

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

**VIABILIDADE E PARASITAS DE ESCLERÓDIOS DE
Sclerotinia sclerotiorum SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE
AERAÇÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Bruno Dias de Campos

**Itaqui, RS, Brasil
2016**

Bruno Dias de Campos

**Viabilidade e parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*
sob diferentes condições de aeração**

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: Prof^a. Dr^a. Luciana Zago Ethur

Itaqui, RS, Brasil
2016

Bruno Dias de Campos

**Viabilidade e parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*
sob diferentes condições de aeração**

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 04 de julho de 2016.

Banca examinadora:

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

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

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

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe, Eva Batista Dias de Campos, que sempre me apoiou para que eu conseguisse realizar o sonho de me tornar Engenheiro Agrônomo.

AGRADECIMENTO

A Deus, em primeiro lugar, por ter sempre me orientado a tomar as escolhas que me levaram a este caminho.

A toda minha família, em especial aos meus pais Luís Roberto de Campos e Eva Batista Dias de Campos, que fizeram e fazem de tudo para sempre garantir o melhor para mim, assim como a minha irmã Mariana Dias de Campos, que sempre “me estendeu a mão” em todos os momentos.

A minha namorada Josefina, por todo carinho e companheirismo durante essa etapa de minha formação.

A minha orientadora, Dr. Luciana Zago Ethur, pela qual tenho grande admiração; pela sua orientação impecável e apoio em tudo que precisei durante toda minha graduação.

A minha banca composta pela Dra. Renata Silva Canuto de Pinho e Dr. Paulo Jorge de Pinho que me auxiliaram na execução e defesa deste trabalho.

A esta universidade e a todo o corpo docente, por me proporcionarem uma valiosa formação que fará parte de mim para sempre.

A toda a equipe do Laboratório de Microbiologia do solo e do Laboratório de Biologia que me deram toda assistência necessária, em especial Franciane Cabral Pinheiro e Giovana de Magalhães Soares.

A família Monçalves que me ajudou em muitos momentos de minha graduação. A acadêmica Raiani Duzec do BICT pelo auxílio durante as etapas do experimento.

Aos meus grandes amigos Géter Machado, Anderson Azevedo, Yuri Lipert e Evandro Deak, por me acompanharem durante todo o meu percurso acadêmico.

*“Uma jornada de mil quilômetros começa
pelo primeiro passo.”*

Lao tsu

RESUMO

Viabilidade e parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes condições de aeração

Autor: Bruno Dias de Campos

Orientador: Prof^a. Dr^a. Luciana Zago Ethur

Local e data: Itaqui, 04 de junho de 2016.

A cultura da soja começa a estar presente na região da fronteira oeste do RS, como alternativa de rotação de cultura para o arroz irrigado. Dentre as principais doenças da cultura da soja, o mofo branco é uma das que podem vir a atingir a região, porém não se tem estudos que demonstrem o comportamento destas estruturas de sobrevivência em áreas de arroz irrigado. Os escleródios são estruturas de sobrevivência do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*; através destes, o patógeno pode se perpetuar em uma determinada área, mesmo quando não há condições ideais para seu desenvolvimento. O objetivo deste trabalho foi identificar os micro-organismos parasitas e avaliar a viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes profundidades e umidades de solo, sob diferentes condições de aeração. Para isso, foram produzidos escleródios de *S. sclerotiorum* que foram enterrados em trouxas feitas de nylon, em solo coletado na área experimental do campus Itaqui, nas profundidades de 2 e 10cm, com irrigação do solo mantido sob capacidade de campo e saturado com lamina d'água de 2cm. Os recipientes contendo os escleródios permaneceram em câmara de crescimento de plantas na temperatura de 25°C durante 60 dias. As avaliações consistiram na retirada de quatro trouxas (cada trouxa equivale a uma repetição) de cada tratamento aos 15, 30, 45 e 60 dias após a implantação do experimento. Os escleródios foram colocados em meio de cultura e os micro-organismos identificados por meio de microscópio estereoscópico e ótico e bibliografia especializada. A viabilidade dos escleródios foi avaliada de acordo com o número de escleródios retirados das trouxas e aos 60 dias, pelo meio de cultura Neon-S. Os micro-organismos encontrados parasitando os escleródios foram: actinomicetos; bactérias; cromista: *Pythium*; gêneros fúngicos: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Lichtheimia* (Absidia), *Mucor*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Nos tratamentos onde os

escleródios foram submetidos à capacidade de campo, os parasitas conseguiram inviabilizar até 70% dos escleródios ao fim dos 60 dias. Quanto aos escleródios submetidos à condição de solo saturado, aos 60 dias todos já se encontravam inviabilizados pelos parasitas existentes no solo e pela umidade. Conclui-se que, dentre todos os parasitas encontrados neste experimento, o fungo *Trichoderma*, o cromista *Pythium* e as bactérias diferem dos demais, obtendo maiores frequências de aparecimento durante as avaliações. O solo saturado de água proporciona a perda total da viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum* nas duas profundidades, enquanto que no solo em capacidade de campo esse valor de viabilidade é de 25-30% após 60 dias.

Palavras-chave: Mofo branco, Controle por inundação, Bactérias, *Trichoderma* spp.

Viability and parasites of Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* under different aeration conditions

Author: Bruno Dias de Campos

Supervisor: Prof. Dr. Luciana Zago Ethur

Place and date: Itaquí, 4th June of 2016.

The soybean crop begins to be present in the region of the western border of RS, as a crop rotation alternative to irrigated rice. Among the main diseases of soybean crops the white mold is one that may ultimately reach this region, however there are no studies that demonstrate the behavior of these survival structures in irrigated rice areas. Sclerotia are survival structures of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, from which the pathogen can be perpetuated in a certain area even when there are no ideal conditions for its development. The objective of this study was to identify the parasites microorganisms and assess the viability of sclerotia of *S. sclerotiorum* submitted to different depths and soil moisture, under different aeration conditions. For that, sclerotia of *S. sclerotiorum* were produced and then buried in nylon bags in soil collected from the experimental area of Itaquí campus at depths of 2 and 10 cm, with soil irrigation kept under field capacity and saturated with water depth of 2cm. The containers with the sclerotia remained in plant growth chamber at 25 ° C for 60 days. Evaluations consisted in the removal of four bags of each treatment (each of them representing a repetition) at 15, 30, 45 and 60 days after implementation of the experiment. The sclerotia were placed in culture medium and the microorganisms were identified through stereoscopic and optical microscope, together with specialized bibliography. The viability of sclerotia was evaluated according to the number of sclerotia removed from the bags and after 60 days, by Neon-S culture medium. The microorganisms found parasitizing the sclerotia were: actinomycetes; bacteria; chromista: *Pythium*; genera of fungi: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Lichtheimia (Absidia)*, *Mucor*, *Penicillium* and *Trichoderma*. In treatments where the sclerotia were submitted to field capacity, parasites managed to derail up to 70% of the sclerotia at the end of 60 days. Regarding sclerotia submitted to saturated soil condition, after 60 days all were already non-viable by the existing soil parasites and humidity. It can be concluded that, among all parasites found in this experiment, the *Trichoderma* fungus, the chromista *Pythium* and the bacterias differ from the others, resulting in greater

frequency of appearance during evaluations. The water saturated soil provides the total loss of the viability of sclerotia of *S. sclerotiorum* in both depths, while the soil in field capacity has a viability value of 25-30% after 60 days.

