métodos de inoculação, pode-se observar em geral que a inoculação com grãos de sorgo colonizados com o patógeno apresentou maior eficiência em relação aos outros métodos quanto a reprodução dos sintomas, principalmente na temperatura de 22°C.

Mesmo em temperatura mais alta, de 28°C, foi observado desenvolvimento dos sintomas o que contraria Geraldine, Lobo Junior e Hikishima (2010), que afirmaram que sob as condições de temperaturas próximas de 30°C, ou superiores, o desenvolvimento do fungo é cessado e lesões não desenvolvem.

Para ambas as épocas na interação dos isolados e métodos de inoculação, o isolado proveniente da cultura da soja apresentou maior média em nível de infecção foliar no método dos escleródios sobre a folha, já para os outros métodos os isolados de soja e tomate não diferiram significativamente (Tabelas 4 e 5).

Tabela 3. Desdobramento significativo de temperaturas vs métodos de inoculação na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2013.

Tratamentos	(M) Métodos			F
	Grãos de sorgo	Discos	Escleródios	
(T) Temperaturas				
Ambiente	1,61 Aa	0,81 Ba	0,87 Ba	94,13**
22°C	1,64 Aa	0,81 Ba	0,70 Bb	126,01**
28°C	1,63 Aa	0,91 Ba	0,70 Cb	111,37**
F	0,13 ns	1,68 ns	4,64*	

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. ⁽²⁾ Médias de 5 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Tabela 4. Desdobramento significativo de isolados vs métodos de inoculação na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2013.

Tratamentos	(M) Métodos			F
	Grãos de sorgo	Discos	Escleródios	
(I) Isolados				
Tomate	2,12 Aa	1,01 Ba	0,70 Cb	274,99**
Soja	2,10 Aa	1,01 Ba	0,87 Ba	224,25**
Testemunha	0,70 Ab	0,70 Ab	0,70 Ab	0,00 ns
F	328,00**	16,01**	4,90**	

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. ⁽²⁾ Médias de 5 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Tabela 5. Desdobramento significativo de isolados vs métodos de inoculação na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2013/2014.

Tratamentos	(M) Métodos			F
	Grãos de sorgo	Discos	Escleródios	
(I) Isolados				
Tomate	2,12 Aa	1,17 Ba	0,70 Ca	130,66**
Soja	2,10 Aa	1,07 Ba	0,89 Ba	107,09**
Testemunha	0,70 Ab	0,70 Ab	0,70 Ab	0,00 ns
F	166,05**	15,54**	2,99 ns	

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. ⁽²⁾ Médias de 5 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Nas Tabelas 6 e 7, estão discriminados os resultados dos experimentos da etapa 2 de estudo de reação de cultivares em folhas destacadas (primavera/verão de 2013/14 e outono/inverno de 2014). Nota-se que nas duas épocas o isolado de *S. sclerotiorum* extraído de plantas de soja apresentou-se como o mais patogênico pelas maiores médias de nível de infecção e número de escleródios. Apenas na terceira avaliação de número de escleródios na primavera/verão de 2013/2014 não foram detectadas diferenças estatísticas entre os isolados, exceto da testemunha. Mesmo havendo diferenças de patogenicidade entre isolados do patógeno, a *S.*

sclerotiorum não apresenta especificidade e por isso possui ampla gama de hospedeiros (BEDENDO, 1995). Quanto as temperaturas, no experimento conduzido na primavera/verão de 2013/2014 (Tabela 6), apenas na primeira avaliação detectaram-se diferenças estatísticas significativas, sendo, atribuído a temperatura ambiente a maior severidade dos sintomas foliares. Entretanto, no outono/inverno de 2014 as temperaturas: ambiente e 22°C não diferiram estatisticamente entre si, e sobressaíram-se da de 28°C em relação ao desenvolvimento dos sintomas (Tabelas 7).

Tabela 6. Nível de infecção e número de escleródios obtidos nos experimentos de reação de cultivares à inoculação pelo método de grãos de sorgo colonizados por *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas, na primavera/verão de 2013/14.

Tratamentos	Avaliações na Primavera/Verão de 2013/14							
	Nível de infecção ⁽¹⁾				Número de Escleródios ⁽²⁾			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(I) Isolados⁽³⁾								
Tomate	3,58 b	3,80 b	3,93 b	3,97 b	0,00 b	0,05 b	0,12 a	0,13 ab
Soja	3,89 a	3,93 a	3,99 a	4,00 a	0,08 a	0,15 a	0,18 a	0,24 a
Testemunha	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
F(I)	87,76**	15,79**	42,09**	19,05**	4,52*	6,98**	7,13**	6,57**
(T) Temperaturas⁽⁴⁾								
Ambiente	2,55 a	2,60 a	2,63 a	2,65 a	0,09 a	0,20 a	0,30 a	0,36 a
22°C	2,50 ab	2,60 a	2,63 a	2,65 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
28°C	2,41 b	2,53 a	2,65 a	2,66 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
F(T)	4,25*	2,76 ns	0,93 ns	1,29 ns	6,28**	12,90**	23,57**	21,18**
(C) Cultivares⁽⁵⁾								
M 8330 IPRO	2,50abc	2,52 ab	2,66 a	2,66 a	0,11 a	0,16 a	0,16 ab	0,16 a
AS 38 IPRO	2,63 ab	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,02 a	0,05 a	0,13 ab	0,13 a
NS 7300 IPRO	2,66 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,02 a	0,08 a	0,08 ab	0,08 a
SYN 1157 RR	2,19 d	2,41 b	2,61 b	2,66 a	0,00 a	0,05 a	0,05 ab	0,05 a
SYN 7059 RR	2,33 cd	2,52 ab	2,63 ab	2,66 a	0,00 a	0,00 a	0,00 b	0,00 a
SYN 1163 RR	2,52abc	2,61 ab	2,66 a	2,66 a	0,00 a	0,08 a	0,83 a	0,30 a
BMX Potência RR	2,38bcd	2,47 ab	2,63 ab	2,66 a	0,05 a	0,05 a	0,05 ab	0,25 a
BMX Pampa RR	2,55abc	2,63 a	2,63 ab	2,66 a	0,05 a	0,05 a	0,08 ab	0,08 a
TMG 1182 RR	2,50abc	2,61 ab	2,66 a	2,66 a	0,02 a	0,11 a	0,11 ab	0,11 a
Emgopa 316	2,61 ab	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,00 a	0,02 a	0,05 ab	0,05 a
F(C)	6,49**	3,87**	2,54**	1,95*	0,75 ns	0,53 ns	1,56 ns	1,32 ns
Teste F (IxT)	4,23**	2,32 ns	2,09 ns	1,29 ns	4,52**	5,72**	6,26**	5,83**
Teste F (IxC)	3,09**	2,34**	1,51 ns	1,95*	0,44 ns	0,66 ns	0,82 ns	0,87 ns
Teste F (TxC)	4,25**	2,39**	2,04**	2,24**	0,75 ns	0,54 ns	1,65*	1,41 ns
Teste F (IxTxC)	2,97**	2,51**	2,56**	2,24**	0,44 ns	0,74 ns	0,87 ns	0,93 ns
CV (%)	5,69	4,32	2,63	1,22	14,53	20,60	22,63	26,74

Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Nas duas épocas, em temperatura ambiente verificou-se também as maiores médias para o número de escleródios. Fatores como luz, temperatura, pH do meio, composição da atmosfera e potencial osmótico também podem interferir na formação de escleródios, bem como a relação carbono/nitrogênio (LETORNEAU, 1979).

Além disso, Katan e DeVay (1991), observaram em seus estudos que temperaturas acima de 37°C, por duas a quatro semanas, podem causar rachaduras nos escleródios, ocasionando a liberação de compostos ricos em carbono, que podem aumentar a colonização por outros microrganismos.

Tabela 7. Nível de infecção e número de escleródios obtidos nos experimentos de reação de cultivares à inoculação pelo método de grãos de sorgo colonizados por *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas, no outono/inverno de 2013.

Tratamentos	Avaliações no Outono/Inverno de 2014							
	Nível de infecção ⁽¹⁾				Número de Escleródios ⁽²⁾			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(I) Isolados⁽³⁾								
Tomate	3,66 b	3,84 b	3,86 b	3,93 b	0,05 b	0,26 b	0,36 b	0,50 b
Soja	3,98 a	4,00 a	4,00 a	4,00 a	0,20 a	0,50 a	0,66 a	0,73 a
Testemunha	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c
F(I)	13,32**	24,26**	27,50**	30,85**	17,40**	19,47**	29,20**	31,01**
(T) Temperaturas⁽⁴⁾								
Ambiente	2,64 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,18 a	0,68 a	0,84 a	1,00 a
22°C	2,60 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,03 b	0,05 b	0,06 b	0,06 b
28°C	2,40 b	2,50 b	2,53 b	0,00 b	0,05 b	0,03 b	0,12 b	0,15 b
F(T)	24,14**	22,70**	17,69**	4,99**	9,82**	40,79**	42,34**	51,57**
(C) Cultivares⁽⁵⁾								
M 8330 IPRO	2,58 ab	2,63 a	2,63 a	2,66 a	0,11 a	0,33 a	0,44 ab	0,47 a
AS 38 IPRO	2,55 ab	2,63 a	2,66 a	2,66 a	0,05 a	0,16 a	0,19 ab	0,22 a
NS 7300 IPRO	2,63 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,00 a	0,38 a	0,52 ab	0,61 a
SYN 1157 RR	2,50 ab	2,52 ab	2,55 ab	2,61 a	0,05 a	0,30 a	0,36 ab	0,41 a
SYN 7059 RR	2,47 ab	2,58 ab	2,59 ab	2,66 a	0,13 a	0,30 a	0,61 a	0,77 a
SYN 1163 RR	2,50 ab	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,00 a	0,05 a	0,08 b	0,16 a
BMX Potência RR	2,66 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,05 a	0,13 a	0,16 ab	0,19 a
BMX Pampa RR	2,66 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	0,08 a	0,33 a	0,41 ab	0,41 a
TMG 1182 RR	2,52 ab	2,61 ab	2,61 ab	2,66 a	0,11 a	0,30 a	0,33 ab	0,38 a
Emgopa 316	2,38 b	2,47 b	2,47 b	2,61 a	0,19 a	0,27 a	0,33 ab	0,44 a
F(C)	3,95**	3,88**	3,83**	1,48 ns	1,17 ns	1,22 ns	1,80 ns	1,67 ns
Teste F (I x T)	26,53**	22,70**	17,69**	4,99**	4,65**	12,23**	11,20**	13,51**
Teste F (I x C)	3,97**	3,88**	3,83**	1,48 ns	1,19 ns	0,67 ns	0,72 ns	0,83 ns
Teste F (T x C)	4,99**	3,88**	3,83**	1,48 ns	2,30**	1,10 ns	1,67*	1,94*
Teste F (I x T x C)	4,47**	3,88**	3,83**	1,48*	1,75**	0,59 ns	1,01 ns	1,09 ns
CV (%)	4,64	3,42	3,26	3,08	18,37	31,89	33,55	34,67

⁽¹⁾Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Considerando as cultivares, na primavera/verão de 2013/14, houve diferenças significativas nas três primeiras avaliações, sendo que a SYN 1157 RR, dentre as cultivares testadas quanto a reação, a que mais retardou o desenvolvimento dos sintomas em área foliar. Já, as cultivares AS 38 IPRO e NS 7300 IPRO apresentaram-se como as mais suscetíveis. Porém pode-se observar que na quarta avaliação, realizada aproximadamente 30 dias após a inoculação, que todas as cultivares testadas obtiveram nota 4, na classificação proposta por Garcia e Juliatti (2012), ou seja, apresentaram mais de 50 % de AFI (Tabela 6). Segundo o contexto da fisiologia do parasitismo planta geneticamente resistente apresenta a capacidade

de atrasar ou evitar a entrada e/ou a atividade de um patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

No outono/inverno de 2014, os resultados diferiram em parte da primeira época. Verificou-se que apesar da observação de diferenças significativas nas três primeiras avaliações, a cultivar Emgopa 316 foi a que mais retardou o desenvolvimento de infecções em área foliar, não diferindo das cultivares SYN 7059 RR, TMG 1182 RR e novamente de SYN 1157 RR. Estes resultados discordam de Garcia e Juliatti (2012), que em estudo prévio de classificação de cultivares quanto a reação a *Sclerotinia sclerotiorum* verificaram suscetibilidade da cultivar Emgopa 316 em folhas destacadas. Similar à primavera/verão de 2013/14, a cultivar NS 7300 IPRO, apresentou maior severidade dos sintomas foliares, porém não diferindo estatisticamente das cultivares BMX Potência RR e BMX Pampa RR (Tabela 7). Na quarta avaliação, todas as cultivares apresentavam 100% da área foliar infectada, ou seja, (nota 4). Homechin (1983) estudou a reação de 76 cultivares de soja em campo infestado por *S. sclerotiorum*, e não detectou imunidade à doença, porém 13 cultivares apresentaram baixo número de plantas infectadas. Silva e Machado (1989) testaram 20 cultivares de soja à *S. sclerotiorum* por meio de inoculação artificial e também não verificaram imunidade das cultivares ao final de 60 horas de incubação. Entretanto, as cultivares Numbaíra e IAC-11 apresentaram boa resistência. A resistência fisiológica na soja para *S. sclerotiorum* é identificada por lesões de coloração marrom-avermelhadas limitadas ao sítio da inoculação e pode ser observada em experimentos de casa de vegetação e laboratório. (PENNYPACKER; HATLEY, 1995). Contudo, segundo Nelson, Helms e Kural (1991), em campo, a resistência de cultivares é erroneamente classificada devido à propensão das plantas em escapar da infecção. Em cultivares de ciclos mais precoces ocorre o escape da infecção das flores antes da esporulação do patógeno reduzindo a doença em incidência e severidade.

