

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**USO DE FOSFITOS PARA O CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E
Sclerotium rolfsii in vitro**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Acadêmica: Thaís Trindade Viçosa
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Renata Silva Canuto de Pinho**

**Itaqui, RS, Brasil
2015**

THAÍS TRINDADE VIÇOSA

**USO DE FOSFITOS PARA O CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E
Sclerotium rolfsii in vitro**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientadora: Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho.

**Itaqui, RS, Brasil
2015**

V864u

Viçosa Trindade, Thaís

Uso de fosfitos para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii in vitro* / Thaís Trindade Viçosa. Dezembro de 2015.

Número de folhas: 45p.; tamanho (30 cm)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) Universidade Federal do Pampa, Dezembro de 2015. Orientação: Renata Silva Canuto de Pinho.

1. Controle de fitopatógenos . 2. Fosfitos. 3. *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* I. Pinho, Renata. II. Utilização de fosfitos no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

THÁIS TRINDADE VIÇOSA

**USO DE FOSFITOS PARA O CONTROLE DE *Sclerotinia sclerotiorum* E
Sclerotium rolfsii in vitro**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Agronomia da Universidade Federal do
Pampa (UNIPAMPA), como requisito
parcial para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 03 de Dezembro de
2015.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho
Orientadora
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof. Dr. Paulo Jorge de Pinho
Curso de Agronomia – UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a Luciana Zago Ethur
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Ao meu filho Daniel, fonte inesgotável de amor; Aos meus pais Tanira e Anselmo, exemplo e inspiração e ao meu companheiro Ricardo pelo apoio e compreensão, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Tanira e Anselmo, pela educação, amor e carinho que sempre dedicaram. Agradeço também pelo apoio e incentivo aos estudos, sem medirem esforços.

A minha orientadora, prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho, pela paciência, dedicação, incentivo e ensinamentos na condução desse trabalho, contribuindo significativamente para meu aprendizado.

A todos os demais professores da UNIPAMPA, que contribuíram de forma direta ou indireta para minha formação profissional.

Aos colegas Ketlen e Joaquim, pelo auxílio e disponibilidade na condução dos experimentos.

A todos os colegas de graduação, os quais tive a oportunidade de conhecer e conviver, construindo grandes amizades.

Ao meu companheiro Ricardo e nosso filho Daniel, presente em todos os momentos da minha vida.

Aos demais membros da minha família, pelo apoio, carinho e amizade.

*Muito obrigada
a todos que fazem
parte dessa conquista...*

“Não creiais que aquilo que não lograis seja negativa do Senhor; antes considerai que a dificuldade de agora é a melhor solução para as necessidades vigentes. Amanhã entenderéis melhor o que hoje vos constitui incógnita.” (Bezerra de Menezes)

RESUMO

Doenças como o mofo branco e a podridão por esclerócio, causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, respectivamente, são consideradas de natureza severa, abrangendo centenas de culturas hospedeiras de relevância econômica, sendo responsáveis por grandes perdas na produção agrícola mundial. No entanto, nenhum método de controle isolado é eficaz e o uso prolongado de fungicidas pode resultar em novas raças de patógenos. Nesse sentido, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de fosfitos em testes de fungitoxidade e produção de escleródios *in vitro* para os fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*. Os experimentos foram montados em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto de seis tratamentos e cinco repetições para cada fungo, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri. Foram utilizados discos de 5 mm de micélio de cada fungo, provenientes de colônias de quatro dias de crescimento. Os discos foram transferidos para as placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) e adicionados os tratamentos: 3 mL L⁻¹ de Reforce[®] (fosfito de potássio), 5 mL L⁻¹ de Reforce Cu[®] (fosfito de potássio+ cobre), 3 mL L⁻¹ de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco), 3 mL L⁻¹ de Yantra[®] (fosfito de potássio) e 5 mL L⁻¹ de Fulland[®] (fosfito de cobre), mantidos em câmara climatizada em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h por 4 dias. Foram avaliados o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de acordo com a média do diâmetro da colônia, mensurado em intervalos de 24 h. Para o fungo *S. rolfsii* foi contabilizado o número de escleródios após 15 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de média Tukey a 5%. O tratamento Reforce Zn[®] apresentou mais de 95% de controle no IVCM do fungo *S. sclerotiorum*, enquanto que para o fungo *S. rolfsii* apresentou 93%. Mesmo depois de 15 dias não houve produção de escleródios para o tratamento Reforce Zn[®]. Após confirmada a ação fungistática do fosfito Reforce Zn[®], foram testadas as doses 0 (testemunha), 2, 4, 6 e 8 mL L⁻¹, sendo os dados posteriormente submetidos a análise de regressão. Foi observado que doses superiores a 4 mL L⁻¹ inibem o crescimento micelial de ambos os fungos. Diante dos resultados encontrados, conclui-se que o fosfito de zinco pode ser uma forma alternativa para o controle de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*.

Palavras-Chaves: controle alternativo; fertilizante foliar; ação fungistática.

ABSTRACT

Diseases such as white mold and rot by sclerotia, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*, respectively, are considered severe nature, covering hundreds of host crops of economic importance, being responsible for major losses in agricultural production worldwide. However, no single control method is effective and long term use of fungicides can result in new races of pathogens. In this sense, the objective of this study was to evaluate the efficiency of phosphite fungitoxic testing and production of sclerotia in vitro to fungi *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii*. The experiments were set up in completely randomized design, with six treatments and five replications for each fungus, and the experimental unit consisting of a Petri dish. 5 mm mycelial discs were used for each fungus, from four days of growth colonies. The disks were transferred to petri dishes containing PDA (potato dextrose agar) and added the following treatments: 3 mL L⁻¹ Reforce[®] (potassium phosphite), 5 mL L⁻¹ of Reforce Cu[®] (potassium phosphite + copper), 3 mL L⁻¹ Reforce Zn[®] (zinc phosphite), 3 mL L⁻¹ of Yantra[®] (potassium phosphite) and 5 mL L⁻¹ of Fulland[®] (copper phosphite), kept in climate-controlled chamber at 25°C and photoperiod of 12 hours for 4 days. They evaluated the mycelial growth rate index (MIGS) according to the average of the colony diameter, measured in 24-h intervals. For the fungus *S. rolfsii* was recorded the number of sclerotia after 15 days. The data were submitted to ANOVA and Tukey test average of 5%. The Enforce Zn[®] treatment showed over 95% control of the fungus *S. sclerotiorum* MIGS, while for the fungus *S. rolfsii* showed 93%. Even after 15 days there was no production of sclerotia for the treatment Reforce Zn[®]. After confirmed the fungistatic action of phosphite Reforce Zn[®] the doses tested were 0 (control), 2, 4, 6 and 8 mL L⁻¹, and the later submitted data regression analysis. It was observed that doses higher than 4 mL inhibiting the mycelial growth of both fungi. Considering the results, it is concluded that zinc phosphite can be an alternative way to control *S. sclerotiorum* and *S. rolfsii*.

Key Words: alternative control; foliar fertilizer; fungistatic action.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com a formação de apotécios, e sintomas do mofo branco em feijoeiro comum.	16
Figura 2 - Escleródios de <i>Sclerotium rolfsii</i> formados sobre o solo, e morte da planta do feijoeiro após ocorrência da murcha de esclerócio.	20
Figura 3 – Ilustração do modo de ação do fosfito na presença e na ausência do patógeno.	23
Figura 4 – Placa de Petri exibindo crescimento micelial e produção de escleródios do fungo <i>Sclerotium rolfsii</i>	27
Figura 5 - Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotium</i> com tratamento Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) em relação à Testemunha.	29
Figura 6 - Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotium rolfsii</i> com tratamento Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) em relação à Testemunha.	31
Figura 7 – Efeito das diferentes doses de Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	33
Figura 9 - Efeito das diferentes doses de Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	35
Figura 10 - Crescimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i> em diferentes doses de Reforce Zn [®] (fosfito de zinco)	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos utilizados nos testes <i>in vitro</i>	26
Tabela 2 – Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	30
Tabela 3 – Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do fungo <i>Sclerotium rolfsii</i>	31
Tabela 4 – Efeito dos fosfitos na produção de escleródios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Fungos como agente causal de doenças em plantas.....	15
2.1.2 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	15
2.1.2.1 Controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	18
2.1.3 <i>Sclerotium rolfsii</i>	19
2.1.3.1 Controle de <i>Sclerotium rolfsii</i>	21
2.2 Fosfitos no controle de doenças	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>	25
3.2 Teste de fungitoxidade <i>in vitro</i>	25
3.2.1 Efeito dos fosfitos de cobre, zinco e potássio no crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>	25
3.2.2 Efeito dos fosfitos sobre a produção de escleródios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	27
3.2.3 Efeito das diferentes doses do tratamento Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Inóculo de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>	29
4.2 Fungitoxidade <i>in vitro</i> de fosfitos aos fungos <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i>	29
4.2.1 Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	29

4.2.2 Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Sclerotium rolfsii</i>	30
4.2.3 Efeito dos fosfitos sobre a produção de escleródios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	32
4.2.4 Avaliação das diferentes dosagens de Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	33
4.2.5 Avaliação das diferentes doses de Reforce Zn [®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	34
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Diante das perspectivas da agricultura moderna, o controle de fitopatógenos é considerado o fator mais importante e ao mesmo tempo desafiador, haja vista que sem o devido controle, as doenças em plantas causam sérios prejuízos, afetando sua produtividade. A minimização dos danos, associada à redução dos custos de produção e aumento da produtividade baseado na sustentabilidade, são estratégias que requerem diagnose precisa e preventiva de agentes causais de doenças em plantas (BOTELHO, 2011).