Key words: White mold, Flood control, Bacteria, *Trichoderma* spp.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* degradados (%) 13
- Figura 2: Microrganismos (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, na profundidade de 2 cm, em solo sob capacidade de campo. Itaqui, RS, 2016..... 14
- Figura 3: Escleródios degradados e bactérias (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados na profundidade de 2cm, em solo saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016..... 15
- Figura 4: Escleródios degradados e bactérias (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados na profundidade de 10cm, em solo sob capacidade de campo. Itaqui, RS, 2016..... 16
- Figura 5: Escleródios degradados e bactérias (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados na profundidade de 10cm, em solo saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016..... 17
- Figura 6: Viabilidade (%) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* enterrados nas profundidades de 2 e 10cm, em solo sob capacidade de campo e saturado com lamina d'água de 2cm, avaliados após 60 dias da implantação do experimento em meio Neon-S. Itaqui, RS, 2016. 18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequência (%) e diversidade de microrganismos presentes nos escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	11
---	----

SUMÁRIO

1 –INTRODUÇÃO.....	01
1.1 – OBJETIVOS.....	02
1.1.1 - Objetivos Gerais.....	02
1.1.2 - Objetivos específicos.....	02
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1 - <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	04
2.2 – Escleródios.....	05
2.2.1 – Estruturas.....	05
2.2.2 – Germinação.....	05
2.2.3 – Sobrevivência.....	06
3 -MATERIAL E MÉTODOS.....	08
3.1 - Solo utilizado.....	08
3.2 - Produção de escleródios de <i>S. sclerotiorum</i>	08
3.3 - Viabilidade e parasitas dos escleródios.....	08
3.4 - Viabilidade de escleródios em meio Neon-S.....	10
3.5 - Análise estatística.....	10
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
4.1 - Microrganismos parasitas dos escleródios.....	11
4.2 - Inviabilidade dos escleródios.....	12
4.3 - Análise dos tratamentos.....	13
4.3.1 - Tratamento 1.....	13
4.3.2 - Tratamento 2.....	14
4.3.3 - Tratamento 3.....	16
4.3.4 - Tratamento 4.....	16

4.4 - Viabilidade de escleródios em meio Neon-S.....	17
4.5 - Considerações finais.....	18
5 – CONCLUSÃO.....	20
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

1 - INTRODUÇÃO

O fungo de solo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary é um patógeno polífago capaz de causar grandes perdas em inúmeras plantas cultivadas. Esse fungo é causador do chamado mofo branco e o registro do primeiro caso da doença no Brasil foi na cultura da batata, ocorrido no Estado de São Paulo, em 1921 (Chaves, 1961 apud BUENO, 2004). Na cultura da soja, que atualmente cresce em área de cultivo, chegando até mesmo no oeste do Estado do Rio Grande do Sul (RS), o mofo branco pode provocar reduções de rendimento de até 70% (MEYER, 2013).

Os principais sintomas encontrados nas plantas atacadas por esse fungo são lesões encharcadas com coloração parda e consistência mole e a formação de micélio branco que recebe a denominação popular de “mofo branco”. Esse fungo possui a capacidade de formar estruturas de resistências que são denominadas de escleródios e que têm a capacidade de permanecer viáveis no solo por cerca de 8 anos (BUENO, 2008).

A introdução e a disseminação da doença podem se dar pelo uso de sementes contaminadas com escleródios e por sementes infectadas pelo micélio (BOTELHO et al., 2015). Além disso, também ocorrem pelo uso de máquinas agrícolas oriundas de outras regiões ou lavouras, sem a devida sanitização; pelo vento; pelos animais e qualquer meio que possa carregar os escleródios ou esporos da doença (JULIATTI, 2013).

O manejo desta doença tem como objetivos a redução da produção de inóculo e a redução da viabilidade dos escleródios no solo. Esses objetivos são alcançados mediante a integração de medidas de controle como a semeadura direta sobre palhada de gramíneas, aplicação de fungicidas no tratamento de sementes e na parte aérea das plantas, emprego de controle biológico através da infestação do solo com agentes antagonistas e rotação e/ou sucessão com culturas não hospedeiras (MEYER et al., 2014).

A Fronteira Oeste do RS é conhecida pelas grandes extensões de áreas com o cultivo de arroz irrigado, o qual não é afetado pelo patógeno *S. sclerotiorum*. No entanto, em algumas áreas da região inicia-se o cultivo de soja, uma planta que é suscetível ao patógeno, como alternativa de rotação de cultura para facilitar o controle do arroz vermelho, que é a principal planta daninha da cultura arrozeira.

Com a chegada da cultura da soja na região da Fronteira Oeste do RS, é possível que se instalem doenças fúngicas que antes eram inexpressivas dentro dessas áreas. No caso do mofo branco, uma vez que os solos agrícolas se encontrem contaminados com esse tipo de patógeno, torna-se difícil a erradicação do mesmo.

Durante a rotação de cultura do arroz com a soja ocorrem drásticas alterações nas condições do solo, que passa de uma situação de cultivo inundado (solo 100% saturado) para o cultivo de sequeiro. Essa mudança, além de impactar as propriedades físicas e químicas do solo, impacta também em nível microbiológico, o que pode de maneira direta interferir na sobrevivência de diferentes tipos de micro-organismos. Essa interferência na composição da microbiota do solo é o foco deste trabalho, pois se a irrigação utilizada no arroz for suficiente para inviabilizar os escleródios de *S. sclerotiorum*, talvez seja um manejo eficiente no controle do mofo branco, na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, de forma sustentável, sem haver a necessidade da utilização de agrotóxicos. De acordo com Reis e Forcelini (1995), o controle de *S. sclerotiorum* utilizando inundação de área também pode ser utilizado, porém o mesmo apresenta limitações do ponto de vista técnico e econômico. Dentre as limitações o custo elevado e as características intrínsecas do solo devem ser levados em consideração. As taipas também podem ser um fator limitante dentro deste método, pois em determinadas fases da cultura a mesma podem apresentar condições de solo diferenciadas, o que propiciará uma maior sobrevivência dos escleródios.

1.1 - OBJETIVOS

1.1.1 - Objetivo geral

Identificar os micro-organismos parasitas e avaliar a viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos a diferentes profundidades e umidades do solo, sob diferentes condições de aeração.

1.1.2 - Objetivos específicos

Identificar os micro-organismos parasitas de escleródios de *S. sclerotiorum* em diferentes profundidades e umidades do solo, por até 60 dias.

Avaliar a viabilidade de escleródios em diferentes profundidades e umidades do solo, por até 60 dias.

Avaliar a viabilidade de escleródios, utilizando meio de cultura NEON-S, aos 60 dias após a instalação do experimento.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - *Sclerotinia sclerotiorum*

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fungo classificado no filo *Ascomycota*, classe *Discomycetes*, ordem *Helotiales* e família *Sclerotiniaceae* (HAWKSWORTH et al., 1995). O *S. sclerotiorum* pertence a um grupo de fungos fitopatogênicos que causam tombamento em pré e pós-emergência, além de podridão no colo ou na parte aérea das plantas (BEDENDO, 1995; ETHUR et al., 2014).