Em relação a avaliação do número de escleródios, para as cultivares de soja, foram detectadas diferenças estatísticas apenas na terceira avaliação com resultados inversos das cultivares nas duas épocas. As cultivares SYN 7059 RR e SYN 1163 RR apresentaram, respectivamente, a menor e a maior média em número de escleródios na primavera/verão de 2013/14 e o inverso, ou seja, maior e menor média no outono/inverno de 2014 (Tabelas 6 e 7). Segundo Wegulo et al. (1998), as razões para as variações no ranking das cultivares entre diferentes métodos de

avaliação no campo e ambientes controlados, em parte, são devidos às diferenças nas reações de defesa entre as cultivares.

Em algumas cultivares pode ocorrer variações quanto as estratégias de defesa, dependendo das condições ambientais ou o método de avaliação da resistência empregada e até mesmo a duração do período de florescimento.

Na Tabela 8, em experimento da Etapa 2 conduzido na primavera/verão de 2013/14, no desdobramento entre os isolados e as cultivares da quarta avaliação, detectou-se que os isolados não diferiram quanto à patogenicidade para a maioria das cultivares.

Para a mesma época, para o desdobramento entre as temperaturas e cultivares, em geral, independente da temperatura, em geral as cultivares apresentaram alta suscetibilidade à doença (Tabela 9).

No outono/inverno de 2014, na interação dos isolados e temperaturas pode-se verificar que em 22°C o isolado proveniente da cultura da soja apresentou maior patogenicidade em relação ao isolado de tomateiro (Tabela 10).

Tabela 8. Desdobramento significativo de isolados vs cultivares na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2013/2014.

Tratamentos	(I) Isolados			F
	Tomate	Soja	Testemunha	
(C) Cultivares				
M 8330 IPRO	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
AS 38 IPRO	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
NS 7300 IPRO	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
SYN 1157 RR	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
SYN 7059 RR	2,10 ABb	2,12 Aa	0,70 Ca	19385**
SYN 1163 RR	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
BMX Potência RR	2,07 Bb	2,12 Aa	0,70 Ca	19107**
BMX Pampa RR	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
TMG 1182 RR	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
Emgopa 316	2,12 Aa	2,12 Aa	0,70 Ba	19671**
F	5,86**	0,00 ns	0,00 ns	

Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Nas interações significativas envolvendo as avaliações do número de escleródios, em ambas as épocas, para a interação dos isolados e temperaturas, os isolados apresentaram maior desenvolvimento das estruturas de resistência em temperatura ambiente (Tabelas 11 e 12).

Tabela 9. Desdobramento significativo de cultivares vs temperaturas na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2013/2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(C) Cultivares				
M 8330 IPRO	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
AS 38 IPRO	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
NS 7300 IPRO	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
SYN 1157 RR	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
SYN 7059 RR	1,64 Aa	1,62 Ab	1,64 Aa	4,29*
SYN 1163 RR	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
BMX Potência RR	1,60 Bb	1,64 Aa	1,64 Aa	17,14**
BMX Pampa RR	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
TMG 1182 RR	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
Emgopa 316	1,64 Aa	1,64 Aa	1,64 Aa	0,00 ns
F	5,14 **	0,00 ns	1,29 ns	

Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ T1= Ambiente, T2= 22°C e T3= 28°C. ⁽³⁾ C1 = M 8330 IPRO, C2 = AS 38 IPRO, C3 = NS 7300 IPRO, C4 = SYN 1157 RR, C5 = SYN 7059 RR, C6 = SYN 1163 RR, C7 = BMX Potência RR, C8 = BMX Pampa RR, C9 = TMG 1182 RR e C10 = Emgopa 316. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Tabela 10. Desdobramento das interações significativas de isolados vs temperaturas na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(I) Isolados				
Tomate	2,12 Aa	2,06 Ab	2,12 Ba	14,96 **
Soja	2,12 Aa	2,12 Aa	2,12 Aa	0,00 ns
Testemunha	0,70 Ab	0,70 Ac	0,70 Ab	0,00 ns
F	10366 **	9988 **	10366 **	

Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Na época de outono/inverno, no desdobramento entre as temperaturas e cultivares, as cultivares SYN 7059 RR, BMX Pampa RR e Emgopa 316 em folhas destacadas apresentaram as maiores médias em número de escleródios (Tabela 13).

Tabela 11. Desdobramento significativo de isolados vs temperaturas na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2013/2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(I) Isolados				
Tomate	0,88 Aa	0,70 Ba	0,70 Ba	10,64**
Soja	0,97 Aa	0,70 Ba	0,72 Ba	22,20**
Testemunha	0,70 Ab	0,70 Aa	0,70 Aa	0,00 ns
F	18,17**	0,00 ns	0,05 ns	

⁽¹⁾ Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Tabela 12. Desdobramento significativo de isolados vs temperaturas na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(I) Isolados				
Tomate	1,19 Ab	0,77 Ba	0,72 Ba	29,52**
Soja	1,39 Aa	0,84 Ba	0,78 Ba	49,08**
Testemunha	0,70 Ac	0,70 Aa	0,70 Aa	0,00 ns
F	55,01**	2,17 ns	0,86 ns	

⁽¹⁾ Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ I1= Isolado de plantas de tomate, I2= Isolado de plantas de soja e I3=Testemunha. ⁽²⁾ T1= Ambiente, T2= 22°C e T3= 28°C. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 13. Desdobramento significativo de cultivares vs temperaturas na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(C) Cultivares				
M 8330 IPRO	1,12 Aab	0,82 Ba	0,70 Ba	5,96**
AS 38 IPRO	0,99 Aabc	0,70 Aa	0,70 Aa	3,57*
NS 7300 IPRO	1,12 Aab	0,70 Ba	0,94 ABa	5,78**
SYN 1157 RR	1,15 Aab	0,77 Ba	0,70 Ba	7,66**
SYN 7059 RR	1,36 Aa	0,77 Ba	0,84 Ba	13,60**
SYN 1163 RR	0,70 Ac	0,75 Aa	0,90 Aa	1,49 ns
BMX Potência RR	0,96 Abc	0,70 Aa	0,70 Aa	3,87 ns
BMX Pampa RR	1,20 Aab	0,70 Ba	0,70 Ba	10,72**
TMG 1182 RR	1,16 Aab	0,75 Ba	0,70 Ba	8,27**
Emgopa 316	1,20 Aab	0,79 Ba	0,70 Ba	9,10**
F	4,16**	1,22ns	0,17ns	

⁽¹⁾ Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Nas Tabelas 14 e 15, estão descritos os resultados referente a etapa 3 de controle em folhas destacadas. No outono/inverno de 2014, nas duas primeiras avaliações de nível de infecção a cultivar NS 7300 IPRO apresentou maior suscetibilidade ao mofo branco, ao contrário do SYN 1157 RR que apresentou menor desenvolvimento da doença (Tabela 14). Na terceira avaliação, não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre as cultivares, e já na quarta avaliação a cultivar SYN 1157 RR apresentou maior média de nível de infecção, sendo superior a NS 7300 IPRO, considerada como a mais suscetível nos testes de reação de cultivares. Em número de escleródios, ainda nesta época, na primeira avaliação a cultivar SYN 1157 RR apresentou maior média quando comparada a cultivar NS 7300 IPRO. Nas demais avaliações, as cultivares não diferiram significativamente em número de escleródios (Tabela 14).

Na primavera/verão de 2014/2015, em todas as avaliações, para o nível de infecção observou-se que a cultivar NS 7300 IPRO apresentou maior suscetibilidade à *S. sclerotiorum* que SYN 1157 RR (Tabela 15). Já em número de escleródios

apenas na primeira avaliação SYN 1157 RR apresentou maior formação de escleródios. Nas demais avaliações as cultivares não diferiram significativamente (Tabela 15). Segundo Villela et al. (2014), a suscetibilidade às doenças entre cultivares de diferentes programas de melhoramento genético pode ser explicada pelo uso de parentais restritos, estreitando a base genética e assim a variabilidade.

Em relação ao período de inoculação, nas duas épocas, o patógeno inoculado após a pulverização dos produtos, elevou a média de AFI em relação a inoculação efetuada antes da pulverização (Tabelas 14 e 15). Resultado que contradiz o de Garcia (2008), em que aplicações preventivas foram mais eficientes que as curativas. Nas avaliações do número de escleródios, a inoculação efetuada após a pulverização apresentou as maiores médias.

Tabela 14. Nível de infecção e número de escleródios obtidos nos experimentos de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de duas cultivares de soja, inoculadas pelo método de grãos de sorgo antes ou depois da pulverização, em três temperaturas, no outono/inverno de 2014.

Tratamentos	Avaliações no Outono/Inverno de 2014							
	Nível de infecção ⁽¹⁾				Número de Escleródios ⁽²⁾			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(C) Cultivares⁽³⁾								
NS 7300 IPRO	3,52 a	3,68 a	3,72 a	3,78 b	0,27 b	0,68 a	0,83 a	0,91 a
SYN 1157 RR	3,23 b	3,56 b	3,76 a	3,88 a	0,43 a	0,90 a	1,00 a	1,15 a
dms (5%)	0,09	0,11	0,08	0,07	0,15	0,23	0,23	0,26
F(C)	35,26 **	3,95 *	0,64 ns	7,75 **	4,50 *	3,58 ns	2,15 ns	3,24 ns
(I) Inoculação⁽⁴⁾								
Antes	3,32 b	3,61 a	3,66 b	3,77 b	0,34 a	0,59 b	0,69 b	0,83 b
Depois	3,43 a	3,64 a	3,82 a	3,89 a	0,36 a	1,00 a	1,14 a	1,24 a
F(I)	4,72 *	0,34 ns	13,56 **	9,96 **	0,12 ns	12,58 **	14,55 **	9,23 **
(T) Temperaturas⁽⁵⁾								
Ambiente	3,66 a	3,72 a	3,79 a	3,84 a	0,79 a	1,63 a	1,86 a	2,15 a
28°C	2,81 b	3,30 b	3,56 b	3,72 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,03 c
22°C	2,81 b	3,85 a	3,88 a	3,93 a	0,27 b	0,76 b	0,89 b	0,92 b
F(T)	139,36 **	31,73 **	19,56 **	10,37 **	34,96 **	64,74 **	82,81 **	83,46 **
(P) Produtos⁽⁶⁾								
Nemix	3,66 b	3,81 a	3,93 ab	3,97 a	0,79 a	1,68 a	2,00 a	2,08 a
Trichodermil	3,95 a	3,93 a	3,91 ab	3,93 a	0,22 c	0,29 c	0,37 c	0,43 c
Cercobin	1,62 c	2,39 b	2,93 c	3,25 b	0,06 c	0,18 c	0,18 c	0,18 c
Ecotrich	3,56 b	3,75 a	3,77 b	3,85 a	0,06 c	0,29 c	0,29 c	0,35 c
Metabólitos	3,68 b	3,87 a	3,91 ab	4,00 a	0,35 bc	1,02 b	1,00 b	1,25 b
Testemunha	3,77 ab	4,00 a	4,00 a	4,00 a	0,62 ab	1,31 ab	1,66 a	1,91 ab
F(P)	219,09 **	70,53 **	57,68 **	40,83 **	9,73 **	19,24 **	28,17 **	25,38 **
Teste F CxI	0,02 ns	0,01 ns	1,25 ns	2,79 ns	0,03 ns	0,34 ns	0,00 ns	0,02 ns
Teste F CxT	17,13 **	2,64 ns	9,71 **	18,10 **	1,50 ns	1,40 ns	1,47 ns	1,41 ns
Teste F CxP	7,52 **	3,53 **	4,39 **	3,20 **	0,75 ns	2,38 *	1,44 ns	1,61 ns
Teste F IxT	3,08 *	1,08 ns	1,56 ns	4,58 *	0,87 ns	7,77 **	7,98 **	3,44 *
Teste F IxP	2,25 *	2,41 *	0,82 ns	1,93 ns	0,20 ns	0,25 ns	0,69 ns	0,14 *
Teste F TxP	5,35 **	4,61 **	3,56 **	3,71 **	3,89 **	6,37 **	9,57 **	7,78 **
CV (%)	12,04	13,88	9,82	8,27	188,24	124,78	109,12	110,20

Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em geral, as temperaturas, ambiente e de 22°C propiciaram maior desenvolvimento do patógeno, com exceção da primeira avaliação do nível de

infecção no experimento de outono/inverno de 2014, em que a temperatura ambiente foi favorável para o desenvolvimento dos sintomas foliares (Tabelas 14 e 15). Em número de escleródios, a temperatura ambiente, propiciou ao patógeno maior formação das estruturas de resistência. De acordo com Adams e Ayers (1979) temperatura de 35 °C durante três semanas pode reduzir a viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*.

No outono/inverno de 2014 a maior eficácia de controle do patógeno foi verificada para o produto químico tiofanato metílico (Cercobin) que em todas as avaliações de área foliar infectada apresentou melhor controle no desenvolvimento dos sintomas. Os demais produtos, na segunda e quarta avaliações não diferiram estatisticamente do controle testemunha (Tabela 14).