O controle químico é um dos métodos mais utilizados contra os fitopatógenos, embora conseqüentemente, apresente alta toxicidade tanto para o ambiente como para animais e humanos. Além disso, induzem resistência surgindo novas raças de patógenos. Devido aos efeitos nocivos expostos, o estudo de novas alternativas de baixo impacto para o controle de agentes causais de doenças em plantas vem ganhando espaço na agricultura (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2011; SCHURT, 2006).

Sclerotinia sclerotiorum e *Sclerotium rolfsii* são patógenos habitantes de solos, responsáveis por grandes perdas na produção agrícola, uma vez que ambos exibem extensa gama de culturas hospedeiras e ampla distribuição geográfica. Mudanças e substratos que não receberem algum tipo de tratamento são passíveis de serem infectados por esses patógenos, podendo ser um veículo de disseminação das doenças causadas pelos mesmos, o que torna o seu controle mais difícil e encarece o custo, até chegar ao ponto de se tornar inviável economicamente (SCHURT, 2006).

De acordo com Tormen (2014), o mofo branco, principal doença causada pelo patógeno *S. sclerotiorum* é responsável por até 30% de perda da produção agrícola, quando não tratadas corretamente. No Brasil seis milhões de hectares já apresentam a doença. Entretanto, as medidas de controle do patógeno devem ser tomadas em conjunto visando impedir a entrada do patógeno em áreas livres e reduzir as condições favoráveis a infecção, levando em conta que nenhuma prática de controle isolada é totalmente eficaz (TORMEN, 2014; PEREIRA et al., 2013).

O patógeno *S. rolfsii* é o responsável por causar a podridão por esclerócio em culturas como o alho e a cebola, doença a qual há relatos de perdas entre 10 a 65%

em países de clima frio, enquanto que países de clima tropical as perdas de produtividade podem atingir 100%. Sabe-se que este fungo é disseminado pelos escleródios, que permanecem viáveis por muitos anos no solo, sendo facilmente carregados pela irrigação, movimentos de implementos agrícolas e pessoas. Por ser um patógeno de difícil controle e a pressão da sociedade pela diminuição do uso de produtos químicos que causam efeitos nocivos ao ambiente, torna-se necessário a melhoria do manejo, a fim de testar novos produtos de baixa toxicidade e de efeito eficaz no controle de doenças causadas por ele (SOUSA, 2012).

O uso de produtos à base de fosfito tem apresentado crescimento progressivo nas atuais práticas agrícolas, uma vez que promovem efeitos como absorção e deslocamento rápido de nutrientes, exceto o fósforo, pois nenhuma enzima é capaz de oxidar fosfito em fosfato na planta. Embora registrados como fertilizantes foliares, o fosfito pode ser utilizado no controle e prevenção de doenças fúngicas, pela estabilidade da sua molécula. O mecanismo de ação atua diretamente sobre o patógeno e também indiretamente, na indução de defesa nas plantas, além de apresentarem taxas nulas de poluição e toxicidade ao meio ambiente (BARRETO, 2008; DALIO et al., 2012).

Nessas circunstâncias, esse trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência da utilização de diferentes formulações de fosfitos no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fungos como agente causal de doenças em plantas

No âmbito da fitossanidade, a ação de algumas doenças limita a produtividade, dificultando a expansão e até mesmo a manutenção de áreas de plantio em regiões favoráveis. Levando em consideração a importância econômica das culturas, a diagnose precisa e preventiva de agentes causais de doenças de plantas é uma medida cada vez mais indispensável na agricultura moderna, objetivando a redução dos custos de produção e praticar uma atividade agrícola sustentável (BOTELHO, 2011).

Os fungos causadores de doenças em plantas representam um grupo bastante numeroso e diversificado, tanto morfológicamente, quanto filogeneticamente. Para distingui-los de outros seres vivos, são reunidos em grupos, contendo características básicas (AMORIM et al., 2011).

Alexopoulos et al. 1996 apud AMORIM et al., 2011 definem as características básicas dos fungos fitopatogênicos, apresentadas por:

- talo eucariótico - membrana nuclear que envolve o material genético da célula;
- heterotrofismo - todos os fungos, requerem carbono orgânico na sua nutrição;
- absorção de nutrientes - absorção feita através da parede celular das hifas;
- formação de esporos - unidades reprodutivas, que funcionam como seus propágulos.

Nesse contexto, se justifica o estudo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, pois caracterizam-se como os mais inespecíficos dentro do grupo dos fitopatogênicos, sendo patogênicos a inúmeras culturas.

2.1.2 *Sclerotinia sclerotiorum*

Sclerotinia sclerotiorum é um tipo de fungo de solo, pertencente à família Sclerotiniaceae, da ordem Helotiales e filo Ascomycota. É considerado um fitopatogêno de grande importância, sendo o causador do mofo branco, acometendo mais de 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies de plantas. Dentre as culturas

hospedeiras mais importantes, encontram-se a soja, o feijão, o girassol, o algodão, o tomate industrial, a batata além de outras hortaliças. Caracteriza-se como o mais inespecífico dentro do grupo de fitopatógenos, distribuindo-se mundialmente (BOLAND; HALL, 1994; BOTELHO, 2011; FURLAN, 2010).

Mofo branco ou podridão branca é a doença mais conhecida causada pelo fungo *S. sclerotiorum*. Sendo assim denominada em função dos sintomas e sinais externos apresentados. A doença afeta a base da planta, o que resulta no apodrecimento do caule e das folhas próximas ao solo. O primeiro indício da presença da doença é a murcha na planta. Nas lesões observadas, percebe-se inicialmente um aspecto úmido, de coloração castanho-claro à escuro, e recobertas por um denso micélio branco e escleródios negros (Figura 1) (HENNEBERG, 2011; TÖFOLI et al., 2014).



Fonte: LOBO JUNIOR, Ageitec – EMBRAPA/DF

Figura 1 - Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* com a formação de apotécios, e sintomas do mofo branco em feijoeiro comum.

S. sclerotiorum sobrevive no solo por até 11 anos, mantendo sua patogenicidade na forma de escleródios produzidos como estruturas de resistência. A sobrevivência dos escleródios está relacionada a fatores como atributos do solo, pH, cultura anterior, localização no perfil do solo e presença de micro-organismos que causam sua degradação. Quando presentes no solo, os escleródios podem ser disseminados pelo vento, água e implementos agrícolas (TÖFOLI et al., 2014; LEITE, 2005).

Para Beruski (2013) a intensidade dos sintomas causados por *S. sclerotiorum* podem variar conforme o hospedeiro e a região acometida pela infecção, levando em conta as condições climáticas que estão relacionadas ao seu desenvolvimento.

Os danos mais severos causados pelo mofo branco, geralmente são observados em lavouras conduzidas sob temperaturas baixas e excesso de precipitação, e ainda em áreas irrigadas por sistema de pivô central, os quais configuram as condições necessárias para o desenvolvimento do fungo em questão. Nesta situação, como consequência ocorre a diminuição da produção agrícola (OLIVEIRA, 2005; ALMEIDA et al., 2005).

As perdas em determinadas culturas em decorrência do mofo branco, atingem milhões de dólares anualmente, sendo estas, diretamente relacionadas com a perda de rendimento da cultura e /ou indiretamente, reduzindo a qualidade da semente. Somado a isso, há também perdas atribuídas às tentativas de controle do patógeno e ao “abandono” de áreas de cultivo de culturas de valor econômico para as culturas menos lucrativas ou que não geram lucros, afim de reduzir o inóculo do patógeno (PURDY, 1979 apud BERUSKI, 2013).

Conforme Leite (2005) as sementes funcionam como um importante veículo de disseminação de *S. Sclerotiorum*, pela presença de escleródios misturados a elas, ou pela existência de micélio nos tecidos internos. Na cultura do girassol é comum a frequência de contaminação de lotes de sementes com escleródios, pois essas estruturas normalmente tem o mesmo tamanho, forma e peso específico das sementes, dificultando a sua remoção na operação de limpeza.

De acordo com BRASIL (2009), portaria nº 47, de 26 de fevereiro de 2009, recomenda-se que lotes de sementes de soja que apresentarem um escleródio sejam recusados. Uma vez que cada semente produz mais que um escleródio, e que este pode produzir 20 apósporos com a capacidade individual de liberar 2.000.000 ascósporos em curto período de tempo. Assim, uma única semente pode produzir 2.000.000 focos de infecção (STEADMAN, 1984 apud HENNEBERG et al., 2011).

O fato de as sementes exercerem importante papel na disseminação das doenças causadas pelo patógeno em questão, torna-se fundamental a utilização de sementes certificadas e de procedência conhecida, como modo de prevenir o foco de infecção por esta via (KAWASAKI, 2010).