Esse fungo fitopatogênico se nutre através da decomposição de tecidos vegetais do hospedeiro, não tendo especificidade quanto ao hospedeiro, podendo gerar doenças em diferentes espécies vegetais, como plantas ornamentais, hortícolas, culturas comerciais, frutíferas e florestais (BEDENDO, 1995).

Este agente patogênico tem a capacidade de produzir ácido oxalacético, que tem como função baixar o pH dos tecidos do hospedeiro, inibindo a reação de enzimas de defesa da planta e aumentando as atividades das enzimas do patógeno responsáveis pela degradação da parede celular (LUMSDEN, 1979).

Segundo Leite (2005) pode parasitar mais de 75 famílias, 278 gêneros e 480 espécies de plantas em diversas partes do mundo, destacando-se as culturas da soja, girassol, feijão, tomate e batata como as principais hospedeiras.

Dentre os métodos utilizados para o combate ao mofo branco, os tratamentos químico e biológico são os mais utilizados (WILLETTS et al., 1992; MEYER, 2013). Existe no mercado uma gama de produtos químicos para o controle do patógeno, de forma que, dentre os principais ingredientes ativos registrados no Brasil, destacam-se: fluazinam, carbendazim, Boscalida + dimoxistrobin, fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol, dentre outros (AGROFIT, 2016).

No controle biológico, faz-se uso de outros fungos para manter a população (fonte de inóculo) do patógeno em níveis econômicos aceitáveis, prezando ao mesmo tempo o equilíbrio ambiental.

2.2 – Escleródios

O fungo *S. sclerotiorum* produz estruturas de resistência denominadas escleródios dentro e na superfície dos tecidos vegetais colonizados, que retornam ao solo com os resíduos da cultura após a colheita (GARCIA et al., 2012).

Os escleródios também estão presentes em diferentes gêneros de fungos fitopatogênicos, tais como: *Verticillium*, *Rhizoctonia* e *Macrophomina*. Na grande maioria, esses escleródios apresentam tamanhos diminutos, sendo denominados de microescleródios, porém, no caso do *S. sclerotiorum*, podem alcançar até 5cm, apresentando assim dimensões significativas (AMORIN,1995).

Segundo Zambolim et al. (1999) os escleródios desempenham papel vital no ciclo de *S. sclerotiorum*, pois permitem que o fitopatógeno fique viável durante longos períodos no solo, na ausência de culturas suscetíveis e/ou plantas hospedeiras.

2.2.1 - Estrutura

Os escleródios são formados basicamente por múltiplas hifas agregadas. Foram reconhecidas três fases no seu desenvolvimento: 1) a agregação de hifas; 2) o desenvolvimento no tamanho, juntamente com a exsudação de gotículas em sua superfície; e 3) a maturação, envolvendo o delineamento e deposição de melanina, seguido da consolidação interna (VENTUROSO et al., 2014).

Essas estruturas de resistência armazenam lipídios, carboidratos e proteínas para o suprimento do fungo, até que as condições do solo estejam suficientemente favoráveis para que haja a germinação carpogênica ou micelogênica (KRUGNER; BACCHI, 1995).

2.2.2 - Germinação

Os escleródios são induzidos a germinar, seja de forma micelogênica, apresentando hifas vegetativas, ou carpogênica, por meio de apotécios capazes de produzir milhões de ascósporos (KRUGNER; BACCHI, 1995). Ambos podem resultar em infecções nas plantas; todavia, maior potencial epidêmico foi verificado pelos ascósporos liberados na germinação carpogênica (BOLTON et al., 2006). Para a ocorrência da germinação do escleródio é necessária a interação de diferentes fatores

ambientais, os quais incluem: temperatura, umidade do solo e a intensidade de luz que incidem sobre os escleródios (LIU et al., 2007).

2.2.3 - Sobrevivência

Quando as condições ambientais não são favoráveis no campo, os escleródios permanecem viáveis até terem acesso ao substrato preferencial (REIS et al., 2011). Todavia, a viabilidade não deve ser generalizada para diferentes condições edafoclimáticas, pois tem-se verificado divergências no tempo de sobrevivência dos escleródios (WILLETTS et al., 1992).

Segundo Reis et al. (2005), o sistema de cultivo também apresenta capacidade de afetar a viabilidade das estruturas de resistência. Seus trabalhos mostraram que, com 14 meses em semeadura direta e 36 meses em semeadura convencional, os escleródios já se apresentavam inviáveis.

Os escleródios podem se tornar inviáveis de acordo com as condições ambientais como a alta umidade, que reduz sua longevidade de vários meses para algumas semanas (AMORIM, 1995; MORTON, 1998; BUENO et al., 2007), e pela ação de parasitas (Quadro 1), que podem ser: bactérias (DUNCAN et al., 2005; ZENG et al., 2012), nematóides (FERRAZ et al., 2011) e fungos (ZENG et al., 2012).

Quadro 1. Relação de parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, encontrados na literatura.

Parasitas	Referências bibliográficas
Fungos	
<i>Aspergillus</i> spp.	FERRAZ et al., 2002; GÖRGEN et al., 2008
<i>Penicillium</i> spp.	FERRAZ et al., 2002; GÖRGEN et al., 2008
<i>Trichoderma</i> spp.	FERRAZ et al., 2002 ; ETHUR et al. 2014, 2005; ZENG et al 2012
<i>Fusarium</i> spp.	FERRAZ et al., 2002; GÖRGEN et al., 2008; FERRAZ et al., 2011
<i>Rhizoctonia</i> sp.	FERRAZ et al., 2011
<i>Rhizopus</i> spp.	GÖRGEN et al., 2008
<i>Verticillium</i> spp.	FERRAZ et al., 2002
<i>Cladosporium</i> spp.	FERRAZ et al., 2011
<i>Gliocladium</i> spp.	FERRAZ et al., 2011
<i>Coniothyrium minitans</i>	ZENG et al., 2012
<i>Mucor</i> sp.	MERRIMAN, 1976
<i>Curvularia</i> spp.	ETHUR, et al., 2014
<i>Lichtheimia (Absidia)</i> spp.	ETHUR, et al., 2014
<i>Actinomicetos</i>	ZENG et al., 2012
<i>Acremonium</i> spp.	ETHUR, et al., 2014
<i>Periconia</i> spp.	ETHUR, et al., 2014
<i>Isaria</i> spp.	ETHUR, et al., 2014
Chromistas	
<i>Pythium</i> sp.	MADSEN; NEERGAARD 1999
<i>Phytophthora</i> sp.	ETHUR, et al., 2014
Bactérias	DUNCAN et al., 2005; ZENG et al., 2012
Nematóides	FERRAZ et al., 2011

3 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo do campus Itaqui/UNIPAMPA.

3.1 - Solo utilizado

Foi realizada a coleta de solo agrícola na área experimental do campus Itaqui. Este solo é classificado como Plintossolo Háptico eutrófico, o local da coleta foi ao lado dos canteiros de alface. Com auxílio de uma pá de corte, o solo foi coletado em profundidades na camada entre 5 e 15cm. Posteriormente, esse solo foi peneirado (malha de 2cm), a fim de eliminar eventuais resíduos e torrões. O solo peneirado foi armazenado em sacos plásticos e transportado para o laboratório.