Tabela 15. Nível de infecção e número de escleródios obtidos nos experimentos de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas de duas cultivares de soja, inoculadas pelo método de grãos de sorgo antes ou depois da pulverização, em três temperaturas, na primavera/verão de 2014/15.

Tratamentos	Avaliações na Primavera/Verão de 2014/2015							
	Nível de infecção ⁽¹⁾				Número de Escleródios ⁽²⁾			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
(C) Cultivares ⁽³⁾								
NS 7300 IPRO	3,37 a	3,93 a	3,99 a	4,00 a	0,03 b	0,73 a	0,95 a	1,06 a
SYN 1157 RR	2,85 b	3,50 b	3,65 b	3,73 b	0,11 a	0,76 a	0,95 a	0,86 a
F(C)	83,12 **	131,04**	77,45**	52,82**	3,92	0,06 ns	0,00 ns	2,67 ns
(I) Inoculação ⁽⁴⁾								
Antes	3,20 a	3,68 a	3,81 a	3,84 a	0,14 a	0,73 a	0,93 a	0,93 a
Depois	3,02 b	3,75 a	3,82 a	3,88 a	0,00 b	0,76 a	0,97 a	0,98 a
F(I)	9,23 **	3,40 ns	0,03 ns	1,31 ns	10,90	0,06 ns	0,15 ns	0,15 ns
(T) Temperaturas ⁽⁵⁾								
Ambiente	3,58 a	3,94 a	3,96 a	3,98 a	0,08ab	1,48 a	1,95 a	2,01 a
28°C	2,09 b	3,32 b	3,52 b	3,63 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c
22°C	3,66 a	3,89 a	3,97 a	3,97 a	0,14 a	0,76 b	0,90 b	0,87 b
F(T)	320,05**	113,35**	61,06**	41,08**	4,03	64,81 **	83,77 **	89,37 **
(P) Produtos ⁽⁶⁾								
Nemix	3,31 a	3,95 a	3,97 a	4,00 a	0,02 a	0,91 bc	1,37 ab	1,43 a
Trichodermil	3,29 a	3,77 b	3,93 a	4,00 a	0,02 a	0,54 bc	0,60 c	0,56 b
Cercobin	1,83 b	3,29 d	3,56 b	3,60 b	0,00 a	0,00 d	0,00 c	0,00 b
Ecotrich	3,33 a	3,58 c	3,60 b	3,70 b	0,10 a	0,43 cd	0,52 c	0,41 b
Metabólitos	3,39 a	3,72 bc	3,85 a	3,89 a	0,10 a	1,02 b	1,25 b	1,39 a
Testemunha	3,52 a	4,00 a	4,00 a	4,00 a	0,20 a	1,58 a	1,97 a	1,95 a
F(P)	81,88 **	32,04 **	16,54**	14,98**	2,33 *	17,51**	22,11**	24,53**
Teste F CxI	10,77 **	0,54 ns	0,29 ns	1,31 ns	5,34 *	0,60ns	0,15 ns	1,14 ns
Teste F CxT	71,06 **	140,55**	55,58**	41,08**	3,92 *	1,55ns	5,68**	1,72 ns
Teste F CxP	1,94 ns	15,27 **	17,83**	14,98**	0,91ns	0,97ns	0,60 ns	0,77 ns
Teste F IxT	2,67 ns	4,32 *	0,41 ns	0,10 ns	3,05 *	0,13ns	0,09 ns	0,15 ns
Teste F IxP	1,39 ns	5,61 **	0,80 ns	0,52 ns	2,79 *	1,35ns	2,22 ns	3,20 **
Teste F TxP	4,86 **	11,89 **	11,12**	10,74**	1,22ns	7,16**	8,31**	10,23**
CV (%)	15,56	8,57	8,58	7,96	467,10	120,87	109,87	108,62

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Costa e Costa (2004) concluíram, em condições controladas, que o fungicida tiofanato metílico reduziu, após 15 dias de incubação, 75% da germinação miceliogênica e não apresentou eficiência na inibição da formação de apotécios. Em relação ao controle biológico, segundo Menendez e Godeas, (1998) a aplicação de *T. harzianum* reduziu em 62,5% o número de escleródios viáveis. Na primavera/verão de 2014/2015 nas duas primeiras avaliações de área foliar infectada, o tiofanato metílico apresentou melhor controle da doença.

Já nas duas últimas avaliações, o uso dos produtos tiofanato metílico e Ecotrich resultou em menores médias de infecções foliares, resultando, portanto em melhor eficiência no controle da doença (Tabela 15).

A eficiência desses produtos, principalmente dos químicos depende de vários fatores, como a densidade de inóculo no solo, do estágio da epidemia, do grau de cobertura das plantas pelo fungicida, do número de pulverizações, da sua fungitoxidade, dose, época, volume e equipamento de aplicação, espaçamento de plantas, incidência e severidade da doença (VIEIRA, 1994).

Nas Tabelas 14 e 15, pode-se observar nas duas épocas que em número de escleródios os produtos Trichodermil, tiofanato metílico e Ecotrich reduziram a formação das estruturas de resistência em todas as avaliações. Alguns fungos do gênero *Trichoderma* são capazes de colonizar e destruir escleródios (KIM; KNUDSEN, 2008). De acordo com Pomella e Ribeiro (2009), o controle biológico com *Trichoderma* pode reduzir o número de aplicações de fungicidas. Tratamentos químicos de sementes podem ser substituídos por tratamentos biológicos, trazendo economia e benefícios sociais e ambientais.

Para a etapa 3 em que foi conduzido no outono/inverno de 2014 o teste de controle ao patógeno, para o desdobramento significativo entre as cultivares e as temperaturas, no geral pode-se observar que houve suscetibilidade dos cultivares aos sintomas foliares independente da temperatura testada, resultado discordante com o relato de Abawi e Grogan, 1975 que observaram maior crescimento micelial em faixa de temperatura entre 15°-25°C (Tabela 16). Para a mesma época, na interação significativa entre cultivares e produtos, principalmente para cultivar NS 7300 IPRO, o tiofanato metílico apresentou melhor controle da doença em relação aos demais produtos (Tabela 17).

Tabela 16. Desdobramento significativo de cultivares vs temperaturas na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(C) Cultivares				
NS 7300 IPRO	3,89 aA	3,52 bB	3,93 aA	25,10 **
SYN 1157 RR	3,79 aA	3,93 aA	3,93 aA	3,38 **
F	2,59 **	41,48 **	0,00 ns	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Tabela 17. Desdobramento significativo de Cultivares vs Produtos na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	
(C) Cultivares							
NS 7300 IPRO	4,00 aA	3,91 aAB	3,08 bC	3,70 bB	4,00 aA	4,00 aA	31,19 **
SYN 1157 RR	3,95 aA	3,95 aA	3,41 aB	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	12,86 **
F	0,21 **	0,21 **	13,24 **	10,14 **	0,00 ns	0,00 ns	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Em relação a interação significativa entre os períodos de inoculação e as temperaturas, em geral a inoculação das folhas destacadas após a pulverização propiciou maior infecção em temperatura ambiente e 28°C (Tabela 18). Garcia, Juliatti e Barbosa. (2013) verificaram em ensaio de campo, com aplicação preventiva e curativa para controle do mofo branco na soja, que os fungicidas proclonazol, iprodione, ciproconazol + propiconazol, fluazinam, vinclozolin e epoxiconazole + piraclostrobina aplicados no estágio V3 se destacaram no controle de *S. sclerotiorum* quando aplicados preventivamente. Já para o controle curativo o fungicida iprodione foi melhor, seguido do vinclozolin.

Tabela 18. Desdobramento das interações significativas de períodos de inoculação vs temperaturas na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(I) Inoculação				
Antes	3,75 bB	3,62 bB	3,95 aA	13,52 **
Depois	3,93 aA	3,83 aA	3,91 aA	1,45 **
F	8,38 **	10,34 **	0,41 **	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50% de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de x+0,5.

Na Tabela 19, para a interação significativa entre as temperaturas e os produtos, independente da temperatura, o tiofanato metílico apresentou maior eficácia no controle da doença.

Na primavera/verão de 2014/15, na quarta avaliação, na interação entre cultivares e temperaturas, a cultivar SYN 1157 RR apresentou as menores médias de nível de infecção independente da temperatura, principalmente em 28°C (Tabela 20).

Tabela 19. Desdobramento significativo de temperaturas vs produtos, na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
(T) Temperaturas							
Ambiente	4,00 aA	4,00 aA	3,06 bB	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	23,28 **
28°C	3,93 aA	3,81 aAB	3,06 bC	3,56 bB	4,00 aA	4,00 aA	21,27 **
22°C	4,00 aA	4,00 aA	3,62 aB	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	3,72 **
F	0,21 **	1,86 **	16,76 **	10,14 **	0,00 ns	0,00 ns	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50 % de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 20. Desdobramento significativo de cultivares vs temperaturas na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2014/2015.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	22°C	28°C	
(C) Cultivares				
NS 7300 IPRO	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	0,00 ns
SYN 1157 RR	3,97 aA	3,27 bB	3,95 aA	95,28 **
F	0,12 **	155,52 **	0,48 **	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50 % de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em relação a interação significativa entre cultivares e produtos, pode-se observar que o tiofanato metílico, o Ecotrich e os metabólitos foram mais eficazes no controle dos sintomas foliares em relação a cultivar SYN 1157 RR (Tabela 21).

Para a mesma época, na interação significativa entre as temperaturas e os produtos, o controle químico, mais uma vez apresentou maior redução dos sintomas foliares (Tabela 22).

Tabela 21. Desdobramento significativo de cultivares vs produtos na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2014/2015.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
(C) Cultivares							
NS 7300 IPRO	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	0,00 ns
SYN 1157 RR	4,00 aA	4,00 aA	3,20 bB	3,41 bB	3,79 bA	4,00 aA	34,32 **
F	0,00 ns	0,00 ns	86,64 **	54,00 **	6,00 **	0,00 ns	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50 % de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 22. Desdobramento significativo de temperaturas vs produtos, na 4ª avaliação de nível de infecção em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2014/2015.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
(T) Temperaturas							
Ambiente	4,00 aA	4,00 aA	3,93 aA	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	0,12 **
28°C	4,00 aA	4,00 aA	3,00 bB	3,12 bB	3,68 bA	4,00 aA	41,76 **
22°C	4,00 aA	4,00 aA	3,87 aA	4,00 aA	4,00 aA	4,00 aA	0,48 **
F	0,00 ns	0,00 ns	50,64 **	54,00 **	6,00 **	0,00 ns	

⁽¹⁾ Médias do nível de infecção apresentadas em escala original de notas de 0 a 4 proposta por Garcia (2008), onde 0 = ausência de sintomas; 1 = 0 a 11 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 12 a 24 % de AFI; 3 = 25 a 50 % de AFI e 4 = > 50 % de AFI. Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

O tiofanato metílico foi mais eficaz na temperatura de 28°C, em que o desenvolvimento dos sintomas também foi mais baixo. Na temperatura ambiente e de 22°C, independente do produto o controle foi menor. Além do tiofanato metílico, o Ecotrich e os metabólitos também reduziram o nível de infecção da doença.

No outono/inverno de 2014, nas interações significativas envolvendo as avaliações de número de escleródios na última avaliação, para o desdobramento entre períodos de inoculação e temperaturas, a inoculação efetuada após a pulverização em temperatura ambiente proporcionou maior desenvolvimento de escleródios (Tabela 23).

Tabela 23. Desdobramento significativo de períodos de inoculação vs temperaturas na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(T) Temperaturas			F
	Ambiente	28°C	22°C	
Inoculação				
Antes	1,70 bA	0,00 aC	0,79 aB	26,80 **
Depois	2,60 aA	0,06 aC	1,06 aB	60,12 **
dms (5%)	0,45	0,45	0,45	0,55
F	14,71 **	0,07 **	1,34 **	

Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em ambas as épocas para as interação dos períodos de inoculação vs produtos e temperaturas vs produtos, o tiofanato metílico independente do período de inoculação e temperatura, apresentou maior controle na germinação dos escleródios (Tabelas 24, 25, 26 e 27).

Tabela 24. Desdobramento significativo de períodos de inoculação vs produtos na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
Inoculação							
Antes	1,83 aA	0,29 aBC	0,00 aC	0,12 aC	1,12 aAB	1,62 aA	11,74**
Depois	2,33 aA	0,53 aCD	0,37 aD	0,58 aCD	1,37 aBC	2,20 aAB	13,79**
F	2,29 **	0,78 **	1,29 **	1,93 **	0,57 **	3,12 **	

Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 25. Desdobramento significativo de produtos vs temperaturas na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido no Outono/Inverno de 2014.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
Temperaturas							
Ambiente	4,06 aA	1,06 aBC	0,56 aC	1,00 aC	2,18 aB	4,06 aA	30,17**
28°C	0,00 cA	0,00 bA	0,00 aA	0,00 bA	0,00 bA	0,18 cA	0,07 **
22°C	2,18 bA	0,25 abB	0,00 aB	0,06 abB	1,56 aA	1,50 bA	10,72**
F	50,53 **	3,77 **	1,29 **	3,84 **	15,52 **	47,47 **	

Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 26. Desdobramento significativo de períodos de inoculação vs produtos na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2014/2015.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
Inoculação							
Antes	1,70 aAB	0,70 aCD	0,00 aD	0,37 aCD	0,87 bBC	1,95 aA	12,70 **
Depois	1,16 aAB	0,41 aBC	0,00 aC	0,45 aBC	1,91 aA	1,95 aA	15,04 **
F	3,23 **	0,94 **	0,00 ns	0,08 **	11,93 **	0,00 ns	

Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 27. Desdobramento significativo de temperaturas vs produtos na 4ª avaliação de número de escleródios em experimento conduzido na Primavera/Verão de 2014/2015.