No Brasil, ainda não se comenta a existência de cultivares resistentes a *S. sclerotiorum*, e 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, todavia é o método mais indicado por meio de fungicidas, em função da rapidez de evolução da doença (GÖRGEN, 2009; OLIVEIRA, 2005).

2.1.2.1 Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*

A dificuldade de controlar o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* está associada a permanência de escleródios viáveis por um longo período no solo somado ao fato de que os ascósporos produzem infecção aérea mesmo com escleródios distantes. Para tanto, o controle mais eficaz é baseado em diversas medidas e práticas culturais (LEITE, 2005; TÖFOLI et al., 2014).

Para Furlan (2009) os controles químico e biológico de *S. sclerotiorum* requerem atenção do produtor, pois a eficiência depende da época e modo de aplicação, que deve ser realizado em áreas com o histórico e quando as condições forem favoráveis a doença, ou seja, na presença dos primeiros apotécios. A aplicação precisa alcançar as partes inferiores da planta e a superfície do solo, protegendo as flores.

Como forma de prevenção de doenças causadas pelo patógeno *S. sclerotiorum* é recomendado a utilização de sementes saudáveis, reduzir a irrigação nos períodos críticos, evitar o plantio em épocas com a incidência de alta umidade e temperatura baixa, incrementar no solo micro-organismos antagônicos como o *Trichoderma* spp., utilizar cobertura no solo com *Brachiaria* com rotação de outras culturas não hospedeiras e uso de fungicidas em tratamento de sementes e parte aérea (FURLAN, 2009; LEITE, 2005; TÖFOLI et al., 2014).

O controle biológico do fungo pode ser realizado com formulações de *Trichoderma* sp., aplicado em pré-plantio e utilizado combinado com outros métodos, buscando obter níveis de controle eficaz (TÖFOLI et al., 2014).

Extratos de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sábio grego (*Salvia fruticosa* Mill.) podem se tornar alternativas naturais para fungicidas sintéticos no controle de *S. sclerotiorum*. Esse efeito inibidor que ambas possuem como extrato etanólico da folha bruta sobre o crescimento micelial radial, bem como na produção de escleródios verificados *in vitro*, são eficazes, sendo que o extrato de alecrim é capaz de inibir totalmente a germinação e a produção de escleródios desse fungo (GOUSSOUS et al., 2013).

Arruda (2014) relata que muitas práticas são utilizadas para o controle de mofo branco, sendo que não são totalmente eficientes. Nesse contexto, ressalta que as plantas possuem mecanismos de defesa, podendo ser ativados por meio de aplicações de substâncias bióticas e abióticas, tais como, adubos foliares encontrados como fosfitos e o uso de herbicidas.

Desse modo o controle de *S. sclerotiorum* consiste em diversas medidas e práticas culturais, levando em conta que ainda não se sabe da existência de cultivares hospedeiras resistentes para esse patógeno, e nenhum controle químico ou biológico isolado é totalmente eficiente, requerendo atenção do agricultor na tomada de decisão para obter níveis desejáveis de controle não afetando a produtividade da cultura.

2.1.3 *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii é considerado um importante fitopatógeno habitante do solo, pois apresenta extensa gama de hospedeiros, cerca de 200 espécies de plantas, pertencente a quase 100 famílias botânicas, distribuindo-se amplamente em todas as regiões agrícolas do Brasil (MARCUIZZO et al., 2014).

Ocasionalmente *S. rolfsii* tem uma fase de frutificação sexual (teleomórfica), ocorrendo mudança na sua taxonomia. O fungo denomina-se *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough, quando esse se desenvolve à margem da lesão e em locais que são sombreadas do sol. Dois ou quatro esporos incolores com paredes finas são suportados em espinhos curtos nas extremidades dos fios ligeiramente aumentados. Os esporos são tão leves que, se produzidos em grandes quantidades podem ser dispersos no ar a longas distâncias. Esta etapa não é frequentemente vista no campo e não se acredita ser de primordial importância na transmissão da doença (FERREIRA et al., 1992).

A grande ocorrência de *S. rolfsii* em solos pode comprometer o cultivo de espécies agrônomicas, como a alcachofra, alface, girassol, menta, soja, alho, mangueira, sorgo, tomateiro, ervilha, cenoura, cajueiro, feijão, gergelim, fumo e plantas ornamentais. É responsável por causar doenças, que se manifestam de diferentes maneiras dependendo da espécie e da cultivar. Dentre as principais, destacam-se o tombamento de plântulas, murcha de escleródio, podridão branca e

podridão de escleródio, podridão do colo (MARCUIZZO et al., 2014; MICHEREFF et al., 2005).

Os sintomas observados consistem em lesões marrons e aquosas sobre o colo, que posteriormente escurece e produz podridão, destruindo o córtex e a raiz principal. Na parte aérea das folhas baixas ocorre amarelecimento, configurando os sintomas reflexos, que seguem em direção das folhas superiores. Em plantas severamente atacadas, o colo entra em colapso, provocando murcha da parte aérea, seca, queda das folhas e morte. Em condições de alta umidade, ocorre o crescimento micelial branco sobre o colo da planta e na superfície do solo. A partir do micélio vigoroso formam-se os escleródios, onde inicialmente são brancos e posteriormente escuros (Figura 2) (BIANCHINI et al., 2005 apud LIMA et al., 2015).



Fonte: LOBO JUNIOR, Ageitec – EMBRAPA/DF

Figura 2 - Escleródios de *Sclerotium rolfsii* formados sobre o solo, e morte da planta do feijoeiro após ocorrência da murcha de esclerócio.

Esse patógeno é adaptado para regiões quentes com temperatura e umidade alta. Todavia, mesmo adaptado a essas condições climáticas, tem capacidade de desenvolver-se entre uma vasta gama de condições ambientais (NECHET et al., 2006). A faixa de pH ótimo para o crescimento micelial é 3,0 a 5,0, e germinação de escleródios ocorre entre 2,0 e 5,0. Acima de 7,0 a germinação é inibida. O crescimento micelial máximo ocorre em temperaturas entre 25 e 35°C, sendo morto a 0°C. Embora os escleródios possam sobreviver a temperaturas tão baixas como -10°C, a umidade é necessária para germinação, pois quando a umidade relativa é

muito abaixo da saturação não ocorre germinação dos escleródios. (FERREIRA, et al., 1992).

Práticas culturais mal empregadas como a movimentação de água em solos infectados, irrigação, transplante de mudas doentes, sementes contaminadas com escleródios, podem ser um importante veículo para a disseminação do patógeno, uma vez que podem hibernar como micélio em tecidos infectados ou detritos vegetais (AGRIOS, 2005; FERREIRA et al., 1992).

O controle da doença é considerado difícil, pois os escleródios que são as estruturas de resistência do patógeno com capacidade infectiva, permanecem viáveis por um longo período no solo, mesmo em condições adversas. A utilização de fungicidas com o quintozene, foram retirados do mercado em nível mundial, pois permanece no solo sem ser degradado, representando riscos ao ambiente e a saúde humana. (DUARTE et al., 2006). No entanto, os fungicidas recomendados para o controle de *S. rolfsii* como tebuconazole, thiram, procimidone, também apresentam residuais (SOUSA, 2012).

2.1.3.1 Controle de *Sclerotium rolfsii*

O controle de doenças causadas por *S. rolfsii* é dificultado devido principalmente ao grande número de plantas hospedeiras, também por possuírem capacidade de competição saprofítica e por produzir um elevado número de escleródios (SOUZA et al., 2005).

O uso de produtos químicos na agricultura é uma das medidas para proteção contra os patógenos, no entanto apresenta efeitos nocivos tais como poluição ambiental, intoxicação do homem e animais e induz mecanismos de resistência dos patógenos a estes produtos surgindo novas raças. Todavia esses efeitos estimularam a racionalização do uso e agregou a utilização de medidas alternativas para o controle de fitopatógenos (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2000).

Vasconcelos (2011) relata que a partir da redução do uso de tratamentos químicos iniciaram-se trabalhos com a inclusão de microrganismos antagonistas a fim de controlar esses fitopatógenos, impedindo ou diminuindo o ataque às plantas. No biocontrole de *S. rolfsii* são utilizados *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* sp., e ainda os fosfitos, que são considerados eficientes no controle alternativo.