Quadro 2. Características do solo coletado.

pH água	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC efetiva	SMP	% MO	% Argila	Textura	P Mehlich	K	CTC pH7
1:1	Cmol/dm ³						M/V			Mg/dm ³	Cmol/dm ³	
5,3	6	1,7	0,1	3,1	7,8	6,3	0,8	26	3.0	6,8	0,621	10,8

3.2 - Produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*

O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado no presente trabalho pertence à micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo, do Campus Itaqui/UNIPAMPA.

Para a produção de escleródios utilizou-se micélios e escleródios do fitopatógeno, que foram repicados em 70 placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). As placas foram mantidas em câmara climatizada BOD, à temperatura de 22°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após 20 dias, os escleródios formados foram retirados para serem utilizados no experimento.

3.3 - Viabilidade e parasitas dos escleródios

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições, avaliados em quatro épocas distintas. Os tratamentos foram: Tratamento 1 – escleródios enterrados na profundidade de 2cm e

mantido sob capacidade de campo; Tratamento 2 - escleródios enterrados na profundidade de 2cm e solo 100% saturado de água; Tratamento 3 - escleródios enterrados na profundidade de 10cm e irrigação de acordo com a capacidade de campo; tratamento 4 - escleródios enterrados na profundidade de 10 cm e solo 100% saturado de água.

Foram colocados dez escleródios de *S. sclerotiorum* em cada trouxa de nylon, (7,5 x 7,5cm, nylon simples) fechados com barbantes em suas extremidades. Feito isso, as trouxas foram enterradas nas profundidades de 2 e 10cm, em copos plásticos de 16cm de altura e capacidade de 700ml de volume. Os copos foram preenchidos com solo peneirado e, após receberem as trouxas, foram irrigados com diferentes regimes de umidade: solo em capacidade de campo (50-70%) e solo 100% saturado (com lâmina de água de 2cm, sobre o nível do solo). Os copos foram identificados e colocados aleatoriamente em câmara de crescimento de plantas, na temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h.

A irrigação de acordo com a capacidade de campo foi estipulada utilizando o método prático, aonde se preenche um copo (vazado) com solo seco até o nível desejado e se realiza a pesagem do mesmo. Posteriormente, se satura o solo com água e se realiza novamente uma pesagem após 48 horas para determinação da quantidade de água retida nos micros poros do solo. Após a implantação, a quantidade de água a ser irrigada para manutenção da capacidade de campo era realizada por diferença de peso (média de 8 copos).

As avaliações foram realizadas em quatro épocas: 15, 30, 45 e 60 dias após a instalação do experimento. Cada avaliação consistiu na retirada de quatro trouxas por tratamento (cada trouxa equivale a 1 repetição). As trouxas foram retiradas do solo e passadas em água corrente para a retirada dos resíduos de solo que permaneceram aderidos ao nylon. Os dez escleródios retirados de cada trouxa passaram por uma tríplice lavagem, sendo esta composta por um minuto de submersão em álcool (70%), um minuto em hipoclorito de sódio (0,5%) e três passagens de um minuto em água destilada e esterilizada. Após estas etapas, os escleródios foram deixados para secar por 10 minutos sobre papel-filtro esterilizado dentro de câmara de fluxo laminar.

Posteriormente, cada escleródio foi alocado em uma placa de Petri de 9cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA. As placas com escleródios foram colocadas em câmara climatizada, à temperatura de 22°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após 5 dias, as placas foram avaliadas observando-se: "integridade dos escleródios" e se

essas estruturas foram parasitadas por micro-organismos. Para isso, utilizou-se microscópio estereoscópico e ótico e literatura especializada para a identificação dos fungos em nível de gênero.

Na última avaliação, 50% dos escleródios seguiram o protocolo descrito anteriormente para as avaliações dos 15, 30 e 45 dias.

3.4 - Viabilidade de escleródios em meio Neon-S

Na última avaliação (aos 60 dias), foram colocados 50% dos escleródios remanescentes dos quatro tratamentos, em meio de cultura agar-bromofenol Neon S. O meio constituiu-se de: 39g de BDA em pó, 50mg de azul de bromofenol e 50mg de cloranfenicol, em 1L de água destilada. Posteriormente, esse meio foi autoclavado a 121°C por 20min (Napoleão et al., 2006).

Segundo Napoleão et al. (2006) o meio Neon-S permite verificar de modo rápido e eficiente a viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum*. O método consiste na utilização de um indicador de pH em meio de cultura, tornando o meio amarelado devido à liberação de ácido oxálico pelo fungo *S. sclerotiorum*.

A avaliação ocorreu após 8 dias de permanência em câmara BOD, em temperatura de 20°C e consistiu no número de escleródios que desenvolveram coloração amarelada no meio de cultura, no seu entorno.

3.5 - Análise estatística

Os dados foram transformados para percentagem e foi realizada análise de regressão devido às quatro diferentes épocas de avaliação para as variáveis: escleródios degradados e principais micro-organismos parasitas dos escleródios, por meio do programa Microsoft Excel.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Micro-organismos parasitas dos escleródios

Foram encontrados nesse experimento quatro grupos de micro-organismos parasitando os escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*: fungos, bactérias, chromistas (*Pythium*) e actinomicetos, em todos os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência (%) e diversidade de micro-organismos presentes nos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, nas profundidades de 2 e 10cm, em solo sob capacidade de campo e saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016.

Micro-organismo	2CC	2S	10CC	10S	Geral
Gêneros Fúngicos					
<i>Trichoderma</i>	37%	2%	62%	3%	26,0%
<i>Fusarium</i>	8%	3%	4%	4%	4,7%
<i>Penicillium</i>	8%	1%	11%	3%	5,7%
<i>Cladosporium</i>	1%	0%	0%	2%	0,7%
<i>Mucor</i>	2%	0%	1%	1%	0,9%
<i>Aspergillus niger</i>	0%	1%	0%	0%	0,2%
<i>Lichtheimia (Absidia)</i>	1%	0%	1%	3%	0,9%
Mitospórico	3%	1%	0%	2%	1,4%
Chromista					
<i>Pythium</i>	49%	1%	49%	4%	25,7%
Actinomicetos					
	7%	3%	5%	6%	4,8%
Bactérias					
	7%	51%	8%	53%	29,7%

* 2CC = 2cm/Capacidade de Campo; 2S = 2cm/Saturado; 10CC = 10cm/ Capacidade de Campo e 10S = 10cm/Saturado

Dentre os gêneros distintos de fungos encontrados, sete foram identificados: *Aspergillus (A. niger)*; *Cladosporium*, *Fusarium*; *Lichtheimia (Absidia)*; *Mucor*; *Penicillium* e *Trichoderma*. Um gênero de fungo não foi identificado, apresentou fiáldes alongadas, com a presença de quatro esporos terminais, caracterizando ser um Mitospórico.

A presença constante de *Pythium* nos escleródios (Tabela 1) pode ter sido resultado das condições climáticas incomuns apresentadas na região de Itaqui, nos anos de 2015 e 2016, que foi de alta e constante precipitação pluviométrica. Fungos de solo desenvolvem-se, principalmente, com maior umidade no solo (KRUGNER & BACCHI, 1995).