Tratamentos	(P) Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
Temperaturas							
Ambiente	3,50 aA	1,68 aB	0,00 aC	0,93 aBC	2,93 aA	3,00 aA	27,43**
28°C	0,00 bA	0,00 bA	0,00 aA	0,00 bA	0,00 cA	0,00 bA	0,00 ns
22°C	0,81 bBC	0,00 bC	0,00 aC	0,31abBC	1,25 bB	2,87 aA	17,57**
F	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	1,06

Médias de 4 repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos o presente trabalho permite concluir que:

O melhor método de inoculação para a reprodução dos sintomas em folhas destacadas foi o de grãos de sorgo colonizados com o patógeno.

Nenhuma cultivar apresentou imunidade a *S. sclerotiorum*, porém a SYN 1157 RR e Emgopa 316 são as que mais retardaram os sintomas foliares da doença, ao contrário da NS 7300 IPRO que apresentou a maior suscetibilidade dentre as cultivares testadas.

No Outono/Inverno de 2014, o controle preventivo da doença reduziu os níveis de infecção da doença e a formação de escleródios.

O tiofanato metílico, dentre os produtos testados é o que melhor controlou a evolução dos sintomas foliares e a formação de escleródios.

5. REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Source of primary inoculums and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 65, p. 300-309, 1975.

ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v.69, p.896-899, 1979.

BALARDIN, R.S.; RUBIN, S.A.L. Reação de germoplasma de soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina PR. **Anais...** Londrina PR: Embrapa Soja, 1999.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **AgroEstat** – sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. versão 1.0. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2011.

BEDENDO, I.P. Podridão de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p.829-837, 1995.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: Campanhola, C. & Bettiol, W. (Eds.) Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2003. pp. 79-95.

BOLTON, M.D.; THOMMA, B.P.H.J.; NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v.7, n. 1, p. 1-16, 2006.

CARVALHO, L. H.; CHIAVEGATO, E. J. Semeadura adensada incrementa produção e reduz custos. **Visão agrícola**. n. 6, p. 88-90, jul./dez, 2006.

CHAVES, M.S. **Aspectos epidemiológicos da interação *Whetzelinia sclerotiorum* x *Glycine max***. 1995. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre RS.

CONAB. **Oitavo Levantamento da Safra de Grãos 2014/2015**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_mai_2015.pdf> Acesso em: 21/05/2015.

COSTA, J.R.; COSTA, J.L. da S. Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.34, p.133-138, 2004.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 265p. ; 21cm. – (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, 16) . ISBN 2176-2902.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80).

FERREIRA, L.U.; SOUZA, T.L.P.O.; LOBO JÚNIOR, M.; PEREIRA, H.S.; MELO, L.C.; FARIA, L.C; WENDLAND, A.; RIBEIRO, V.A.; MELO; P.G.S. Avaliação de Métodos de Inoculação Artificial e Caracterização de Cultivares de Feijoeiro Comum Quanto à Reação ao Mofo Branco. In: 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de

Plantas, 2013, Uberlândia. **Anais do 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Uberlândia, MG, 2013.

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 196 – 203, 2012.

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G. Efeito de fungicidas e herbicidas no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 6, p. 1989-1996, 2013.

GARCIA, R.(2008). **Produção de inóculo, efeito de extratos vegetais e de fungicidas e reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum***. 2008. 154 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

GERALDINE, A. M.; LOBO JUNIOR, M.; HIKISHIMA, M. Influência da temperatura e da umidade do solo na germinação carpogênica e parasitismo de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: WORKSHOP DE EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DE PLANTAS, 3. , 2010, Bento Gonçalves, 2010. **Anais...** Bento Gonçalves, 2010.

GRAU, C. R.; RADKE, V. L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 68, p. 56-58, 1984.

HOMECHIN, M. Reação de cultivares comerciais de soja a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **Fitopatologia Brasileira**, 1983. Resumos... 1983. Ref. 8:559.

KATAN, J.; DEVAY, J.E. **Soil Solarization**. Boca Raton. Florida. CRC Press, 1991.

KIM, T. G.; KNUDSEN, G. R. Quantitative real-time PCR effectively detects and quantifies colonization of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Trichoderma* spp. **Applied Soil Ecology**, v. 40, p. 100-108, 2008.

LETORNEAU, D. Morphology, cytology, and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 887-890, 1979.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C; ALVES, M. C. Inoculação artificial de semente de soja por fungos utilizando solução manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 95-101, 2001.

MARTINS, M. P. Potencial **antagônico de espécies de *Trichoderma* contra *Verticillium dahlie* em berinjela (*Solanum melongena* L.)**. 1988. 156p. Dissertação (Mestrado) - ESALQ-USP, Piracicaba.

MAXWELL D.P.; LUMSDEN R.D. Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. **Phytopathology**.v. 60, p. 1395–1398, 1970.

MENENDEZ, A.B.; GODEAS, A. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). **Mycopathologia**, v.142, p.153-160, 1988.

NELSON, B. D.; HELMS, T. C.; KURAL, I. Effects of temperature and pathogen isolate on laboratory screening of soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 71, p. 347-352, 1991.

PASCHOLATI, S.F; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de Resistência. In: BERGAMIN FILHO, A. ; KIMATI, H. ; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, cap.22: p. 417-452. 1995.

PENNYPACKER, B. W.; HATLEY, O. E. Greenhouse technique for detection of physiological resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 85, p. 1178, 1995.

POMELLA, A.W.V.; RIBEIRO, R.T.S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p.239-244, 2009.

PRICE, K.; CALHOUN, J. Pathogenicity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary to several hosts. **Phytopathol**; v. 83, p. 232–238, 1975.

RIOU, C., FREYSSINET, G., FEVRE, M. Production of cell wall degrading enzymes by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 57, p. 1478-1484, 1991.

SAGATA, E. **Métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum***. 2010. 56f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto de Ciência Agrárias - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

SAS INSTITUTE. **Getting started with the SAS learning edition**. Cary: SAS Institute, 2002. 200p.

SILVA S. M; MACHADO J. C. Metodologia de inoculação e comportamento de alguns cultivares de soja (*Glycine max* L.), em relação a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: FITOPATOLOGIA BRASILEIRA, 1989. **Resumos...** ref. 14-118., 1989.

TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria**. Minneapolis: Burgess. 239p., 1969.

VIEIRA, R.F. Introdução à quimigação. In: COSTA, E.F; VIEIRA, R.F; VIANA, P.A. (Eds.). **Quimigação, Aplicação de Produtos Químicos e Biológicos via Irrigação**, Brasília. EMBRAPA-SPI. 1994. p.13-39.

VILLELA, O. T.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; SILVA, F. M.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; DI MAURO, A. O. Genetic divergence of roundup ready (RR) soybean cultivars estimated by phenotypic characteristics and molecular markers. **African Journal of Biotechnology**, São Paulo, v. 13, p. 2613-2625, 2014.

VUONG, T.D.; HOFFMAN, D.D.; DIERS, B.W.; MILLER, J.F.; STEADMAN, J.R.; HARTMAN, G.L. Evaluation of soybean, dry bean, and sunflower for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Crop Science**, v.44, p.777-783, 2004.

WEGULO, S. N.; YANG, X. B.; MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, p. 1264-1270, 1998.

CAPÍTULO 3 - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO EM PLÂNTULAS DE SOJA

RESUMO – Estima-se que a perda de produção anual provocada por doenças em soja gire em torno de 15 a 20%, porém dependendo da doença os danos podem ser próximos a 100%, como é caso do mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Este patógeno é de ampla ocorrência no mundo, afetando pelo menos 408 espécies de plantas hospedeiras. Na cultura da soja, a ausência de cultivares resistentes ao patógeno tem sido causa de grandes prejuízos de produção, porém, diversas pesquisas relatam diferenças na reação a *S. sclerotiorum* entre cultivares de soja. A determinação de métodos de inoculação eficientes é imprescindível para a identificação de fontes de resistência e tratamentos de controle. Frente a isso o presente trabalho objetivou avaliar metodologias de inoculação artificial, reação de cultivares, bem como, a efetividade de produtos químicos e biológicos no controle da doença em plântulas de soja cultivadas em bandejas. As avaliações dos sintomas foram realizadas através da porcentagem de plântulas mortas. O isolado proveniente da cultura da soja e o método dos grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura apresentaram as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas. Não foram verificadas diferenças na reação de resistência entre as cultivares estudadas nessa condição. Os produtos à base de metabólitos de *Trichoderma* e o tiofanato metílico apresentaram os melhores resultados na redução da porcentagem da mortalidade de plântulas.

Palavras-chaves: *Glycine max*, metabólitos de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma harzianum*, cultivares, controle biológico

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] apresentou na safra brasileira de 2014/15 área cultivada superior a 30 milhões de hectares e produção de 95 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2015). O aumento de doenças na cultura acarreta

perdas significativas de produção, constituindo-se a monocultura, em áreas extensivas, um dos fatores contribuintes (EMBRAPA, 2014).

No Brasil, 40 doenças relacionadas à cultura da soja já foram identificadas, causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus. As perdas de produção estimadas anualmente ficam em torno de 15 a 20%, porém perdas superiores a 50% já foram relatadas em doenças com ataques severos (CASSETARI NETO; MACHADO; SILVA, 2010). O mofo branco da soja, causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, em períodos extremamente úmidos pode apresentar a produção de lavouras de soja, danos próximo a 100%.

O patógeno *S. sclerotiorum* é um fungo de ampla ocorrência em todo o mundo (BOLTON; THOMMA; NELSON; 2006, BOLAND; HALL, 1994), sendo que em soja, a primeira epidemia grave de mofo branco foi relatada na década de 70, em cultivos de soja no Paraná (HENNING, 2004; YAMASHITA et al., 1978).

Os sintomas de mofo branco na cultura da soja iniciam-se a partir de lesões aquosas em que desenvolvem as hifas, formando abundante micélio. Os tecidos infectados apodrecem em consequência da ação das diversas toxinas produzidas por *S. sclerotiorum*. Nessa fase, pode ser observado o apodrecimento de hastes laterais, vagens e folhas, ou mesmo a haste principal com morte de toda planta (GRAU; RADKE, 1984).

Não há registro de cultivares de soja com resistência genética a *S. sclerotiorum*, e o controle químico do mofo branco se torna inviável em razão dos custos, da toxicidade ao meio ambiente e das dificuldades de se obter uma cobertura total da planta durante a pulverização. Frente a isso, no atual cenário de sustentabilidade ambiental, o controle biológico pode ser uma alternativa segura no controle da doença.

Segundo Garcia e Juliatti (2012), apesar da variabilidade genética da soja para resistência a *S. sclerotiorum* já ter sido relatada na literatura, pouco se sabe sobre a variabilidade no germoplasma brasileiro. Também há pouca informação sobre métodos de inoculação adequados para seleção de genótipos de soja resistentes à doença.

Diante da importância da cultura e da doença, objetivou-se inicialmente em plântulas cultivadas em bandejas avaliar algumas metodologias de inoculação do patógeno e posteriormente testá-las em experimentos de reação de cultivares e efetividade de produtos químicos e biológicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos durante o outono/inverno de 2013 e 2014 e, primavera/verão de 2013/14 e 2014/15 em laboratório pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal/SP, UNESP. Foram instalados experimentos em bandejas, desenvolvidos em três etapas, sendo: etapa 1 = metodologias de inoculação artificial de *S. sclerotiorum*, etapa 2 = reação de cultivares à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* e etapa 3 = controle de *S. sclerotiorum*. Ressalta-se que cada etapa envolveu dois experimentos referentes às épocas.

2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Para o cultivo de *S. sclerotiorum* foram utilizadas placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). Dois isolados de *S. sclerotiorum* foram testados, sendo o primeiro isolado de plantas infectadas de tomateiro e o segundo de soja. Os mesmos foram mantidos por meio de sucessivas repicagens e também pela germinação de escleródios em placas de Petri em BDA. As placas de Petri foram incubadas em câmara de germinação com temperatura ajustada para $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica até a formação de escleródios.

A cultivar de soja AS38 IPRO foi utilizada para compor esta etapa devido a melhor qualidade fisiológica da semente e maior porcentagem de plântulas normais obtida nos testes de germinação e de emergência de plântulas em areia em relação as demais cultivares testadas.