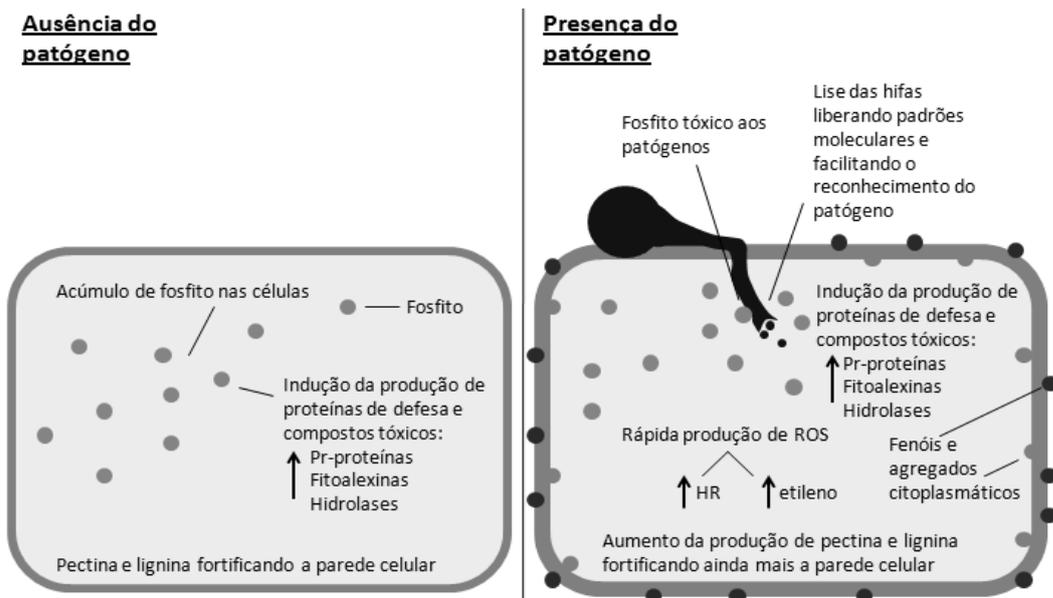
A aplicação de fungicidas não é totalmente eficiente para o controle de *S. rolfsii*, exigindo muitas aplicações durante o cultivo, o que encarece o custo de produção (WILLETTS & WONG, 1980 apud SCHURT, 2006). Normalmente os produtos químicos devem ser aplicados antes de ocorrer a infecção, prevenindo a colonização do patógeno (STEADMAN, 1979 apud SCHURT, 2006).

Diante do exposto, a adoção de diferentes métodos de controle como práticas culturais, controle químico, biológico e físico, são consideradas como as mais eficazes formas de controle do patógeno.

2.2 Fosfitos no controle de doenças

O fosfito é um fertilizante originado do ácido fosforoso (H_3PO_3), absorvido rapidamente pelas raízes e folhas das plantas por ser altamente solúvel. Além de ser utilizado com fonte de nutrientes que compõem sua molécula, exceto o fósforo, pois nenhuma enzima encontrada na planta é capaz de reduzir fosfito em fosfato, age estimulando os mecanismos naturais de defesa das plantas contra fitopatógenos. Associado ao manejo é uma excelente forma alternativa de reduzir a severidade das doenças (DALIO et al., 2012).

O seu modo de ação compreende duas formas: ação direta contra o patógeno, inibindo o crescimento micelial e posteriormente a ruptura das hifas, e ações indiretas como ativador dos mecanismos de defesa das plantas na presença ou ausência dos patógenos (FANCELLI, 2010; DALIO et al. 2012) (Figura 3).



Fonte: Dalio et al., 2012

Figura 3 – Ilustração do modo de ação do fosfito na presença e na ausência do patógeno.

Conforme Brandão (2006) os fosfitos possuem um oxigênio a menos (PO_3^{-3}) que os fosfatos derivados do ácido fosforoso (H_3PO_3). Por isso, apresentam maior solubilidade em água, sendo absorvidos pela planta mais rapidamente. Após absorvidos pela planta, os íons de fosfito se distribuem desde os brotos até as raízes, atribuindo a planta uma proteção completa ao ataque de fungos. Além disso, fornecem nutrientes catiônicos, como potássio, cobre, zinco, manganês, cálcio e ferro.

Perez et al. (1995 apud CASTANHO et al., 2014) relataram que níveis baixos de fosfito provocam retardamento no metabolismo do patógeno, estimulando os mecanismos de defesa do hospedeiro, fazendo com que a planta suporte de melhor forma os efeitos do ataque de doenças.

Segundo Boneti et al. (2011), o nível de eficiência dos fosfitos depende da cultura e da doença. Para o controle de doenças na macieira, tais como a sarna das folhas da macieira, podridão do colo, fuligem e sujeira de mosca, testadas em campo, à formulação de fosfito de potássio na concentração $1,5\mu\text{LmL}^{-1}$ (00-40-20) e $3,0\mu\text{LmL}^{-1}$ (00-30-20) foram muito eficientes. Todavia apresentaram níveis medianos no controle da mancha da gala e podridões de frutos.

Ueno (2015) avaliou o efeito dos fosfitos para o controle de doenças como a podridão parda e ferrugem no pessegueiro. Os resultados mais promissores foram

obtidos na associação do fungicida captana com o fosfito de potássio na fase de frutificação e o fosfito de cálcio na fase de floração, somando 11 aplicações no ciclo. O nível de controle foi semelhante ao tratamento convencional e inferior ao melhor tratamento, quando há alternância de fungicidas de contato com sistêmicos no controle da podridão parda. Em outro ensaio conduzido pelo mesmo grupo, o fosfito de potássio conseguiu reduzir em 27% a incidência de podridão parda, embora em nível de produção comercial esse resultado não satisfaz a necessidade.

Silva et al. (2014) verificaram que uso de fosfitos de cálcio no manejo pós colheita de podridão mole em pimentão é uma alternativa viável, onde apresentou resultados satisfatórios, se destacando dos demais métodos de controle avaliados.

Levando em conta outras pesquisas, o fosfito de potássio como o Reforce[®] e o Pepfós[®], proporciona maior proteção contra o míldio nas folhas da videira, controlando de 82,4% e 80%, respectivamente. Todavia o fosfito de cobre, conhecido como Fulland[®] apresentou 64,8% de controle da doença (PEREIRA, 2009).

Olivier et al. (1999) considera os fosfitos como uma alternativa viável para o controle de doenças causadas por fitopatógenos, uma vez que apresenta baixa toxicidade e baixo custo, sendo seguro para humanos e ao meio ambiente.

Desse modo, podemos considerar os fosfitos como uma ferramenta complementar viável, principalmente quando associada a outros métodos de controle de doenças. Haja vista que para os patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, se desconhece alguma forma de controle isolada que seja totalmente eficaz.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Itaqui, no período compreendido entre os meses de agosto e outubro de 2015.

3.1 Isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

Os isolados de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* foram obtidos da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo da UNIPAMPA - Campus Itaqui.

Fragmentos de arroz colonizados pelos patógenos foram transferidos para placas de Petri com meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), incubadas em câmara climatizada (BOD) a 25°C e fotoperíodo de 12h, por quatro dias.

3.2 Teste de fungitoxidade *in vitro*

3.2.1 Efeito dos fosfitos de cobre, zinco e potássio no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

Os experimentos foram montados em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto de seis tratamentos e cinco repetições para cada fungo, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri.

Para a condução dos testes utilizou-se o meio BDA comercial (39 gL⁻¹) acrescido do antibiótico cloranfenicol (10 mg mL⁻¹). O meio de cultura foi autoclavado por 20 minutos a 120°C e pressão de 1 atm.

Após a autoclavagem, foram adicionados ao meio de cultura BDA, os fosfitos (Tabela 1), e em seguida, vertidos em placas de Petri, em câmara de fluxo laminar. As concentrações utilizadas foram baseadas nas recomendações dos fabricantes. A testemunha consistiu apenas do meio de cultura BDA.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados nos testes *in vitro*

Tratamentos	Empresa	Composição	Concentração (mL L ⁻¹)
Reforce Cu [®]	Agrichem do Brasil	Fosfito de K + Cu	5
Reforce Zn [®]	Agrichem do Brasil	Fosfito de Zn	3
Reforce [®]	Agrichem do Brasil	Fosfito de K	3
Yantra [®]	Agrichem do Brasil	Fosfito de K	3
Fulland [®]	Sudoeste Agropecus	Fosfito de Cu	5
Testemunha (sem aplicação)			

Foram transferidos discos de 5 mm contendo micélio do fungo, para o centro das placas de Petri, em câmara de fluxo laminar. Após a repicagem dos fungos, as placas foram vedadas com filme plástico e incubas em câmara climatizada (BOD), a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h.

O crescimento micelial dos fungos foi avaliado em intervalos de 24h, mensurando o diâmetro da colônia (cm) com uma régua, em posição vertical e horizontal. As medições foram interrompidas quando o crescimento micelial atingiu a borda da placa, ou seja após 4 dias de incubação. Posteriormente, calculou-se o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) do fungo, a partir dos dados dos diâmetros das colônias. A fórmula utilizada foi descrita por Oliveira (1991).

$$IVCM = \frac{\sum(D - Da)}{N}$$

Sendo:

IVCM = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

D = Diâmetro médio do dia da mensura da colônia

Da = Diâmetro médio da colônia do dia anterior

N = Número de dias após a inoculação

Os dados de IVCM foram submetidos à análise de variância e teste de média Tukey, ao nível de 5% de probabilidade pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

3.2.2 Efeito dos fosfitos sobre a produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii*

Após 15 dias de incubação em BOD à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, avaliou-se o número de escleródios de *S. rolfsii* por placa (Figura 4).