As bactérias parasitaram 29,7% dos escleródios em geral, porém quando observados apenas os tratamentos 2 e 4, onde existia a condição de solo 100%

saturado de água, esse percentual atingiu 52% do total dos escleródios avaliados. As bactérias são microrganismos que se desenvolvem em locais úmidos (FERREIRA & SALGADO, 1995).

As bactérias foram os micro-organismos que ocorreram em maior frequência, de 12,4%, 13,4% e 80,8%, quando comparadas com *Trichoderma*, *Pythium* e *Penicillium*, respectivamente. Os fungos de maior expressão foram do gênero *Trichoderma* e *Penicillium*, sendo que o primeiro apresentou maior frequência, diferindo do segundo em 78,1% (Tabela 1). *Trichoderma* spp. mostrou-se promissor agente de controle biológico de *S. sclerotiorum* em diversos trabalhos, dentre os quais ocorrência de 31,7% de controle em trabalho com a cultura da soja, constatado por Zeng et al. (2012) e parasitando 41% dos escleródios em trabalho realizado por Ethur et al. (2014). Assim como nos estudos encontrados na literatura, os isolados de *Trichoderma* spp. encontrados nesse trabalho, parasitando escleródios, têm potencial como agentes de controle biológico de *S. sclerotiorum*.

4.2 - Inviabilidade dos escleródios

Observou-se que ocorreram degradações dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* enterrados no solo (perda da consistência), em especial nos tratamentos com condição de solo 100% saturado (tratamentos 2 e 4). Dentre os 640 escleródios enterrados durante a implantação do experimento, 535 foram recuperados ao final de todas as avaliações, sendo que 105 (16,4% do total) foram totalmente degradados pelos microrganismos presentes no solo e em consequência da umidade. A presença de escleródios degradados também foi observada por Ferraz et al. (2011), quando enterrados em diferentes profundidades do solo.

Do total de escleródios degradados durante os 60 dias no solo, 99% estavam presentes nos tratamentos 2 e 4, mostrando que a condição de solo saturado proporcionou uma menor taxa de sobrevivência dos escleródios, quando comparado ao solo com umidade referente à capacidade de campo. De acordo com Amorim (1995), os escleródios podem se tornar inviáveis de acordo com as condições ambientais como alta umidade, que reduz sua longevidade de vários meses para algumas semanas. A degradação das estruturas de resistência ocorreu após 15 dias da implantação do experimento, porque foi detectada inicialmente na segunda avaliação, que ocorreu aos 30 dias (Figura 1).

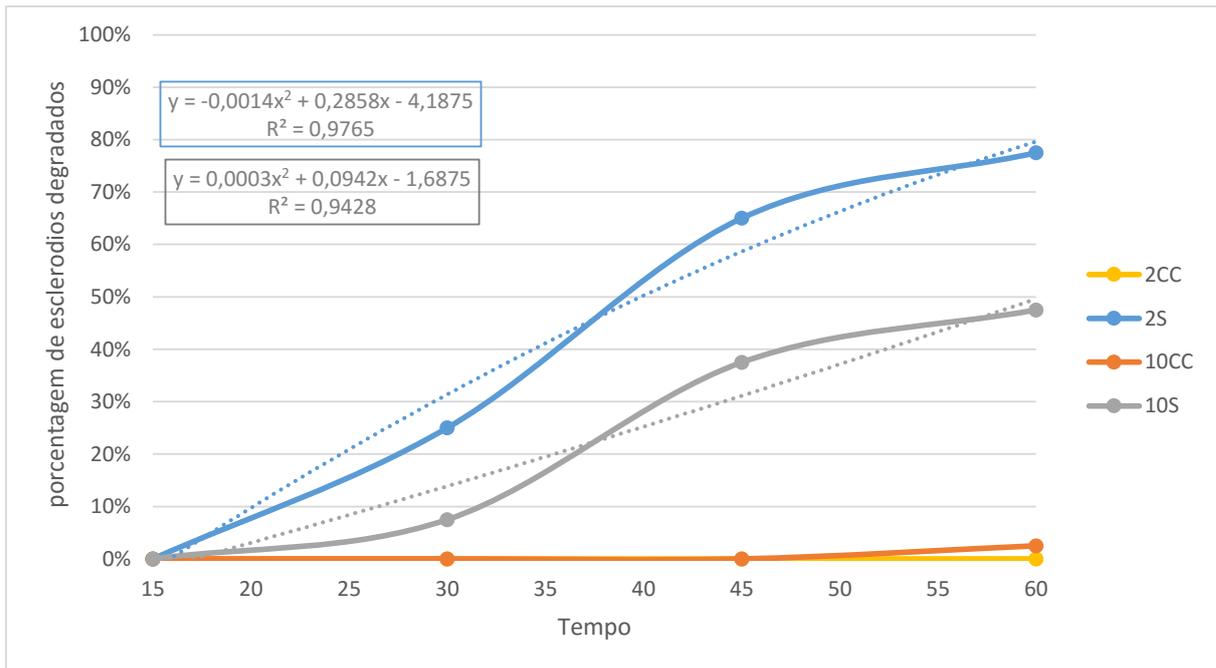


Figura 1. Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* degradados (%), enterrados nas profundidades de 2 e 10cm, em sob capacidade de campo e saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016. (2CC = 2cm/Capacidade de Campo; 2S = 2cm/Saturado; 10CC = 10cm/ Capacidade de Campo e 4S = 10cm/Saturado).

4.3 - Análise dos tratamentos

4.3.1 - Tratamento 1

No tratamento 1, os escleródios foram enterrados a uma profundidade de 2 cm e o solo irrigado de acordo com a capacidade de campo (CC). Nessas condições, ocorreu a presença de 87,5% dos gêneros fúngicos encontrados parasitando escleródios de *S. sclerotiorum*, além de *Pythium*, actinomicetos e bactérias (Tabela 1).

O resultado encontrado no tratamento 1, com relação à diversidade de gêneros fúngicos, foi o mesmo para o tratamento 3 (10cm profundidade/CC). Entretanto, quando comparado com o tratamento 2, onde os escleródios foram enterrados na mesma profundidade (2cm) e com solo 100% saturado, a diferença da diversidade de gêneros fúngicos ficou em 28,6% a menos para o tratamento 2. No último, as bactérias tiveram maior frequência do que os fungos (Tabela1).

Dos parasitas encontrados no tratamento 1, destacaram-se: *Pythium* com 49% e *Trichoderma* com 37% de ocorrência nos escleródios. Os dois gêneros apresentaram flutuações, o que pode ser observado nas quatro avaliações do

experimento (Figura 2). Essa frequência média de *Pythium* parasitando escleródios foi encontrada em experimento realizado em solos da Fronteira Oeste do RS, na ordem de 45% (ETHUR et al., 2014).