Em laboratório, os experimentos foram instalados em bandejas de isopor que continham 128 células de 80 cm^3 preenchidas com substrato esterilizado (para hortaliças), em volume suficiente para completar as células. A inoculação dos isolados foi através de três métodos de inoculação propostos e descritos a seguir: 1) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em sulco de semeadura, (BALARDIN; RUBIN; 1999). Na inoculação foram depositados dez grãos de sorgo em sulco de semeadura cobrindo-os em seguida com fina camada de substrato; 2) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em plântulas normais: dois

grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados no colo da planta sem fermento e; 3) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em plântulas com fermento: dois grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados no colo da planta com fermento. As plântulas com ou sem fermentos foram inoculadas no estágio fenológico V1 (FEHR; CAVINESS; 1977). Ressalta-se que os fermentos foram efetuados artificialmente no colo das plântulas com estilete esterelizado. Para efeito da testemunha utilizou-se grãos de sorgo não colonizados com o patógeno. Os experimentos foram irrigados diariamente, mantendo-os úmidos. Devido à alta agressividade da doença nos experimentos causando precocemente a morte das plântulas, foi efetuada apenas uma avaliação de incidência do mofo branco no sétimo dia após a inoculação, através da porcentagem de plântulas mortas.

2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

De posse dos melhores resultados quanto ao isolado, bem como da metodologia de inoculação mais eficaz para a reprodução dos sintomas da doença, foi conduzida a Etapa 2 que consistiu na reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* em bandejas. Para isso, foram utilizadas dez cultivares comerciais de soja: M 8330 IPRO, AS 38 IPRO, NS 7300 IPRO, SYN 1157 RR, SYN7059 RR, SYN 1163 RR, BMX Potência RR, BMX Pampa RR, TMG 1182 RR e Emgopa 316. A metodologia utilizada para os experimentos foi semelhante a já descrita na Etapa 1.

2.3. Etapa 3. Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*

Com base nos resultados obtidos na etapa anterior referente ao estudo de reação de cultivares, foram selecionadas duas cultivares pelo padrão de suscetibilidade quanto aos sintomas da doença.

Para o controle à inoculação do patógeno além da testemunha absoluta que constou apenas de água destilada e esterilizada foram utilizados cinco produtos: o Trichodermil, à base de *Trichoderma harzianum*, cedido pela empresa Koppert; o Ecotrich, à base de *T. harzianum*, cedido pela empresa Ballagro; Produto em fase de

teste à base de metabólitos de *T. harzianum*; o Nemix, à base de *Bacillus subtilis*, cedido pela empresa FMC agrícola e o Cercobin (tiofanato metílico), fungicida do grupo dos Benzimidazois, cedido pela empresa Ihara. Todos os produtos foram utilizados nas concentrações recomendadas pelos fabricantes. A metodologia dos experimentos de controle à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* foi a mesma já descrita para as Etapas 1 e 2, porém através de três métodos de inoculação propostos a seguir: Método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno + Tratamento de semente: dez grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados em sulco de semeadura cobrindo-os em seguida com fina camada de substrato para assim ser efetuada a semeadura da semente de soja tratada; Método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno + Tratamento de substrato: dez grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados em sulco de semeadura de substrato tratado, para posteriormente efetuar a semeadura e Transplante de plântulas + Tratamento de substrato e Método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno: foi efetuada a semeadura da soja em bandeja para posteriormente em estágio fenológico V1 (FEHR; CAVINESS; 1977) serem transplantadas para bandejas com substrato tratado e inoculado com grãos de sorgo colonizados com *S. sclerotiorum*. O substrato foi tratado através de pulverizações independente da formulação dos produtos, para maior uniformidade da mistura.

Nas três etapas, os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições para a etapa 1 e quatro repetições para as etapas 2 e 3. A parcela experimental constou de oito células da bandeja com uma plântula em cada célula. Os dados referentes às porcentagens de plântulas mortas foram transformados em raiz de $x + 0,5$ e submetidos à análise de variância pelo teste F, em seguida as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade seguindo-se o esquema fatorial através do software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão discriminados os resultados referentes à etapa 1. Em ambas as épocas o isolado proveniente da cultura da soja e o método dos grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura apresentaram a maiores

médias de porcentagem de plântulas mortas. Os grãos de sorgo colonizados com o patógeno em sulco de semeadura na maioria das vezes ocasionaram primeiramente a infecção das sementes, apodrecendo-as e resultando em plântulas não germinadas. De acordo com Paula Junior et al. (2010), as sementes infectadas com o patógeno podem apodrecer e não germinar, ocorrendo posteriormente a formação de escleródios. Porém aquelas sementes que germinam podem resultar em plantas doentes ou então morrerem logo em seguida, caracterizando o sintoma de tombamento.

Em relação aos métodos de inoculação em que foram depositados dois grãos de sorgo no colo de plântulas com e sem fermento não houve diferenças estatísticas significativas na incidência de plântulas mortas. Sagata (2010), verificou que a inoculação em plântulas com fermentos, obteve-se 54,4% de lesão maior ao método sem fermento. Segundo o mesmo autor, a penetração da *S. sclerotiorum* em uma planta sem fermento é dificultada devido a cutícula, retardando o início do processo de colonização da planta.

Tabela 1. Porcentagem de plântulas mortas de cultivar de soja AS 38 IPRO cultivada em bandejas e inoculada por diferentes métodos e isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* nos experimentos realizados no outono/inverno de 2013 e primavera/verão 2013/14.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Outono/Inverno de 2013	Primavera/Verão de 2013/14
Isolados (I)		
Tomate	30,59 b	53,13 b
Soja	55,69 a	69,58 a
Testemunha	0,00 c	0,00 c
F	110,38**	183,10**
Métodos de Inoculação (M)		
Grãos de sorgo/sulco	38,27 a	57,23 a
Grãos de sorgo/plantas com fermentos	24,04 b	35,61 b
Grãos de sorgo/plantas normais	23,97 b	29,86 b
F	9,62**	28,84**
Teste F IxM	2,49NS	7,94**
CV (%)	35,74	25,44

⁽¹⁾Médias (5 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Na Tabela 2, estão discriminados os resultados do desdobramento dos isolados e métodos de inoculação de experimento conduzido na primavera/verão de 2013/14. Pode-se observar que indiferente do isolado, o método em que os grãos de sorgo colonizados foram depositados em sulco de semeadura apresentou maior mortalidade de plântulas, contrariando Pratt e Rowe (1991), que verificou a maior eficiência de infecção em métodos que utilizaram fermentos por picadas nos sítios de inoculação.

Tabela 2. Desdobramento significativo dos isolados vs métodos de inoculação em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido na primavera/verão de 2013/14

Tratamentos	Métodos de Inoculação		F
	Grãos de sorgo/sulco	Grãos de sorgo/plantas com ferimentos	
Isolados			
Tomate	81,71 Aa	32,69 Bb	45,00 Bb
Soja	90,00 Aa	56,89 Ba	61,85 Ba
Testemunha	0,00 Ab	0,00 Ac	0,00 Ac
F	114,18**	37,62**	47,19**

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Na Tabela 3, referente aos resultados dos experimentos conduzidos na etapa 2, em que estudou-se a reação de cultivares em plântulas cultivadas em laboratório em bandeja, notou-se que em ambas as épocas o isolado de soja e o método dos grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura apresentaram as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas. Em relação as cultivares, não houve diferenças na reação de resistência (Tabela 3). Porém, para o prosseguimento da pesquisa, mesmo não havendo diferenças estatísticas significativas entre as reações das cultivares ao patógeno, foram selecionadas para a etapa posterior (etapa 3) as cultivares TMG 1182 RR e Emgopa 316, detentoras das maiores médias de porcentagem de plântulas mortas nas duas épocas estudadas. Pode-se verificar também que as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas ocorreram na época de primavera/verão de 2013/2014 em que as temperaturas foram mais elevadas, com média diagnosticada durante este período de 25° C, de acordo com os dados agrometeorológicos pertencentes ao Ciiagro (2015), discordando dos resultados obtidos por Vuong et al. (2004), que observaram maior desenvolvimento da doença em temperaturas mais amenas.

Pode-se observar diferenças estatísticas apenas para a interação dos isolados e métodos de inoculação em experimento conduzido no outono/inverno de 2014 (Tabela 3). Vários métodos de inoculação em condições ambientes controladas têm sido avaliados. Chaves et al. (1996) avaliaram a inoculação de *S. sclerotiorum* em diferentes densidades e locais de inoculação (junto à semente, junto ao colo de plantas jovens e no solo), por meio do uso de micélio seco e escleródios em plantas de soja. Os resultados revelaram que micélio seco, quando depositado na superfície do solo, junto ao colo de plantas jovens, foi o mais eficiente para seleção de genótipos de soja.

Tabela 3. Porcentagem de plântulas mortas obtida nos experimentos conduzidos em condições laboratoriais em bandejas para avaliação da reação de cultivares à inoculação em diferentes métodos e isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, na primavera/verão de 2013/14 e outono/inverno de 2014.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Primavera/Verão de 2013/14	Outono/Inverno de 2014
Isolados (I)		
Soja	81,48 a	68,17 a
Testemunha	11,63 b	5,18 b
F	1258,32**	1550,42**
Métodos de Inoculação (M)		
Grãos de sorgo/sulco	54,24 a	50,18 a
Grãos de sorgo/plantas normais	38,87 b	23,17 b
F	60,86**	285,07**
Cultivares (C)		
M 8330 IPRO	48,07 a	34,31 a
AS 38 IPRO	48,16 a	37,01 a
NS 7300 IPRO	41,83 a	34,10 a
SYN 1157 RR	46,29 a	35,49 a
SYN 7059 RR	47,13 a	34,19 a
SYN 1163 RR	46,74 a	34,50 a
BMX Potência RR	41,12 a	37,63 a
BMX Pampa RR	45,74 a	38,66 a
TMG 1182 RR	49,23 a	43,38 a
Emgopa 316	51,25 a	37,50 a
F	1,00NS	1,30NS
Teste F IxM	0,54NS	108,15**
Teste F IxC	1,62NS	0,32NS
Teste F MxC	1,24NS	0,32NS
Teste F IxMxC	0,99NS	1,30NS
CV (%)	26,750	27,582

⁽¹⁾Médias (4 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Na interação dos isolados e método de inoculação no outono/inverno de 2014 verificou-se que a deposição dos grãos de sorgo colonizados com o isolado de soja em sulco de semeadura apresentou maior eficácia para a incidência do mofo branco, resultando na maior porcentagem de plântulas mortas (Tabela 4). Recentes estudos apontam o sucesso na identificação de cultivares, resistentes e suscetíveis, e na detecção das interações pelo isolado, pela técnica de inoculação e pelo tipo de análise estatística empregada (KULL, et al., 2003). Segundo Maxwell e Lumsden (1970), o conteúdo de lignina pode ser importante para a resistência à *S. sclerotiorum*, como na taxa de crescimento do fungo e fatores de patogenicidade e virulência no avanço das hifas.

Tabela 4. Desdobramento significativo dos isolados vs métodos de inoculação de porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido no outono/inverno de 2014.

Tratamentos	Métodos de Inoculação		F
	Grãos de sorgo/sulco	Grãos de sorgo/plantas normais	
Isolados			
Soja	90,00 Aa	46,35 Ba	372,19**
Testemunha	10,37 Ab	0,00 Bb	21,02**
F	1238,77**	419,80**	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Na Tabela 5 estão discriminados os resultados referentes aos experimentos conduzidos na etapa 3, em que estudou-se o controle da doença nas mesmas condições. No outono/inverno de 2014 e na primavera/verão de 2014/15, a cultivar TMG 1182 RR apresentou maior suscetibilidade à doença devido à alta porcentagem de plântulas mortas obtidas. Ressalta-se também que o diagnóstico da resistência fisiológica da soja para a *S. sclerotiorum* nos experimentos foram mais facilmente visualizados nos tratamentos em que a inoculação consistiu no depósito de grãos de sorgo colonizados no colo das plântulas de soja. De acordo com Boland e Hall, (1986); Cline e Jacobsen (1983); Pennypacker e Hatley (1995) e Grau (1988), a resistência fisiológica é caracterizada por lesões de coloração marrom-avermelhadas limitadas ao sítio da inoculação.

No outono/inverno de 2014, o método em que o substrato foi inoculado e a semente foi tratada resultou em maior porcentagem de mortalidade de plântulas. Já na primavera/verão de 2014/15, em substrato tratado e inoculado, a média da porcentagem de plântulas mortas foi mais elevada.

Em ambas as épocas, o tratamento cujas plântulas foram transplantadas em substrato tratado apresentou a menor média de porcentagem de plântulas mortas, portanto a menor eficácia na reprodução dos sintomas da doença. O próprio estágio fenológico das plantas pode contribuir para as variações de reprodução dos sintomas pelos métodos de inoculação. Segundo Chaves (1995), o estágio fenológico V1 é o mais indicado para a avaliação de cultivares de soja quanto à resistência e suscetibilidade a *S. sclerotiorum*. Por outro lado, Silva e Machado (1989) consideraram o estágio V3 como o mais apropriado para a inoculação de plantas de soja com *S. sclerotiorum*, durante o processo de seleção, enquanto que de acordo com Garcia e Juliatti (2012) essas diferenças podem ser explicadas devido a metodologias distintas empregadas por esses autores para inoculação, incluindo variações na forma de preparo e aplicação do inóculo.

Em relação aos produtos, no outono/inverno de 2014, o controle a base de metabólitos produzidos pelo *T. harzianum* apresentou maior redução na incidência do mofo branco apresentando aproximadamente média de plântulas mortas de 27,86%, seguido pelo Nemix com aproximadamente 34,97%. Para efeito de comparação, detectou-se para a testemunha, em que a pulverização constou-se apenas de água destilada e esterelizada, 74,43% de mortalidade (Tabela 5). Na primavera/verão de 2014/15, o Tiofanato Metílico apresentou maior controle da

doença, com aproximadamente 29,07% de plântulas mortas, seguido pelo Ecotrich com aproximadamente 32,41%. A testemunha, em que a pulverização foi efetuada apenas com água destilada, detectaram 67,11% de mortalidade.