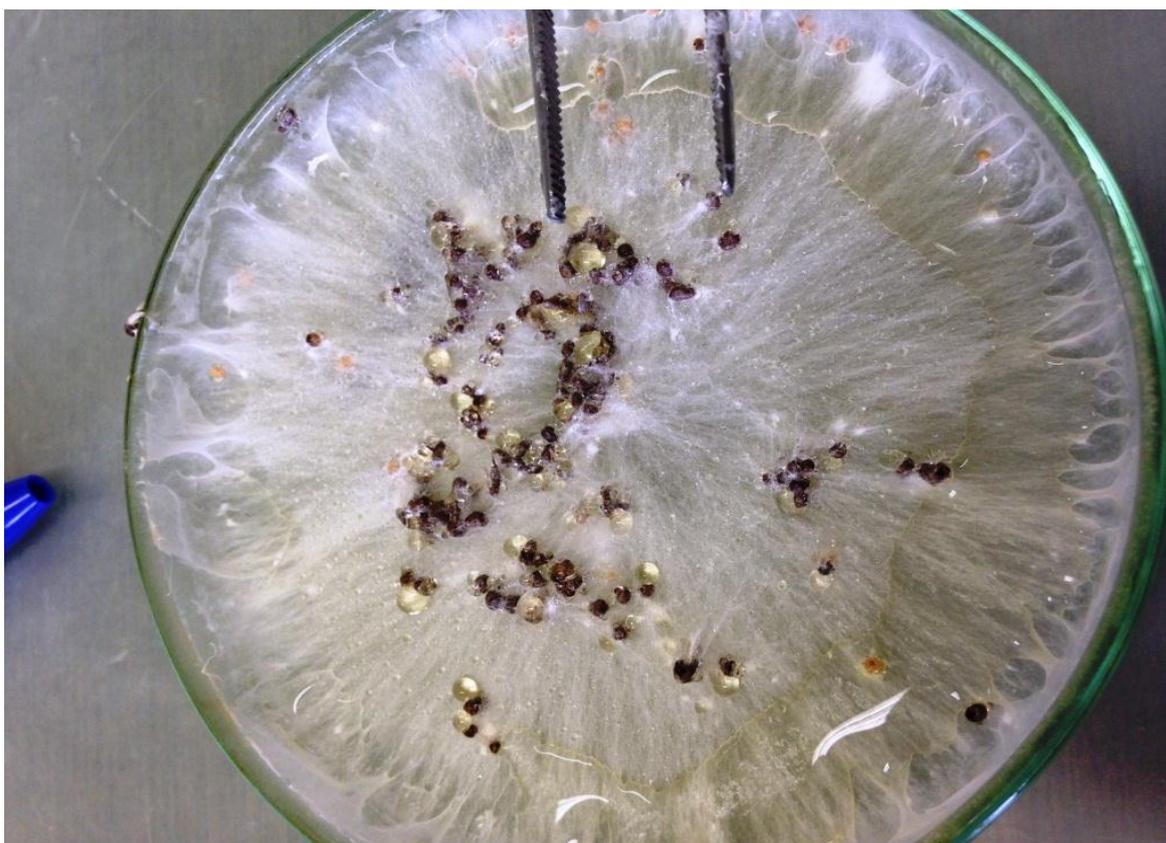


Figura 4 – Placa de Petri exibindo crescimento micelial e produção de escleródios do fungo *Sclerotium rolfsii*

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de média Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR. (FERREIRA, 2008).

3.2.3 Efeito das diferentes doses do tratamento Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

O tratamento com Reforce Zn (fosfito de zinco) foi escolhido porque apresentou a menor média de IVCM no teste anterior. Testou-se sua eficiência na inibição do crescimento micelial dos fungos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* em diferentes doses. Repetiu-se o procedimento do experimento anterior, vertendo meio de cultura BDA nas placas de Petri, com as doses de fosfito de zinco: 0 (testemunha), 2, 4, 6 e 8 mL L⁻¹. No centro da placa foram repicados discos de 5 mm de micélio de isolados *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*. Posteriormente foram incubadas em BOD a temperatura de 25°C, por 4 dias (quando o crescimento micelial da testemunha atingiu a borda da placa).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições para cada fungo, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri.

As avaliações foram realizadas no intervalo de 24h, por 4 dias, mensurando o diâmetro da colônia (cm) com régua na posição vertical e horizontal. Os dados foram submetidos à análise de regressão pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

Os patógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* cresceram em curto período de tempo. Apenas 4 dias incubados em câmara climatizada foram suficientes para atingirem a borda de todas as placas de Petri.

4.2 Fungitoxidade *in vitro* de fosfitos aos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*

4.2.1 Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotinia sclerotiorum*

O tratamento Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) (Figura 5), foi o que obteve o menor índice de velocidade de crescimento micelial, seguido do Reforce Cu[®] (fosfito de potássio + cobre) e Fulland[®] (fosfito de potássio), que não diferiram entre si estatisticamente. O tratamento Reforce[®] (fosfito de potássio) não diferiu significativamente da Testemunha, apresentando os maiores índices de velocidade de crescimento micelial (Tabela 2).

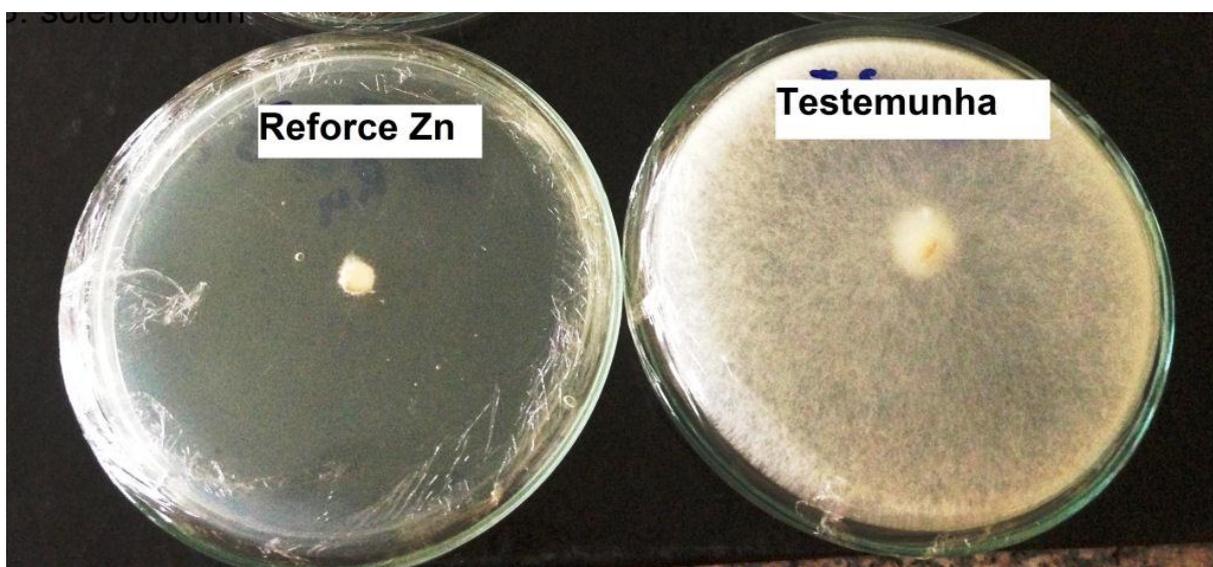


Figura 5 - Crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotium* com tratamento Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) em relação à Testemunha.

Tabela 2 - Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Tratamentos	IVCM	Controle (%)
Reforce Zn (fosfito de Zn)	0,12 a	95,42
Reforce Cu (fosfito de K + Cu)	1,06 b	59,55
Fulland (fosfito de Cu)	1,12 b	57,26
Yantra (fosfito de K)	2,13 c	18,71
Reforce (fosfito de K)	2,52 d	3,82
Testemunha	2,62 d	
CV (%)	10,53	

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Caixeta et al. (2012), a ação fungistática do fosfito de potássio depende do fungo. Em seu trabalho nenhuma das doses testadas de fosfito de potássio foi eficiente para o controle micelial do fungo *S. sclerotiorum*, sendo eficiente apenas para o patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*.

Da mesma forma, Arruda (2014), utilizou concentrações menores de dois fosfitos de potássio, para avaliar o seu efeito no desenvolvimento *in vitro* de *S. sclerotiorum*. O fosfito A ($150 \mu\text{LmL}^{-1}$ de P_2O_5 e $100 \mu\text{LmL}^{-1}$ de $\text{K}_2\text{O mL}^{-1}$) e o fosfito B ($87 \mu\text{LmL}^{-1}$ de P_2O_5 e $63 \mu\text{LmL}^{-1}$ de $\text{K}_2\text{O mL}^{-1}$). Em sua primeira avaliação observou inibição no crescimento micelial de 41% utilizando o fosfito A, e de 33% na utilização do fosfito B. Nas demais avaliações, não observou inibição nos tratamentos, chegando à conclusão que o efeito fungistático sobre *S. sclerotiorum* promove o retardamento do crescimento micelial apenas por alguns dias.

Para Godoy (2014) os diferentes efeitos dos fosfitos no crescimento micelial dos fungos podem estar relacionados ao fato de cada formulação de fosfito apresentar pH diferenciado, já que não foram feitas correções de pH do meio.