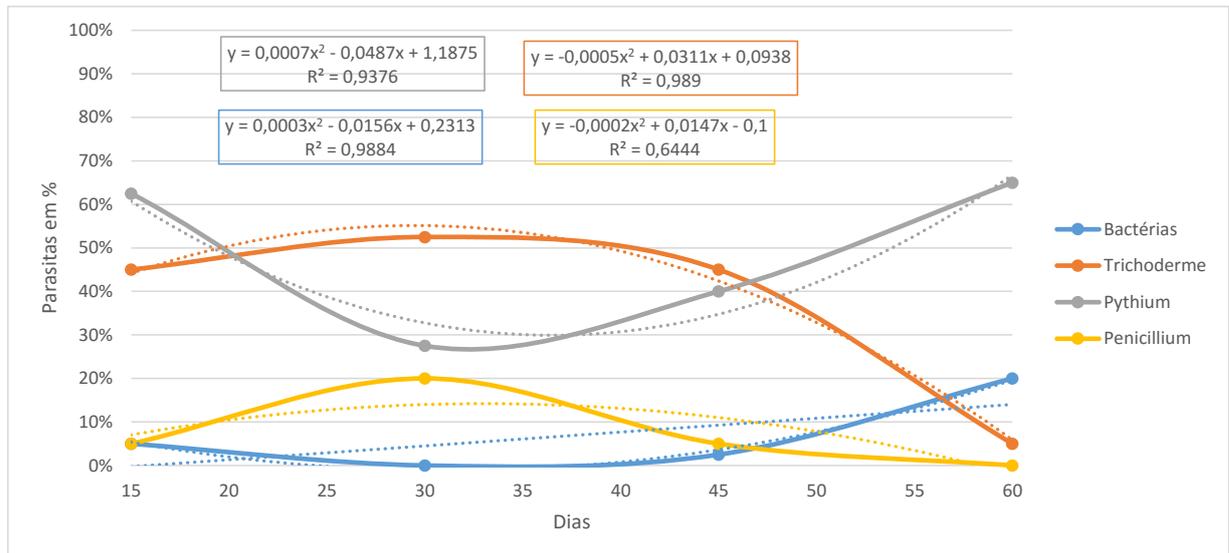


Figura 2. Micro-organismos (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, na profundidade de 2cm, em solo sob capacidade de campo. Itaqui, RS, 2016.

As curvas de *Pythium* e Bactérias mostram uma provável tendência ao aumento de ocorrência após 60 dias, enquanto que as curvas de *Trichoderma* e *Penicillium* mostram uma tendência à redução de ocorrência após 60 dias (Figura 2).

Observou-se como particularidade que o tratamento 1 foi o único onde todos os escleródios foram recuperados após 60 dias.

4.3.2 - Tratamento 2

Na condição do tratamento 2, onde os escleródios foram enterrados a 2cm de profundidade e o solo 100% saturado, verificou-se a menor taxa de sobrevivência dos mesmos aos 60 dias, quando comparado aos demais tratamentos (Figura 1).

Observa-se que, neste tratamento, a curva de bactérias apresentou valor elevado inicial, que foi decrescendo conforme as avaliações foram sendo realizadas. Entretanto, comparando esse resultado com a curva de degradação dos escleródios, observa-se que esta, ao contrário, aumenta quase que proporcionalmente no mesmo intervalo de tempo, indicando que a percentagem de bactérias diminuiu devido à ausência de escleródios (Figura 3).

De acordo com a equação polinomial, que melhor se ajustou à ocorrência de degradação de escleródios, ao final de 68 dias, provavelmente, todos os escleródios teriam sido degradados neste tratamento (Figura 3). Padrão semelhante de inviabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* foi encontrado em experimento com bactérias realizados por DUNCAN et al (2005); porém, neste experimento, a inviabilidade crescia de acordo com a profundidade em que os mesmos foram enterrados.

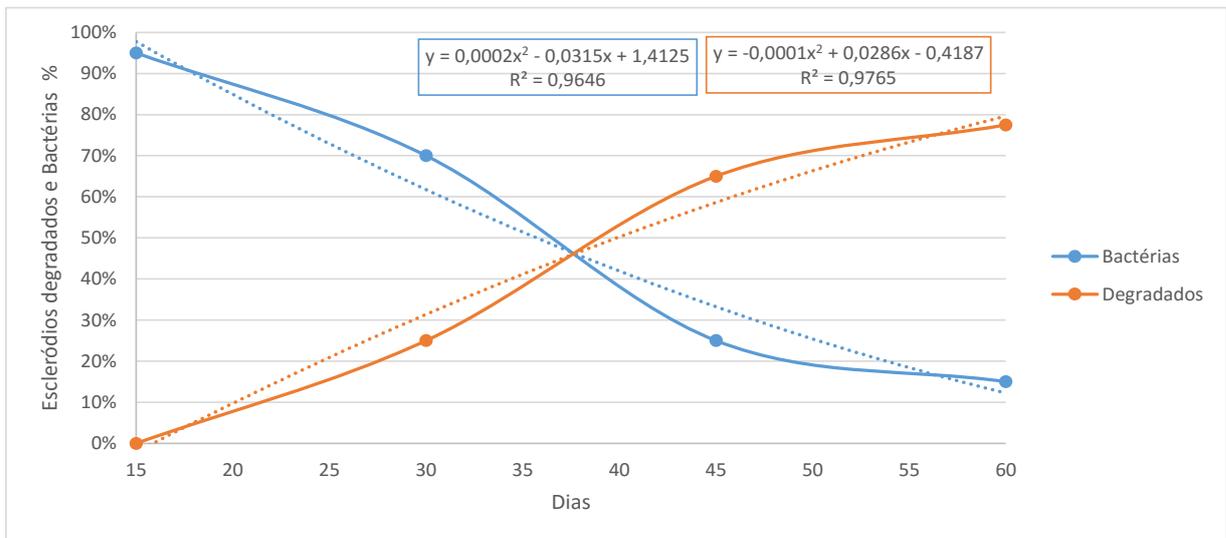


Figura 3. Escleródios degradados e bactérias (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados na profundidade de 2cm, em solo saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016.

Os parasitas fúngicos tiveram pouca expressão como parasitas de escleródios nas condições do tratamento 2, pois foram encontrados apenas nas duas primeiras avaliações, ou seja, até os 30 dias da implantação do experimento, sendo que posteriormente foram encontradas apenas bactérias.

Esse fato ocorreu possivelmente devido à baixa disponibilidade de oxigênio no solo e à saturação de água. Em solos alagados, o suprimento de O_2 para seu interior torna-se muito lento em virtude da baixa taxa de difusão deste gás na água que é cerca de 10.000 vezes menor na água do que a do ar (SOUSA et al., 2009). Em conseqüências disso apenas a proliferação de bactérias anaeróbicas facultativas e obrigatórias podem aparecer nesta situação, justificando a maior presença deste micro-organismo nesta profundidade de 10cm e condição de solo saturado.

4.3.3 - Tratamento 3

No tratamento 3, os escleródios foram enterrados a uma profundidade de 10 cm e o solo irrigado de acordo com a capacidade de campo. Quando comparado ao tratamento 4, onde os escleródios também haviam sido enterrados à profundidade de 10cm, porém com solo 100 % saturado de água, constatou-se que o tratamento 3 apresentou ocorrência 85 % menor de frequência de bactérias.

Quanto à ocorrência dos demais microrganismos, *Trichoderma* e *Penicillium* se destacaram obtendo percentuais de 62% e 11%, respectivamente, de todos os escleródios parasitados. *Pythium* (Chromista) apresentou o segundo maior percentual de 49% ao final de 60 dias; no entanto, se acompanharmos a curva de tendência, veremos um possível aumento da ocorrência após 60 dias (Figura 4).