Tabela 5. Porcentagem de plântulas mortas nos experimentos em bandejas de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em duas cultivares de soja no outono/inverno de 2014 e na primavera/verão de 2014/15.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Outono/Inverno de 2014	Primavera/Verão de 2014/15
Cultivares (C)		
TMG 1182 RR	43,64 a	44,78 a
Emgopa 316	31,50 b	38,89 b
F	87,12**	11,57**
Formas de inoculação e pulverização (F)		
Semente tratada + Grãos de sorgo	55,23 a	55,47 b
Substrato tratado + Grãos de sorgo	48,54 b	63,77 a
Transplântio + Substrato tratado e inoculado	8,94 c	6,26 c
F	494,16**	430,06**
Produtos (P)		
Nemix	34,97 b	40,60 bc
Trichodermil	30,77 bc	38,12 bc
Cercobin	28,47 bc	29,07 d
Ecotrich	28,92 bc	32,41 cd
Metabólitos	27,86 c	43,70 b
Testemunha	74,43 a	67,11 a
F	131,36**	40,47**
-----	-----	-----
Teste F CxF	12,37**	13,11**
Teste F CxP	2,97*	2,61*
Teste F FxP	1,13NS	2,91**
Teste F CxFxP	3,51**	1,66NS
CV (%)	20,751	24,82

⁽¹⁾Médias (4 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ T1= semeadura de semente de soja tratada com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T2= semeadura de sementes de soja em substrato tratado com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T3= transplante de plântulas em estágio V1 em substrato tratado e inoculado com grãos de sorgo colonizados. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Nas duas épocas, na interação das cultivares e métodos de inoculação, as metodologias em que o substrato foi inoculado e a semente tratada, e o substrato foi tratado e inoculado, a cultivar TMG 1182 RR apresentou maior suscetibilidade pelas médias de porcentagem de plântulas mortas obtidas (Tabelas 6 e 7). No outono/inverno de 2014, a cultivar EMGOPA 316 chegou a apresentar 17,3% a menos de plântulas mortas em relação a TMG 1182 RR (Tabela 7). Em geral, em ambas as épocas o tratamento em que as plântulas foram transplantadas em solo tratado, as cultivares apresentaram baixas médias de porcentagem de plântulas mortas. A resistência parcial da Emgopa 316 também foi encontrada por Sagata (2010), que, em estudo realizado para ranquear cultivares de soja quanto a resistência a *S. sclerotiorum*, observou na maior parte dos experimentos que esta cultivar ocupou as primeiras posições, indicando segundo o autor padrão de resistência.

Tabela 6. Desdobramento significativo de cultivares vs formas de inoculação e pulverização em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido no outono/inverno de 2014

Tratamentos	Formas de inoculação e pulverização			F
	Semente tratada + Grãos de sorgo	Substrato tratado + Grãos de sorgo	Transplântio + Substrato tratado e inoculado	
Cultivares				
TMG 1182 RR	63,27 Aa	57,19 Ba	10,45 Ca	329,69**
Emgopa 316	47,19 Ab	39,89 Bb	7,43 Ca	176,84**
F	50,97**	59,08**	1,80NS	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ T1= semeadura de semente de soja tratada com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T2= semeadura de sementes de soja em substrato tratado com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T3= transplante de plântulas em estágio V1 em substrato tratado e inoculado com grãos de sorgo colonizados. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 7. Desdobramento significativo de cultivares vs formas de inoculação e pulverização em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido na primavera/verão de 2014/2015

Tratamentos	Formas de inoculação e pulverização			F
	Semente tratada + Grãos de sorgo	Substrato tratado + Grãos de sorgo	Transplântio + Substrato tratado e inoculado	
Cultivares				
TMG 1182 RR	60,94 Ba	70,42 Aa	2,97 Cb	296,65**
Emgopa 316	50,00 Bb	57,13 Ab	9,54 Ca	146,52**
F	13,33**	19,66**	4,81*	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ T1= semeadura de semente de soja tratada com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T2= semeadura de sementes de soja em substrato tratado com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T3= transplante de plântulas em estágio V1 em substrato tratado e inoculado com grãos de sorgo colonizados. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

No outono/inverno de 2014 e na primavera/verão de 2014/15, o desdobramento das cultivares e produtos apresentou diferenças estatísticas. Em geral, os produtos apresentaram maior controle na mortalidade de plântulas para a Emgopa 316 e dentre estes, o tiofanato metílico apresentou a maior eficácia. Já para a TMG 1182 RR, em geral o produto Ecotrich apresentou os melhores resultados de controle (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Desdobramento significativo de cultivares vs produtos em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido no outono/inverno de 2014

Tratamentos	Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
Cultivares							
TMG 1182 RR	43,23 Ba	39,00 BCa	36,54 BCa	34,00 BCa	33,31 Ca	75,73 Aa	51,36**
Emgopa 316	26,72 Bb	22,54 Bb	20,39 Bb	23,83 Bb	22,41 Bb	73,14 Aa	82,98**
F	26,88**	26,74**	25,76**	10,20**	11,73**	0,66NS	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 9. Desdobramento significativo de cultivares vs produtos em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido na primavera/verão de 2014/2015

Tratamentos Cultivares	Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
TMG 1182 RR	46,07 Ba	44,17 Ba	35,34 BCa	31,72 Ca	45,42 Ba	65,95 Aa	15,80**
Emgopa 316	35,12 Bb	32,06 BCb	22,80 Cb	33,10 BCa	41,98 Ba	68,27 Aa	27,28**
F	6,66*	8,16**	8,75**	0,11NS	0,66NS	0,30NS	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em estudo realizado por Secco et al. (2007), o fungicida fluazinam proporcionou menor severidade do mofo branco comparado com o fungicida tiofanato metílico, concordando com os resultados do presente estudo, quando as aplicações foram realizadas preventivamente.

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados da interação dos métodos de inoculação e dos produtos na primavera/verão de 2014/15. Pode-se verificar que o tratamento das sementes de soja com o tiofanato metílico apresentou maior redução da mortalidade de plântulas em relação aos demais produtos.

Todavia, o tratamento em que a semeadura foi efetuada em solo tratado e posteriormente inoculado, a pulverização do substrato com o tiofanato metílico e o Ecotrich, resultou nas menores médias de porcentagem de plântulas mortas dentre os produtos.

Em relação ao tratamento em que efetuou o transplante de plântulas em substrato tratado e inoculado, os produtos Nemix, Trichodermil e Ecotrich não apresentaram plântulas mortas.

Tabela 10. Desdobramento de formas de inoculação e pulverização vs produtos em porcentagem de plântulas mortas do experimento conduzido primavera/verão de 2014/15

Tratamentos Formas de inoculação e pulverização	Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
T1	56,44 Ba	55,53 Ba	29,87 Cb	45,97 Ba	58,76 Ba	86,25 Aa	25,28**
T2	65,36 Ba	58,83 Ba	54,75 Ba	51,27 Ba	65,03 Ba	87,41 Aa	12,23**
T3	0,00 Bb	0,00 Bb	2,58 Bc	0,00 Bb	7,30 Bb	27,67 Ab	8,76**
F	93,17**	81,04**	50,50**	58,96**	74,40**	86,53**	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽³⁾T1= semeadura de semente de soja tratada com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T2= semeadura de sementes de soja em substrato tratado com grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura; T3= transplante de plântulas em estágio V1 em substrato tratado e inoculado com grãos de sorgo colonizados. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

O isolado mais patogênico foi o proveniente da cultura da soja.

O método dos grãos de sorgo colonizados e depositados em sulco de semeadura foi o mais promissor na reprodução dos sintomas do mofo branco.

Não houve diferenças na reação ao mofo branco entre as cultivares estudadas.

Os produtos à base de metabólitos de *Trichoderma harzianum* e o tiofanato metílico apresentaram os melhores resultados na redução da porcentagem de plântulas mortas.

5. REFERÊNCIAS

BALARDIN, R.S.; RUBIN, S.A.L. Reação de germoplasma de soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina PR. **Anais...** Londrina PR: Embrapa Soja, 1999.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **AgroEstat** – sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. versão 1.0. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2011.

BOLAND, G. J; HALL, Index of plant to sclerotiorum. **Canadian of Pathology**, 16, p. 93-108, 1994

BOLAND, G. J.; HALL, R. Growthroom evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 66, p. 559-564, 1986.

BOLTON, M.D.; THOMMA, B.P.H.J.; NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, London, v.7, n. 1, p. 1-16, 2006.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q.; SILVA, R.A. **Manual de doenças de soja**. São Paulo: Cheminova Brasil LTDA, 2010. 57 p.

CHAVES, M.S. **Aspectos epidemiológicos da interação *Whetzelinia sclerotiorum* x *Glycine max***. 1995. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre RS.

CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J.A.; LOCH, L. C.; (1996) Uso de micélio seco de *Sclerotinia sclerotiorum* como método de inoculação e avaliação da resistência de cultivares de soja. **Summa Phytopathologica** 22:221-224.

CIIAGRO/IAC. **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas/ Instituto Agrônomo de Campinas**. Disponível em: <http://www.ciiagro.sp.gov.br> Acesso em: 13/09/2015.

CLINE, M. N.; JACOBSEN, B. J. (1983) Methods for evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease** 67:784-786.

CONAB. **Oitavo Levantamento da Safra de Grãos 2014/2015**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf> Acesso em: 21/05/2015.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 265p. ; 21cm. – (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, 16) . ISBN 2176-2902.

FEHR, W.R., CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80).

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 196 – 203, 2012.

GRAU, C. R. *Sclerotinia* stem rot of soybean. In: Soybean Diseases of the North Central Region. T. D. Wyllie; D. H. Scott, **The American Phytopathological Society**, Saint Paul, p. 56-66, 1988.

GRAU, C. R.; RADKE, V. L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 68, p. 56-58, 1984.

HENNING, A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. (EMBRAPA-Documentos 235). Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 2004, 51p.

KULL, L.S.; VUONG, T.D.; POWERS, K.S.; ESKRIDGE, K.M.; STEADMAN, J.R.; HARTMAN, G.L. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, v.87, p.1471-1476, 2003.

MAXWELL D.P.; LUMSDEN R.D. Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. **Phytopathology**.v. 60, p. 1395–1398, 1970.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R.F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M.A.B.; CARNEIRO, J.E.S. Mofo branco. In: PRIA, M.D.; SILVA, O.C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. Cap. 6 e 7.

PENNYPACKER, B. W.; HATLEY, O. E. Greenhouse technique for detection of physiological resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 85, p. 1178, 1995.

PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Differential responses of alfalfa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 188-191, 1991.

SAGATA, E. **Métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum***. 2010. 56f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto de Ciência Agrárias - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

Secco et al. (2007)

SECCO, M. D.; CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. P.; SILVA, J. R. C.; MORAES, E. B.; NEVES, D. L.; RIBEIRO, G. C. **Eficiência de tiofanato metílico e fluazinam no controle do mofo branco em soja**. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 40.,

2007, Maringá, PR. Anais... Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 299.

SILVA S. M; MACHADO J. C. Metodologia de inoculação e comportamento de alguns cultivares de soja (*Glycine max* L.), em relação a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: FITOPATOLOGIA BRASILEIRA, 1989. **Resumos...** ref. 14-118., 1989.

VUONG , T. D., HOFFMAN, D. D., DIERS, B. W., MILLER, J. F., STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of Soybean, Dry Bean, and Sunflower for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 777–783, 2004.

YAMASHITA, J.; NASSER, L.; ALMEIDA, A.M.R.; MACHADO, C.C.; FERREIRA, L.P. Ocorrência da fase perfeita do fungo *Whetzelinia sclerotiorum* (Lib.) Korf & Dumont, em lavouras de soja no Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, v.3, p.109, 1978.

CAPÍTULO 4 - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM ESTUDOS DE CONTROLE DO MOFO BRANCO DE PLÂNTULAS DE SOJA EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO – Causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, o mofo branco tem se tornado uma doença importante para a cultura da soja em muitas regiões brasileiras. Os sintomas de mofo branco na cultura da soja iniciam-se a partir de lesões aquosas formando abundante micélio. Os tecidos infectados apodrecem em consequência da ação das diversas toxinas produzidas pelo patógeno. A ausência de resistência varietal e a inviabilidade dos fungicidas principalmente pelo alto custo e contaminação ao meio ambiente tornam os produtos à base de microrganismos, uma alternativa segura e sustentável ao controle da doença. Entretanto, ainda há dificuldade de se obter um método de inoculação de *S. sclerotiorum*, que some facilidade, resultados positivos e repetibilidade. Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar metodologias de inoculação artificial, reação de cultivares, bem como, a efetividade de produtos químicos e biológicos no controle da doença em plântulas de soja cultivada em vasos em casa de vegetação. As avaliações foram através da porcentagem de plântulas mortas. Independente do isolado, o método de inoculação artificial dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno e depositados em sulco de semeadura apresentou as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas, portanto a maior eficácia no desenvolvimento dos sintomas da doença. Dentre as cultivares, a M 8330 IPRO apresentou maior resistência à doença pela menor porcentagem de plântulas mortas obtidas. Já em relação ao controle, o bioproduto a base de metabólitos *Trichoderma harzianum* foi o mais eficaz na redução da severidade da doença.