4.2.2 Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Sclerotium rolfsii*

De acordo com os tratamentos testados, Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) apresentou o menor índice de velocidade de crescimento micelial do patógeno *Sclerotium rolfsii* (Tabela 3 e Figura 6).

Tabela 3 - Efeito dos fosfitos no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do fungo *Sclerotium rolfsii*

Tratamentos	IVCM	Controle (%)
Reforce Zn (fosfito de Zn)	0,16 a	93,14
Reforce Cu (fosafito de K + Cu)	1,46 b	62,66
Yantra (fosfito de K)	1,59 b c	31,76
Fulland (fosfito de Cu)	1,92 c d	17,6
Reforce (fosfito de K)	1,97 d e	15,46
Testemunha	2,33 e	
CV (%)	11,81	

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

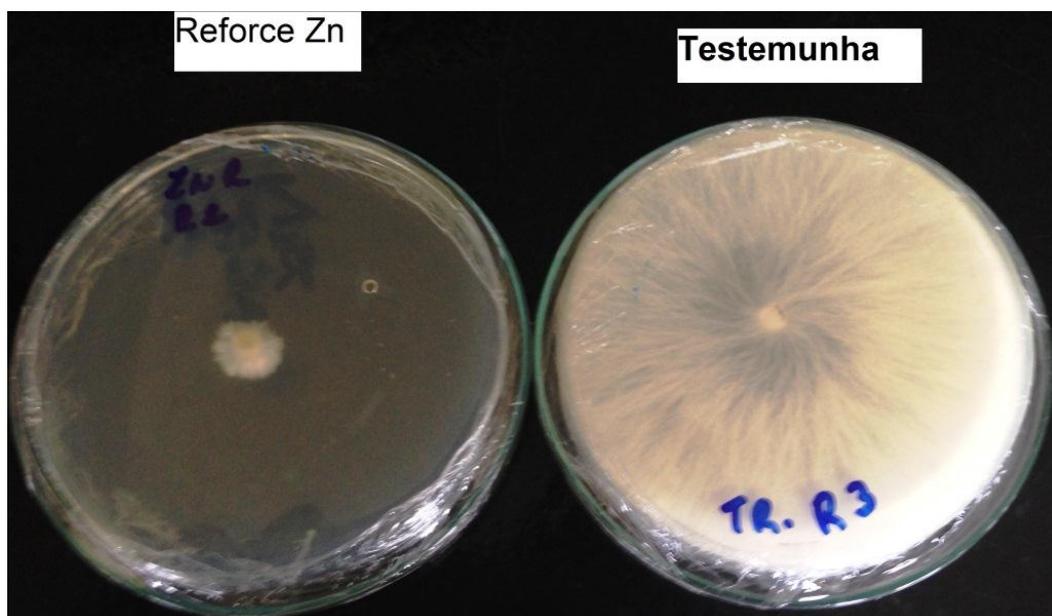


Figura 6 - Crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfsii* com tratamento ReforceZn[®] (fosfito de zinco) em relação à Testemunha.

No presente trabalho utilizou-se a concentração de 3mL L⁻¹ para o Reforce[®] (fosfito de potássio) e Yantra[®] (fosfito de potássio), concentração recomendada pelo fabricante, onde seu efeito não diferenciou significativamente da testemunha.

Reis et al. (2013) concluíram que o fosfito de potássio se mostrou eficiente em diferentes doses, tendo ação fungitóxica no controle de *S. rolfsii*. Na dose de 5 mL L⁻¹ observaram que ainda havia crescimento do diâmetro micelial, enquanto que na dose de 10 mL L⁻¹ não ocorreu crescimento. Mesmo após 10 dias não ocorreu formação de escleródios em todas as doses testadas. Desse modo, as possíveis

causas da diferença de controle do patógeno *S. rolfsii* por fosfito de potássio devem estar associadas às diferentes concentrações utilizadas nos respectivos trabalhos.

4.2.3 Efeito dos fosfitos sobre a produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii*

Dentre os tratamentos testados, Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) e Yantra[®] (fosfito de potássio) apresentaram a menor produção de escleródios, não diferindo entre si estatisticamente e também não diferiram significativamente do tratamento Reforce Cu[®] (fosfito de K + Cu). Todavia os tratamentos Reforce Zn[®] e Yantra[®] foram 80,3% mais eficaz em relação a testemunha. (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeito dos fosfitos na produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii*

Tratamentos	Número de escleródios
Reforce Zn (fosfito de Zn)	0,70 a
Yantra (fosfito de K)	0,70 a
Reforce Cu (fosfito de K + Cu)	3,55 a b
Reforce (fosfito de K)	6,44 b c
Fulland (fosfito de K)	8,59 c
Testemunha	9,59 c
CV (%)	39,76

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Vasconcelos (2011) em experimento realizado em recipientes gerbox, testou onze diferentes fosfitos sobre dois isolados de *S. rolfsii*, denominados de 193 e 228. Após 14 dias de avaliação, o isolado 193 apresentou redução na germinação de escleródios em relação à testemunha em seis, dos onze tratamentos testados. Citam-se os fosfitos: Fosfito Mg1- Phytogard Mg[®], Fosfito k1- Phytogard K[®], Fosfito Cu – Fitofós Cu[®], Fosfito K2 – Fitofós K Plus[®], Fosfito K5 – Hortifós PK[®] e Fosfito Ca1- Phytogard Ca[®], como os que diferiram da testemunha. Para o isolado 228, dos onze fosfitos testados, nove demonstraram controle da germinação de escleródios, quando comparados à testemunha. O Fosfito de K2 – Fitofós K Plus[®] apresentou o maior controle, diferindo dos demais tratamentos.

4.2.4 Avaliação das diferentes dosagens de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Dentre os tratamentos, verificou-se que o crescimento micelial do patógeno *S. sclerotiorum* é inversamente proporcional a maior dose, ou seja, quanto maior a dose, menor será o crescimento. Nesse caso, a dose de 8 mL L⁻¹ conferiu um controle estimado de 95 %, enquanto que na menor dose 2 mL L⁻¹ o controle de crescimento micelial atingiu apenas 23 % (Figura 7 e Figura 8). Entretanto, segundo Ávila et al. (2013), deve-se ter cuidado com o uso de altas doses de fosfito, pois em condições de baixa disponibilidade de fósforo no solo, essas doses podem ser tóxicas para as plantas, levando em conta que não existe enzima capaz de oxidar a molécula de fosfito em fosfato, mascarando sua deficiência.

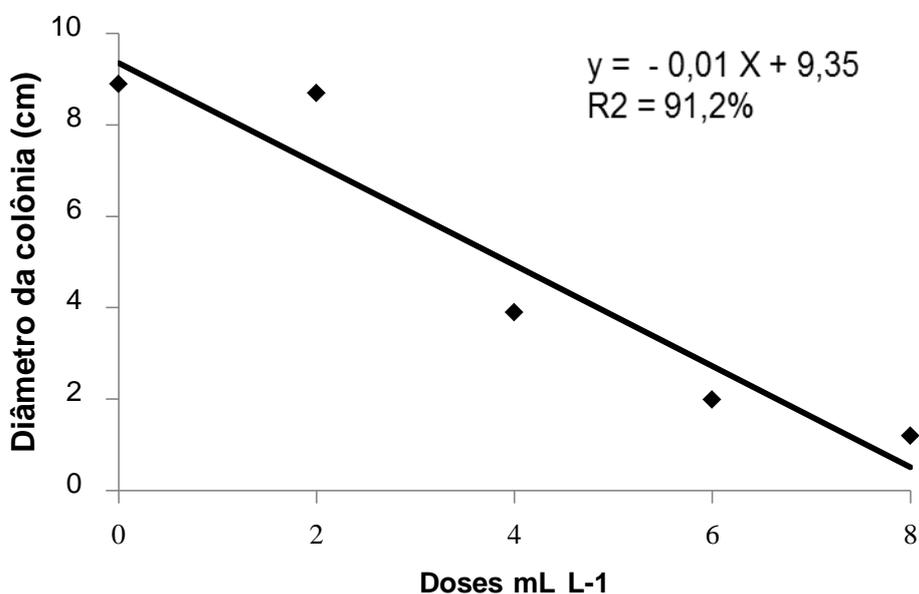


Figura 7 – Efeito das diferentes doses de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