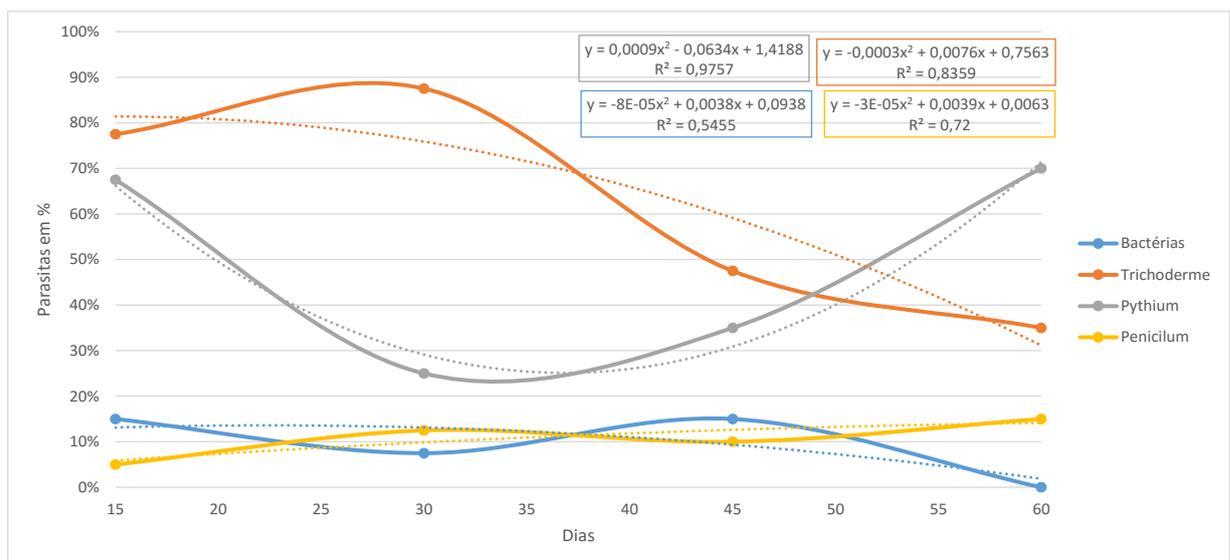


Figura 4. Microrganismos (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, na profundidade de 10cm, em solo sob capacidade de campo. Itaqui, RS, 2016.

4.3.4 - Tratamento 4

No tratamento 4, onde os escleródios foram enterrados a 10cm de profundidade e o solo 100% saturado, foi detectada uma das maiores taxas de ocorrência de bactérias, 53% dos escleródios.

Quando comparado ao tratamento 2 (profundidade de 2cm/100% saturados), observou-se semelhança na alta ocorrência de bactérias; no entanto, a taxa de degradação foi muito menos acentuada do que a encontrada no tratamento 2 (Figuras 1, 3 e 5).

A curva de bactérias apresentou comportamento geral decrescente; contudo, entre os períodos de 30 e 45 dias obteve-se uma frequência estável de ocorrência nas avaliações (Figura 5). Possíveis causas para esse comportamento, diferente do encontrado no tratamento 2, se dão pelas diferentes profundidades em que os escleródios permaneceram enterrados no solo. Sugere-se que deva existir diferenças quanto à diversidade bacteriana no solo, em diferentes profundidades, com saturação de 100% de água.

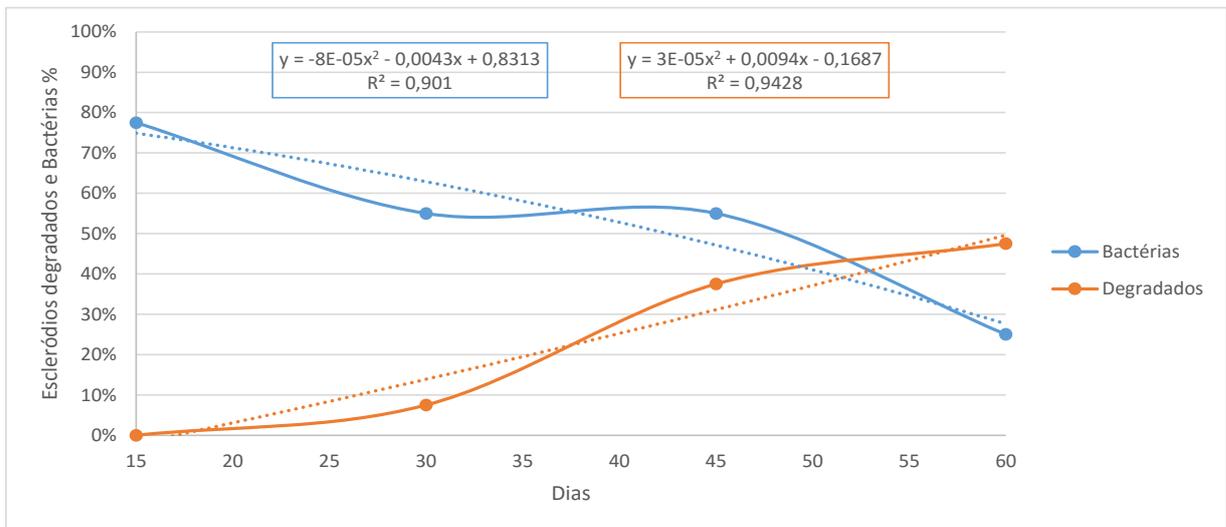


Figura 5. Escleródios degradados e bactérias (%) parasitas de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados na profundidade de 10cm, em solo saturado com lamina d'água de 2cm. Itaqui, RS, 2016.

Os parasitas fúngicos tiveram pouca expressão neste tratamento e foram encontrados parasitando os escleródios até 45 dias da implantação do experimento, sendo que na última avaliação foram encontradas apenas bactérias. Esse fato ocorreu possivelmente devido à baixa disponibilidade de oxigênio no solo e à saturação de água.

4.4 - Viabilidade de escleródios em meio Neon-S

Na avaliação de viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*, realizada aos 60 dias após a implantação do experimento, nos tratamentos submetidos à irrigação de acordo com a capacidade de campo (tratamentos 1 e 3), observou-se viabilidade entre 25 e 30% (Figura 6), o que demonstra que os microrganismos parasitas (Tabela

1) presentes no solo não foram eficientes para realizar o controle de 100% desse patógeno. Esses resultados de viabilidade estão de acordo com os apresentados por Duncan et al., (2005). No entanto, o mesmo prolongou esse trabalho até 12 meses e encontrou resultados próximos a 2,5% de viabilidade a 10cm de profundidade.

Contudo, quando observados os tratamentos 2 e 4, onde os escleródios foram submetidos a solo saturado (100% de umidade), nota-se um controle de 100% dos escleródios (Figura 6), confirmando a inviabilidade dessas estruturas, observada na tendência crescente do número de escleródios degradados em ambos os tratamentos, nas figuras 3 e 5.