Palavras-chaves: *Trichoderma harzianum*; metabólitos de *Trichoderma harzianum*; *Glycine max*; controle biológico; mofo branco

1. INTRODUÇÃO

Desde que a soja foi introduzida no Brasil, houve crescente expansão em produção e área de cultivo. Na safra de 2014/15 a produção nacional de grãos de

soja foi de 95,07 milhões de toneladas (CONAB, 2015). Todavia fatores abióticos e bióticos afetam a produtividade. Entre os fatores bióticos, destacam-se as doenças como um dos principais que limitam a produção. Há cerca de 40 doenças que afetam a cultura da soja, entre elas, o mofo branco, que recentemente tem sido destaque pelos prejuízos causados.

Os sintomas de mofo branco na cultura da soja iniciam-se a partir de lesões aquosas de onde crescem as hifas, formando abundante micélio. Os tecidos infectados apodrecem em consequência da ação das diversas toxinas produzidas por *S. sclerotiorum*. Nessa fase, pode ser observado o apodrecimento de hastes laterais, vagens e folhas, ou mesmo a haste principal, com morte de toda planta (GRAU; RADKE, 1984). A capacidade de formar estruturas de resistência (escleródios) garante a sobrevivência do patógeno por vários anos, mesmo em condições adversas, limitando a utilização de práticas de controle como a rotação de culturas. Segundo Adams e Ayres (1979), na ausência de hospedeiro suscetível, o fungo pode persistir no solo em forma de escleródios por até 8 anos.

O controle da doença através da aplicação de fungicida via água de irrigação por aspersão é utilizada por muitos agricultores. O controle químico deve ser preferencialmente de forma preventiva, como o tratamento de sementes com fungicidas que é efetuado para controlar as infecções no momento da germinação (CARVALHO; CHIAVEGATO, 2006). Alternativo a isso, o uso do controle biológico na agricultura é uma opção, cujas práticas contemplam a conservação dos recursos naturais (SIVAN; CHET, 1992).

Dentre as medidas de controle desse patógeno, a obtenção de cultivares resistentes é a mais eficaz pela redução dos custos de produção e dos danos causados ao ambiente. No entanto, a obtenção de cultivares resistentes têm sido dificultada pela baixa resistência apresentada pelo germoplasma disponível e pela eficiência limitada dos métodos de inoculação empregados (CARNEIRO, 2013).

Diante da importância da cultura e da doença, objetivou-se inicialmente escolher dentre algumas metodologias de inoculação artificial do patógeno em plântulas de soja a mais promissora, para utilização em experimentos conduzidos, em casa de vegetação, para avaliar a reação de cultivares e efetividade de produtos químicos e biológicos no controle da doença.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos durante o outono/inverno de 2013 e 2014 e, primavera/verão de 2013/14 e 2014/15 em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal/SP, UNESP. Foram instalados experimentos em vasos, desenvolvidos em três etapas, sendo: Etapa 1 = Metodologias de inoculação artificial de *S. sclerotiorum*, Etapa 2 = Reação de cultivares à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* e Etapa 3 = Controle à inoculação artificial de *S. sclerotiorum*. Ressalta-se, que cada etapa envolveu dois experimentos referentes às épocas.

2.1. Etapa 1. Metodologias de inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Para a colonização do patógeno *S. sclerotiorum* foram utilizadas placas de Petri contendo o meio de cultura batata, dextrose e ágar (BDA). Dois isolados de *S. sclerotiorum* foram testados, sendo o primeiro coletado de plantas infectadas de tomate e o segundo de soja. Os mesmos foram mantidos através de sucessivas repicagens e também pela germinação de escleródios em placas de Petri em BDA. As placas de Petri foram incubadas em câmara de germinação com temperatura ajustada para $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica até a formação de escleródios.

A cultivar de soja AS38 IPRO foi utilizada para compor esta etapa devido a melhor qualidade fisiológica da semente e maior porcentagem de plântulas normais obtida nos testes de germinação e de emergência de plântulas em areia em relação as demais cultivares testadas.

Em casa de vegetação, foram utilizados vasos de plásticos com cinco litros de capacidade. Para o preenchimento dos vasos, utilizou-se de um solo Latossolo Vermelho eutroférico textura argilosa coletado da área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa e Extensão da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal/SP, UNESP, situado a $21^{\circ}19'$ de latitude Sul, $47^{\circ}33'$ de longitude Oeste e 616 m de altitude. Assim, foi efetuada artificialmente a inoculação dos dois isolados (isolado de plantas de tomate e isolado de plantas de soja) por três

métodos de inoculação propostos e descritos a seguir: 1) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em sulco de semeadura, proposto por Balardin e Rubin (1999). Na inoculação foram depositados dez grãos de sorgo em sulco de semeadura cobrindo-os em seguida com fina camada de solo. 2) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em plântulas normais: dois grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados no colo da planta sem ferimento e, 3) método dos grãos de sorgo colonizados com o patógeno em plântulas com ferimento: dois grãos de sorgo colonizados com o patógeno no colo da planta com ferimento. As plântulas com e/ou sem ferimentos foram inoculadas no estágio fenológico V1 (FEHR; CAVINESS; 1977). Ressalta-se que os ferimentos foram efetuados artificialmente no colo das plântulas com estilete esterelizado. Para efeito da testemunha utilizou-se grãos de sorgo não colonizados com o patógeno. Os vasos foram irrigados diariamente, mantendo-os úmidos. Devido à alta agressividade do patógeno causando precoce morte das plântulas, foi efetuada apenas uma avaliação de incidência do mofo branco no sétimo dia após a inoculação, avaliando-se a porcentagem de plântulas mortas.

2.2. Etapa 2. Reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum*

De posse dos melhores resultados quanto ao isolado, bem como, a metodologia de inoculação mais eficaz para a reprodução dos sintomas da doença foi conduzida a Etapa 2, que consistiu na reação de cultivares de soja à inoculação artificial de *S. sclerotiorum* nas mesmas condições de casa de vegetação. Para isso, foram utilizadas dez cultivares comerciais de soja: M 8330 IPRO, AS 38 IPRO, NS 7300 IPRO, SYN 1157 RR, SYN7059 RR, SYN 1163 RR, BMX Potência RR, BMX Pampa RR, TMG 1182 RR e Emgopa 316. A metodologia utilizada para os experimentos foi semelhante a já descrita na Etapa 1.

2.3. Etapa 3. Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*

Com base nos resultados obtidos na etapa anterior referente ao estudo de reação de cultivares, foram selecionadas duas cultivares pelo padrão de resistência e suscetibilidade aos sintomas da doença.

Para o controle, além da testemunha que constou apenas de água destilada e esterilizada foram utilizados cinco produtos: o Trichodermil, à base de *Trichoderma harzianum*, cedido pela empresa Koppert; o Ecotrich, à base de *T. harzianum*, cedido pela empresa Ballagro; produto em fase de teste à base de metabólitos de *T. harzianum*; o Nemix, à base de *Bacillus subtilis*, cedido pela empresa FMC agrícola e o Cercobin (tiofanato metílico), fungicida do grupo dos benzimidazois, cedido pela empresa Ihara. Todos os produtos foram utilizados nas concentrações recomendadas pelos fabricantes. A metodologia da inoculação artificial de *S. sclerotiorum* foi a mesma já descrita para as etapas 1 e 2, porém em relação aos produtos, esses foram testados apenas por tratamento de sementes.

Nas três etapas, os experimentos foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizados com cinco repetições para a etapa 1 e quatro repetições para as etapas 2 e 3. A unidade experimental contou-se de um vaso com dez sementes. Os dados referentes às porcentagens de plântulas mortas foram transformados em raiz de $x + 0,5$ e submetidos à análise de variância pelo teste F e em seguida as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, seguindo-se o esquema fatorial através do software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na etapa 1, devido a condições de temperatura próximas a ideal para o desenvolvimento do patógeno, no outono/inverno de 2013 houve maior severidade da doença em relação a primavera/verão de 2014, porém em ambas as épocas, os isolados não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação as médias de porcentagem de plântulas mortas obtidas. De acordo com os dados agrometeorológicos obtidos pelo Ciiagro (2015), durante os períodos de outono/inverno de 2013 e primavera/verão de 2014, as temperaturas médias observadas foram de 20° C e 25° C respectivamente. Vários estudos demonstraram que temperaturas superiores a 30°C e temperaturas com valores inferiores a 10°C podem prejudicar o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*, retardando ou até mesmo

cessando o desenvolvimento e o processo de infecção (WEISS; KERR; STEDMAN, 1980; ABAWI; GROGAN, 1979; HANNUSCH; BOLAND, 1996; HIKISHIMA; GERALDINE; LOBO JR, 2010).

Considerando os métodos de inoculação, para ambas as épocas os grãos de sorgo colonizados com o patógeno e depositados em sulco de semeadura apresentou as maiores médias de plântulas mortas (Tabela 1). Na maioria das vezes, observou-se que esse método ocasionou abundante crescimento micelial no tegumento das sementes apodrecendo-as logo após a semeadura e resultando assim em plântulas não germinadas. Segundo Paula Júnior et al. (2010), sementes infectadas com *S. sclerotiorum* podem apodrecer e não germinar, sobre as quais formaram-se os escleródios. Aquelas que germinam, na maioria das vezes, originam plantas doentes, indicando que a presença de micélio dormente nas sementes infectadas tem grande importância não só na disseminação do fungo, como também contribui para aumentar a intensidade da doença no campo, caso ocorra a transmissão da semente para a planta.

Tabela 1. Porcentagem de plântulas mortas com diferentes isolados e métodos de inoculação nos experimentos conduzidos em casa de vegetação no Outono/Inverno de 2013 e Primavera/Verão de 2013/14.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Outono/inverno de 2013	Primavera/verão de 2013/14
Isolados (I)		
Tomate	30,00 a	20,34 a
Soja	31,77 a	23,01 a
Testemunha	0,00 b	0,00 b
F	34,89**	31,40**
Métodos de Inoculação (M)		
Grãos de sorgo/sulco	60,00 a	38,96 a
Grãos de sorgo/plantas com ferimentos	1,77 b	4,38 b
Grãos de sorgo/plantas normais	0,00 b	0,00 b
F	114,91**	90,32**
Teste F IxM	27,48**	24,05**
CV (%)	19,23	60,19

⁽¹⁾Médias (5 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Os métodos de inoculação em que os grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados no colo de plântulas com e sem ferimentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas (Tabela 1). Fischer et al. (2014), estudaram o efeito da temperatura e reação de genótipos de quiabeiro ao mofo branco e verificaram que não houve diferenças estatísticas significativas nas temperaturas avaliadas entre os isolados, assim como entre a inoculação com ou sem fermento na ocorrência da doença, exceto na temperatura de 20°C entre os isolados na inoculação com fermento. Segundo Pratt (1991), alguns métodos de

inoculação podem exigir ferimentos nos sítios de inoculação para que ocorra viabilidade de infecção, o que não ocorreu no presente estudo.

Para a mesma etapa, verificou-se diferenças estatísticas significativas na interação dos isolados e métodos de inoculação nas épocas de outono/inverno de 2013 e primavera/verão de 2013/14 (Tabelas 2 e 3). No geral, o método de inoculação em que os grãos de sorgo colonizados com o patógeno foram depositados em sulco de semeadura apresentou as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas independente do isolado testado.

Tabela 2. Desdobramento dos isolados vs métodos de inoculação em porcentagem de plântulas mortas de experimento conduzido em casa de vegetação no outono/inverno de 2013

Tratamentos	Métodos de Inoculação			F
	Grãos de sorgo/sulco	Grãos de sorgo/plantas com ferimento	Grãos de sorgo/plantas normais	
Isolados				
Tomate	90,00 Aa	0,00 Ba	0,00 Ba	860,85**
Soja	90,00 Aa	0,00 Ba	5,31 Ba	813,03**
Testemunha	0,00 Ab	0,00 Aa	0,00 Aa	-
F	860,85**	-	3,00NS	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Tabela 3. Desdobramento dos isolados vs métodos de inoculação em porcentagem de plântulas mortas de experimento conduzido em casa de vegetação na primavera/verão de 2013/2014

Tratamentos	Métodos de Inoculação			F
	Grãos de sorgo/sulco	Grãos de sorgo/plantas com ferimento	Grãos de sorgo/plantas normais	
Isolados				
Tomate	61,02 Aa	0,00 Ba	0,00 Ba	82,01**
Soja	55,88 Aa	0,00 Ba	13,15 Ba	56,40**
Testemunha	0,00 Ab	0,00 Aa	0,00 Aa	-
F	75,69**	-	3,81*	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

A patogenicidade dos isolados está relacionada aos níveis de ácido oxálico. Há relatos de mutantes de *S. sclerotiorum*, deficientes na produção de ácido oxálico que não são patogênicos, fato que pode ser atribuído a diminuição das enzimas que degradam a parede celular (GODOY et al., 1990), ou que permitem a planta se defender ao ataque do fungo (WILLIAMS et al., 2011)

Na etapa 2, em que se estudou a reação de cultivares à *S. sclerotiorum* em casa de vegetação (Tabela 4), na primavera/verão de 2013/2014, o isolado de soja apresentou maior patogenicidade em relação ao isolado de tomate promovendo maior porcentagem de plântulas mortas.