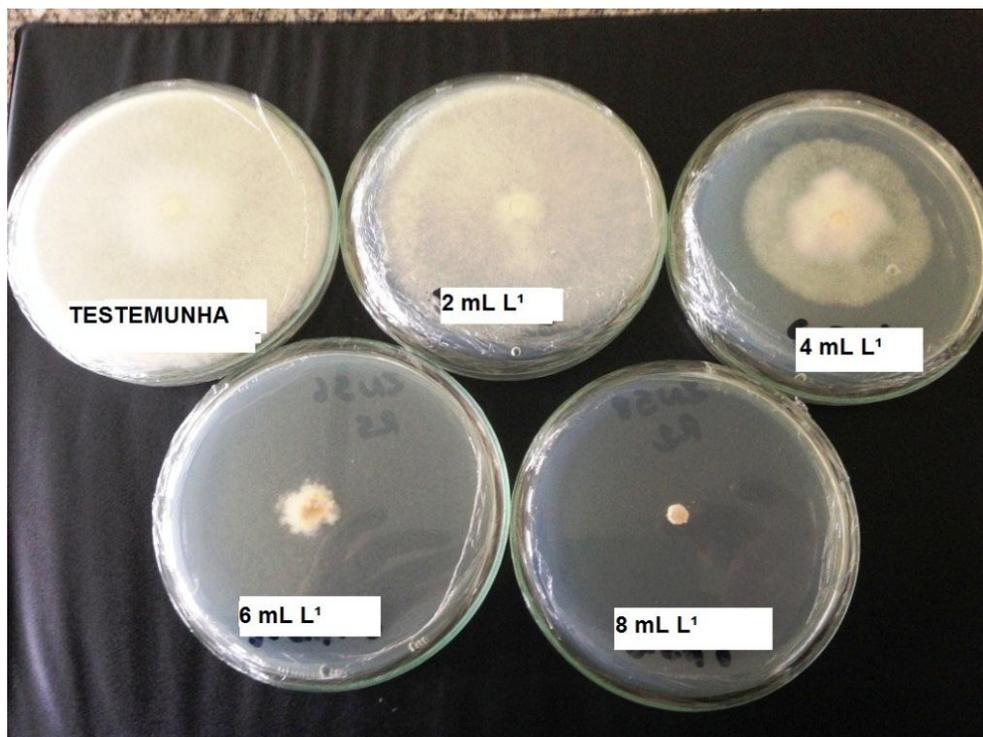


Figura 8 – Crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes doses de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco)

4.2.5 Avaliação das diferentes doses de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) no crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*

De acordo com os resultados (Figura 9 e Figura 10), pode-se verificar que a partir da dose 4 mL L⁻¹ de Reforce Zn[®] (fosfito de zinco) diminuiu significativamente o crescimento micelial do patógeno, em relação a testemunha, cerca de 65 %. Na dose mais baixa testada, 2 mL L⁻¹ a inibição do crescimento micelial atingiu 37%. O tratamento que mais inibiu o crescimento micelial foi a dose de 8 mL L⁻¹. Todos os tratamentos foram eficientes no controle do fungo *S. rolfsii*. Das doses testadas, nenhuma apresentou produção de escleródios, mesmo após 15 dias mantidos em câmara climatizada.

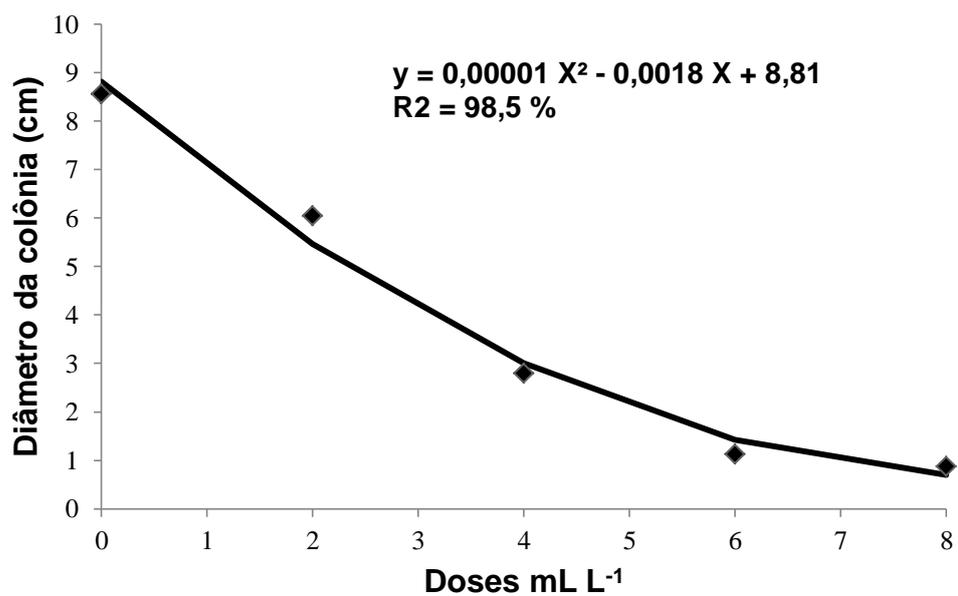


Figura 9 - Efeito das diferentes doses de Reforce Zn® (fosfito de zinco) no crescimentomicelial de *Sclerotium rolfsii*

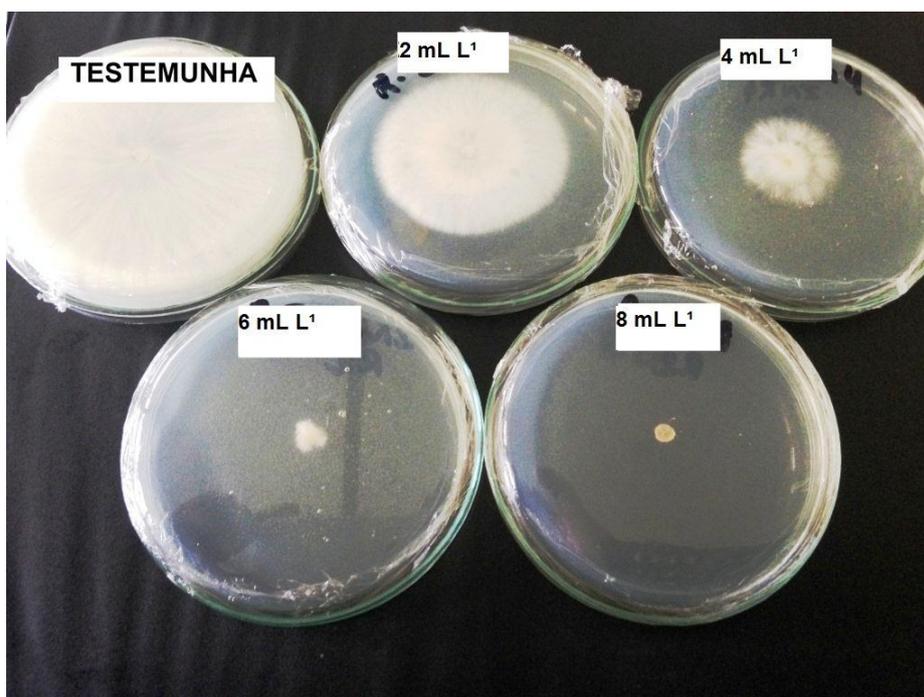


Figura 10 - Crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* em diferentes doses de Reforce Zn® (fosfito de zinco)

De acordo com Araújo et al. (2010) cada concentração de fosfito resulta em um pH distinto. Em suas avaliações, observou que dosagens de 1,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ resulta em pH mais baixo, próximo de 3,0, e dosagens maiores como 3,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ o pH fica em torno de 6,8. A maior parte dos fungos tolera diferentes pH, mas o seu desenvolvimento é baseado nos limites de máximo e mínimo. Ou seja, quando o pH está abaixo do limite, tem seu desenvolvimento prejudicado. E acima é o máximo crescimento.

Levando em conta o pH resultante das dosagens citadas pelo autor acima, é possível justificar os resultados avaliados no presente trabalho. Ferreira, et al. (1992) o patógeno *S. rolfsii* apresenta uma faixa de pH ótimo para o crescimento micelial de 3,0 a 5,0 e apenas quando o pH fica acima de 7,0 a germinação é inibida. Por isso, nas dosagens mais baixas o diâmetro da colônia foi maior comparado com as dosagens maiores.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fosfito de zinco, Reforce Zn[®] é o mais eficiente para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* *in vitro*.

Pesquisas sobre o efeito dos fosfitos no controle de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* em campo são necessárias.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5 ed. San Diego – Elsevier, 2005. 922 p.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A. Doenças da soja. In: Kimati, H.; Amorin, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A & Camargo, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, São Paulo: Agronômica Ceres. . p. 596 – 617. 2005. v 2.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. Vol. 1. Princípios e conceitos. 4ª ed. São Paulo. Editora Agronômica Ceres Ltda. 2011.
- ARAÚJO, L.; SANHUEZA, R.M.V.; STADNIK. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro e no controle pós- infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. **Tropical Plant Pathology**. p. 054-059. 2010. v. 35
- ARRUDA, J.H. **Ação de agroquímicos no controle de mofo branco em soja**. 2014. Dissertação (mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014. 58 p.
- ÁVILA, F.W.; FAQUIN, V.; LOBATO, A.K.S; BALIZA, D.P.; MARQUES, D.J.; PASSOS, A.M.A.; BASTOS, C.E.A.; GUEDES, E.M.S. Growth, phosphorus status, as nutritional aspect in common bean exposed to different soil phosphate levels and foliar-applied phosphorus forms. **Scientific Research an Essays**. p. 2195 – 2204. 2012. v.7
- BARRETO, N.D.S. **Utilização de fertilizantes à base de fosfito e micronutrientes na cultura do melão**. 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 96 p. Mossoró – RN. 2008.
- BERUSKI, G. C. **Incidência e severidade de mofo branco em soja cultivada sob diferentes densidades populacionais e espaçamentos**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa. 121 p. Ponta Grossa. 2013

BOLAND, G. HALL, R. Index of plant hosts to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.16, p. 93 -108.1994.

BONETI, J.IS.; KATSURAYAMA, Y. Uso dos fosfitos e compostos naturais no controle das doenças da macieira. In: ENCONTRONACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 12.,2011, Fraiburgo, SC, **Anais...Caçador: Epagri, vol I (resumos)**, 2011. P: 54-66.

BOTELHO, L.S. **Detecção, transmissão e efeitos de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja**. 2011. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Lavras, 2011. 156 p. Lavras- MG.

BRANDÃO, R. P. Fosfito estimula a autodefesa das plantas contra doenças fúngicas. **Informativo Bio Soja**. Ano II, no. 03. São Joaquim da Barra. 2006. Disponível em: <<http://docslide.com.br/documents/informativo-3.html>>. Acesso em 08/jun. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Manual de análise sanitária de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF. MAPA-ACS. 200 P. 2009

CAIXETA, A.O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**. Patos de Minas, UNIPAM, (3) : 35-43. Nov.,2012.

CASTANHO, G.; NETO, J.S.; SILVA, C. M.; ALVES, D. S. & ANDRADE, L. M. Fosfito de potássio como indutor de gliceolina em soja. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 16, n.2, p. 131- 137. Jul./dez. 2014.

DALIO, R.J.D.; RIBEIRO, JR.; PEDRO, M.; RESENDE, M.L.V.; SILVA, A. C.; BLUMER, S.; FORESTI, V. F.; OSSWALD, W. & PASCHOLATI, S. F. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. **RAPP**, v. 20, 38 p. 2012.

DUARTE, M.L.R.; TABARANÃ, M.G.F.; ALBUQUERQUE, F.A.B.; MORAES, A.J.G. Controle Químico da Podridão-das-estacas (*Sclerotium rofsii*) da Pimenta-do-reino. **Embrapa comunicado técnico 157**. Junho/2016. Belém – PA.

FANCELLI, A.L. Manejo de nutrientes e uso de fosfitos no controle de doenças de plantas. **Página Rural**, 30 de novembro de 2010. Disponível em: <<http://www.paginarural.com.br/artigo/2146/manejo-de-nutrientes-e-uso-de-fosfitos-no-controle-de-doencas-de-plantas>> Acesso em: 10 de novembro de 2015.

FERREIRA, D.F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, S.A.; BOLEY, R.A.; *Sclerotium rolfsii*. Department of Plant Pathology, **CTAHR**. University of Hawaii at Manoa. 2A – Scrol. July 1992.

FURLAN, H. S. Epidemiologia e manejo do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da soja. **Instituto Biológico**. Campinas – SP. 2010. Disponível em: <<http://www.summanet.com.br/summanet-site/congressos/2010/palestras/4.htm>>. Acesso em: 20 de outubro de 2015.

GODOY, M.S.B. **Uso de fosfito para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose em frutos de manga**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia). 49 p. Universidade Federal do Pampa. Itaquí – RS. Março de 2014.

GÖRGEN, C.A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L.C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p. 1538 – 1590. 2009.

GOUSSOUS, S.J.; MAS'AD, I.S.; EL-SAMEN ABU, F.M. & TAHHAN, R.A. *In vitro* inhibitory effects of rosemary and sage extracts on mycelial growth and sclerotial formation and germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v.46, Issue 8, 2013. p. 890 – 902.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. **Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais**. 11p. **Embrapa Florestas**. 2000.

HENNEBERG, L. **Eficiência de métodos para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em sementes de soja**. 2011. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR. 76 p. 2011.

HENNEBERG, L.; JACCOUD FILHO, D.S.; GRZYBOWSKI, C.R.S.; PANOBIANCO, M. Importância da detecção de *Sclerotinia sclerotium* em sementes de soja. **Informativo Abrates**. v. 21. Nº3, 2011.

KAWASAKI, V.H. **Uso de restritores hídricos na detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão, soja e algodão pelo método de incubação em meio ágar- azul de bromofenol (Neon)**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras. 57 p. Lavras- MG. 2010.

LEITE, R.M.V.B.C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. **Embrapa Comunicado Técnico 76**, março/ 2005. Londrina – PR.

LIMA, M.L.P.; TAVARES, M.L.; MALAFAIA, G.; RUARO, L.; SALES, A.M.; CUNHA, P.C. Reação de suscetibilidade e distribuição espacial de *Sclerotium Rolfsii* em genótipos de feijoeiro. **Global Science and technology**, Rio Verde, v.08, n.01, p. 122-130, jan./abr.2015.

LOBO JUNIOR, M. **Importância dos patógenos de solo na cultura do feijoeiro**. AGEITEC – EMBRAPA – Parque Estação Biológica. Brasília, DF. 2015.

MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de fitopatologia**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 133 p. Recife- PE. 2001.

MICHEREFF, S.J; ANDRADE, D.E.G.T; PERUCH, L.A.M; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. UFRPE – Recife. **Imprensa universitária**, 2005. 18 p.

MARCUZZO, L.L.; SCHULLER, A. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.40, n.3, p. 281-283, 2014.

NECHET, K. L.; VIEIRA, B.A.H. Doenças do feijão-caupi em Roraima. **Circular Técnica 02**. Embrapa. Boa Vista – RR. Dezembro de 2006.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento de fungicida no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**.

1991. 111p. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo branco. **Revista DBO Agrotecnologia**. Ano 2. Nº4. Maio/Junho de 2005.

OLIVIER, C.; MACNEIL, C.R. & LORIA, R. Application of organic and inorganic salts to field-grown potato tubers can suppress silver scurf during potato storage. **Plant Dis.** v. 83, p 814- 818. 1999.

PEREIRA, F.S.; BORGES, L.P.; GUIMARÃES, G.R.; SILVA, A.; GONÇALVES, R.N.; CARVALHO, L.R.; TEIXEIRA, R. Estratégias de controle de mofo branco do feijoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v.9, n.17, p. 1354-1371. 2013.

PEREIRA, V.F. **Fosfitos no manejo do míldio da videira: eficácia e modo de ação**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009. 69 p. Lavras – MG.

PUNJA, Z.K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**. v.23. p. 97-127. 1985

REIS, E.M.; LEMES, T.S.; SILVA, J.C.; LIMA, F.S.O. Atividade fungitóxica de fosfito de potássio sobre isolado de *Sclerotium rolfsii* da cultura da soja (*Glycine max*). **Anais do congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**, 2013. 7 p. Salvador – Bahia. 2013.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008. 105 p. Lavras – MG.

SANTOS, I.P.S. **Controle alternativo da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de ciências Agrárias. Rio Largo, 2010.

SANTOS, I.P.S. **Controle alternativo da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de ciências Agrárias. Rio Largo, 2010.

SANTOS, H. A. A. **Efeito de fosfito no controle de doenças foliares de trigo *in vitro* e *in situ***. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Agricultura) Universidade Estadual de Ponta Grossa. 143 p. Ponta Grossa, 2008.

SCHURT, D. A. **Potencial do Isotilcianato de Alilo no Controle de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum***. 2006. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. 57 p. Viçosa – MG. 2006.

SILVA, M.S.; CARVALHO, F.C.Q.; SILVA, J.R.; LINS, S.R.O.; OLIVEIRA, S.M.A. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.4, p.718-725, ISSN 1806-6690. Out./dez. 2014. Centro de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

SOUSA, T.G. **Controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho (*Allium sativum* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) por Trichoderma**. 2012. Dissertação de Mestrado. 68p. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012.

SOUZA, F.F.; RAMALHO, A.R.; NUNES, A.M.L. **Cultivo do feijão comum em Rondônia**. Embrapa Rondônia, Sistemas de Produção, 8. Dez/2015.

TÖFOLI, J.G; DOMINGUES, R.J; FERRARI, J.T. **Míldio e mofo branco da alface: doenças típicas de inverno**. Instituto Biológico, São Paulo, v. 76, n.1, p. 19-24, jan./jun. de 2014.

TORMEN, N.R. **Perdas nas lavouras por causa do mofo branco podem chegar a 30%**. Sociedade Nacional de Agricultura. Rio de Janeiro – RJ. 22 de abril de 2014. Disponível em: <<http://sna.agr.br/perdas-nas-lavouras-por-causa-do-mofo-branco-podem-chegar-a-30/>> Acesso em: 13/11/2015.

UENO, B. Fosfito + fungicida = Defesa e proteção para o pêssego. **Revista Campo & Negócios**, Hortifrúti, 20 de agosto de 2015. Disponível em: < <http://www.revistacampoenegocios.com.br/fosfito-fungicida-defesa-e-protecao-para-o-pessego/>> Acesso em: 10 de novembro de 2015.

VASCONCELOS, T.M.M. **Controle de *Sclerotium rolfsii*, causador de podridão em feijoeiro, com *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* sp. fluorescentes e fosfito.** 2011. Trabalho de conclusão de curso (TCC) em agronomia – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Brasília-DF. 2011.