Tabela 4. Porcentagem de plântulas mortas obtidos nos experimentos de reação de cultivares à inoculação pelo método dos grãos de sorgo colonizados por *Sclerotinia sclerotiorum* e depositados em sulco de semeadura de vasos em condições de Casa de Vegetação, na primavera/verão de 2013/2014 e outono/inverno de 2014.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Primavera/verão de 2013/14	Outono/Inverno de 2014
Isolados (I)		
Tomate	63,23 b	76,82 a
Soja	72,45 a	81,27 a
Testemunha	23,72 c	23,67 b
F	219,23**	286,38**
Cultivares (C)		
M 8330 IPRO	37,30 c	47,99 b
AS 38 IPRO	48,50 bc	58,15 ab
NS 7300 IPRO	56,06 ab	63,51 ab
SYN 1157 RR	52,19 ab	59,57 ab
SYN 7059 RR	61,10 ab	61,90 ab
SYN 1163 RR	53,30 ab	63,83 a
BMX Potência RR	36,77 c	57,78 ab
BMX Pampa RR	58,89 ab	69,96 a
TMG 1182 RR	63,78 a	64,67 a
Emgopa 316	63,46 a	58,46 ab
F	9,44**	2,82**
Teste F IxC	2,48**	1,15NS
CV (%)	20,81	19,76

⁽¹⁾Médias (4 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Em relação às cultivares, M 8330 IPRO e BMX Potência RR apresentaram as menores médias de porcentagem de plântulas mortas, portanto maior resistência a *S. sclerotiorum* em relação as demais cultivares testadas. No entanto, as cultivares TMG 1182 RR e Emgopa 316 RR apresentaram maior suscetibilidade à doença. Calla, et al. (2009), afirmaram que em muitas plantas incluindo a soja, a resistência genética completa não existe.

Na mesma época (primavera/verão de 2013/2014) foram observadas diferenças estatísticas significativa no desdobramento dos isolados e cultivares (Tabela 5). As cultivares SYN 1157 RR e BMX Pampa RR apresentaram as maiores médias de porcentagem de plântulas mortas quando inoculadas respectivamente com os isolados provenientes de plantas infectadas de soja e tomate, porém em geral o isolado de soja foi o mais patogênico, dadas as altas porcentagens de plântulas mortas obtidas nas cultivares de soja estudadas.

Segundo Boland e Hall (1987), os resultados quanto a avaliação de resistência de cultivares em experimentos conduzidos em condições de casa de vegetação e laboratório apresentaram pouca correlação com os resultados de experimentos conduzidos no campo. Porém de acordo com Nelson, Helms e Kural (1991), a detecção de resistência de cultivares em campo é dificultada devido a propensão das plantas escapar da infecção, pelo simples fato da infecção das flores

ocorrer antes da esporulação do patógeno ou até mesmo pela arquitetura das plantas mais aberta, facilitando a circulação do ar e a penetração de luz. Todavia, Russel (1978), afirma que a falta de correlação entre as diferentes condições, aumenta a evidência de trabalhos prévios, sugerindo que muitos experimentos em casa de vegetação e laboratórios devam ser exaustivamente testados para que um método possa ser considerado confiável para a correta identificação e caracterização da resistência no campo.

Tabela 5. Desdobramento dos isolados vs cultivares da porcentagem de plântulas mortas de experimento conduzido em casa de vegetação na primavera/verão de 2013/2014.

Tratamentos	Isolados			F
	Tomate	Soja	Testemunha	
Cultivares				
M 8330 IPRO	42,96 Bb	62,30 BCa	6,64 Dc	26,12**
AS 38 IPRO	68,4 Aa	62,67BCa	14,41 BCDB	28,77**
NS 7300 IPRO	71,56Aa	76,17 Aba	20,46 BCDB	31,26**
SYN 1157 RR	74,14 Aa	69,53 ABCa	12,91 CDb	38,03**
SYN 7059 RR	62,14 ABb	85,39 ABa	35,78 ABCc	20,15**
SYN 1163 RR	62,14 Aba	71,56 ABCa	26,19 ABCDB	18,75**
BMX Potência RR	52,55 Aba	46,50 Ca	11,25 CDb	16,28**
BMX Pampa RR	64,17 ABb	90,00 Aa	22,50 BCDc	37,94**
TMG 1182 RR	61,77 ABb	81,69 ABa	47,88 Ab	9,45**
Emgopa 316	72,47 Aa	78,75 Aba	39,16 ABb	14,80**
F	3,02**	5,44**	5,95**	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Para a mesma etapa, porém no outono/inverno de 2014, os isolado de tomate e soja não apresentaram diferenças estatísticas significativas em porcentagem de plântulas mortas (Tabela 4). Já em relação às cultivares, M 8330 IPRO novamente apresentou maior resistência a *S. sclerotiorum* em relação às demais. Ao contrário disto as cultivares SYN 1163 RR, BMX Pampa RR e TMG 1182 RR, apresentaram maior suscetibilidade de acordo com as altas médias de porcentagem de plântulas mortas obtidas (Tabela 4). Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Zito et al. (2006), que observaram em casa de vegetação e laboratório, respostas que variaram desde elevada resistência até completa suscetibilidade.

Na Tabela 6 estão discriminados os resultados referentes a etapa 3 em que estudou-se o controle do mofo branco em condições de casa de vegetação. Em ambas as épocas a cultivar TMG 1182 RR apresentou maior suscetibilidade em relação ao cultivar M 8330 IPRO, sendo que no outono/inverno de 2014 a porcentagem de plântulas mortas chegou aos 90% (Tabela 6). Já em relação aos

produtos, em geral o bioproduto a base de metabólitos produzidos pelo *T. harzianum* apresentou maior controle da doença em relação aos demais tratamentos testados.

Tabela 6. Avaliação da porcentagem de plantas mortas nos experimentos de controle de *Sclerotinia sclerotiorum* conduzidos em casa de vegetação no outono/inverno de 2014 e primavera/verão de 2014/2015.

Tratamentos	Porcentagem de plantas mortas	
	Outono/Inverno de 2014	Primavera/Verão de 2014/15
Cultivares (C)		
M 8330 IPRO	72,38 b	64,20 b
TMG 1182 RR	90,00 a	73,54 a
dms (5%)	5,68	7,39
F	39,50**	6,56*
Produtos (P)		
Nemix	82,07 ab	79,76 ab
Trichodermil	85,39 a	65,27 bc
Cercobin	81,23 ab	61,76 bc
Ecotrich	78,75 ab	69,69 abc
Metabólitos	69,69 b	51,34 c
Testemunha	90,00 a	85,39 a
F	3,97**	7,65**
Teste F CxP	3,97**	2,11NS
CV (%)	11,95	18,33

⁽¹⁾Médias (4 repetições) seguidas de letras diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

Juliatti et al. (2013), ranquearam cultivares de soja pela reação à *S. sclerotiorum* em diversos métodos de inoculação e observaram que a cultivar BRSMG Garantia foi suscetível, independente da localização do inóculo na planta, contrária da Emgopa 316 que na média geral do “ranking” caracterizou-se como o genótipo de maior resistência parcial ou horizontal. A resistência de cultivares de soja à *S. sclerotiorum* tem sido avaliada em condições de campo, casa de vegetação e laboratório, sendo observadas respostas que variam desde elevada resistência até completa suscetibilidade (BOLAND; HALL, 1987; WEGULO; YANG, MARTINSON; 1998).

Apenas na época de outono/inverno de 2014 foi detectada interação estatística significativa das cultivares e produtos testados (Tabela 6). Com exceção do Trichodermil e a testemunha que não diferiram significativamente em relação a mortalidade de plântulas nas cultivares testadas, os demais produtos apresentaram maior controle para o M 8330 IPRO (Tabela 7).

Pode-se observar para a mesma cultivar, que o produto a base de metabólitos produzidos pelo *T. harzianum* foi o mais eficaz no controle da doença pois reduziu a mortalidade de plântulas mortas.

Em relação a cultivar TMG 1182 RR, para todos os produtos as médias de porcentagem de plântulas mortas foram altas não diferindo do tratamento

testemunha, indicando que os tratamentos de controle foram ineficazes aos sintomas do mofo branco.

Tabela 7. Desdobramento dos cultivares vs produtos em porcentagem de plântulas mortas de experimento conduzido em casa de vegetação no outono/inverno de 2014.

Tratamentos Cultivares	Produtos						F
	Nemix	Trichodermil	Cercobin	Ecotrich	Metabólitos	Testemunha	
M 8330 IPRO	74,14 ABb	80,78 ABa	72,47 ABb	67,50 BCb	49,38 Cb	90,00 Aa	7,95**
TMG 1182 RR	90,00 Aa	90,00 Aa	90,00 Aa	90,00 Aa	90,00 Aa	90,00 Aa	-
F	5,33*	1,80NS	6,51*	10,74**	34,98**	-	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em raiz de $x+0,5$.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

O melhor método de inoculação é o de grãos de sorgo colonizados com o patógeno e depositados em sulco de semeadura.

O isolado proveniente da cultura da soja é o que apresenta a maior patogenicidade da doença.

Dentre as cultivares, a M 8330 IPRO é a que apresenta maior resistência à doença.

O bioproduto a base de metabólitos de *Trichoderma harzianum* é o mais eficaz na redução da mortalidade de plântulas.

5. REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 899-900, 1979.

ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v.69, p.896-899, 1979.

BALARDIN, R.S.; RUBIN, S.A.L. Reação de germoplasma de soja à *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina PR. **Anais...** Londrina PR: Embrapa Soja, 1999.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **AgroEstat** – sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. versão 1.0. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2011.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Growthroom evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 66, p. 559-564, 1987.

CALLA, B.; VUONG, T.; RADWAN, O.; HARTMAN, G.L.; CLOUGH, S.J. Gene expression profiling soybean stem tissue early response to *Sclerotinia sclerotiorum* and in silico mapping in relation to resistance markers. **The Plant Genome**, Madison, v.2, n.2, p.149-166, 2009.

CARNEIRO, F.F. **Estratégias visando a seleção de linhagens de feijão resistentes ao mofo branco**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras. Lavras MG. 2013.

CARVALHO, L. H.; CHIAVEGATO, E. J. Semeadura adensada incrementa produção e reduz custos. **Visão agrícola**. n. 6, p. 88-90, jul./dez. 2006.

CIIAGRO/IAC. **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas/ Instituto Agrônomo de Campinas**. Disponível em: <http://www.ciiagro.sp.gov.br> Acesso em: 13/09/2015.

CONAB. **Oitavo Levantamento da Safra de Grãos 2014/2015**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf> Acesso em: 21/05/2015.

FEHR, W.R., CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80).

FISCHER, I.H.; FILETTI, M.S.; CRUZ, J.C.S.; JÚNIOR BUENO, C.. Efeito da temperatura e reação de genótipos de quiabeiro ao mofo branco. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.49-53, 2014.

GODOY, G., STEADMAN, J.R., DICKMAN, M. B e DAM, R. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. **Physiol. Mol. Plant Pathol.** V.37, p. 179-191, 1990.

GRAU, C.R.; RADKE, V.L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Plant Disease**, St. Paul, v.68, n.1, p.56-58, 1984.

HANNUSCH, D.J.; BOLAND, G.J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of White mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Phytopathology** 86:156-162. 1996.

HIKISHIMA, M; GERALDINE, A. M.; LOBO JR., M. Influência da temperatura e do período de molhamento foliar no desenvolvimento de mofo branco em feijão. In: Workshop de Epidemiologia de Doenças de Plantas, 3, 2010, Bento Gonçalves. **Anais do III Workshop de Epidemiologia de Doenças de Plantas**, Bento Gonçalves, RS, 2010.

JULIATTI, F.C.; CRATO, F.F.; JULIATTI, FA.C.; COUTO, K.R.; JULIATTI, B.C.M. 2013. Diagramatic scale for the evaluation of white mold on soybean = Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal** 29: 676- 680

NELSON, B. D., HELMS, T. C.; KURAL, I. 1991. Effects of temperature and pathogen isolate on laboratory screening of soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Science**. Vol. 71:347-352.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R.F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M.A.B.; CARNEIRO, J.E.S. Mofo branco. In: PRIA, M.D.; SILVA, O.C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. Cap. 6 e 7.

PRATT, R. G. Differential responses of alfalfa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 188-191, 1991.

RUSSEL, G. E. 1978. **Plant Breeding for Pest and Disease Resistance**. Butterworths. London and Boston. 485 p

SIVAN, A.; CHET, I. 1992. Environmental Microbiology: **Microbial control of plant diseases**. Editora Wiley-Liss, New York, NY. 335-354.

WEGULO, S. N.; YANG, X. B.; MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, p. 1264-1270, 1998.

WEISS, A.; KERR, E. D.; STEDMAN, J. R. Temperature and moisture influences on development of white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) on Great Northern beans. **Plant Disease**, v. 64, p. 757-759, 1980.

WILLIAMS, B.; KABBAGE, M.; KIM, H.; BRITT, R.; DICKMAN, M. B. Tipping the balance: *Sclerotinia sclerotiorum* secreted oxalic acid suppresses host defenses by manipulating the host redox environment. **PLoS Pathogens**, v. 7, p.1-10, 2011.

ZITO, R.K.; WRUCK, D.S.M; FRONZA, V; ARANTES, N.E. Reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*. In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, 27., 2005, Cornélio Procópio. **Anais da Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil**. Cornélio Procópio: Embrapa Soja, 2006. P. 362.