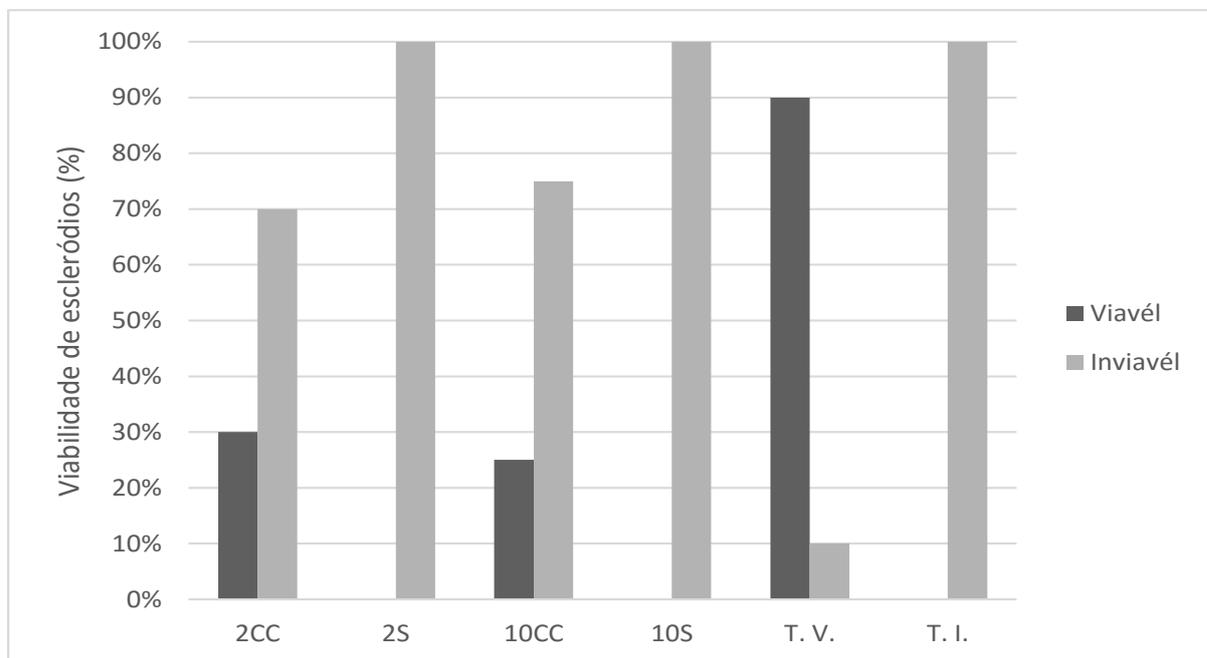


Figura 6. Viabilidade (%) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, enterrados nas profundidades de 2 e 10cm, em solo sob capacidade de campo e solo saturado com lamina d'água de 2cm, avaliados após 60 dias da implantação do experimento em meio Neon-S. Itaqui, RS, 2016. (2CC = 2cm/CC; 2S = 2cm/saturado; 10CC = 10cm/CC; 10S= 10cm/saturado; T.V. = Testemunha viável; T.I.= Testemunha Inviável)

4.5 - Considerações finais

Com o início do cultivo de soja na Fronteira Oeste do RS, em rotação com o arroz, pode ser disseminado, via semente (BOTELHO et al, 2015), o fitopatógeno *S. sclerotiorum*. O manejo do arroz irrigado seria suficiente para realizar o controle do fitopatógeno, por ser um sistema de inundação de área? De acordo com os resultados do presente trabalho, pode-se inferir que nos locais onde ocorrerem a inundação, após

60 dias, não serão encontrados escleródios viáveis do fitopatógeno *S. sclerotiorum*. Entretanto, deve-se ressaltar que os escleródios que estiverem presentes nas taipas ou em áreas aonde ocorra falha de irrigação, eles poderão sobreviver, principalmente se estiverem na presença de plantas daninhas suscetíveis, pois esse fungo de solo é polífago, ocasionando doenças em uma ampla diversidade de plantas (LEITE, 2005).

5 - CONCLUSÃO

Para o solo da área experimental do campus Itaqui-RS, os micro-organismos que parasitam escleródios de *S. sclerotiorum* são fungos, chromista, actinomicetos e bactérias. Dentre os microrganismos, as bactérias são encontradas com maior frequência em diferentes profundidades e umidades do solo. Os gêneros *Trichoderma* e *Pythium* são os encontrados com maior frequência dentre os fungos e chromista, respectivamente.

No solo saturado de água, as bactérias são encontradas parasitando os escleródios até a última avaliação aos 60 dias; entretanto os fungos, chromista e actinomicetos são encontrados aos 30 e 45 dias, nas profundidades de 2cm e 10cm, respectivamente. Na capacidade de campo, os microrganismos em geral são encontrados até a última avaliação aos 60 dias.

No solo saturado de água nas duas profundidades, aos 60 dias, os escleródios de *S. sclerotiorum* tornam-se inviáveis, o que se pode comprovar com meio de cultura Neon-S. No solo em capacidade de campo, aos 60 dias, os escleródios apresentam viabilidade, em meio de cultura Neon-S.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v.69, n.8, p.896-899, 1979.
- AGROFIT **Agrofit**: Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 22 jun. 2016.
- AMORIM, L. Sobrevivência do inóculo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995. p. 126-135.
- BEDENDO, I.P. Podridão de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995. p.829-837.
- 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**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.
- BOTELHO, L. S.; BARROCAS, E. N.; MACHADO, J. C.; MARTINS, R. S. Detection of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean seeds by conventional and quantitative PCR techniques. **Journal of Seed Science**, v.37, n.1, p. 55-62, 2015.
- BUENO, C. J., **Produção e preservação de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo**. 2004. 116 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, dez. 2004.
- BUENO, C.J.; AMBRÓSIO, M.M.Q.; SOUZA, N.L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.1, p.47-55, 2007.
- DUNCAN, R.W.; FERNANDO, W.G.D.; RASHID, K.Y. Time and burial depth influencing the viability and bacterial colonization of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.10, p.1-10, 2005.
- ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.F.B.; SILVA, A.C.F.; STEFANELLO, D.R.; ROCHA, E.K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.127-133, 2005.
- ETHUR, L.Z.; COPATTI, A. S. ; FIPKE, G. M. ;CALVANO, C. C. A. ; PAZINI, J. B. Micobiota parasitária de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* isolada de solos da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.81, n.1, p. 62-67, 2014.
- FERRAZ, L.C.L.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; NASSER, L.C.B. Viabilidade de *Sclerotinia sclerotiorum* após a solarização do solo na presença de cobertura morta. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.1, p.17-26, 2003.

FERRAZ, L.C.L.; NASSER, L.C.B.; CAFÉ-FILHO, A.C. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e incidência de fungos antagonistas em solo de Cerrado. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.4, p.208-210, 2011.

FERREIRA, L.P.; SALGADO, C.L. Bactérias. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995. p.97-130.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; CASSEMIRO, T. A. Produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de Bary em meio de cultura. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2012

GÖRGEN, A.C.; CIVARDI, E.; PERRETO, E.; CARNEIRO, L.C.; SILVEIRA NETO, A.N.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. **Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* com o manejo de *Brachiaria ruziziensis* e aplicação de *Trichoderma harzianum***. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2008. 4p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 81).

HAWKSWORTH, D. L. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi**. New York: CAB International, 1995. 616 p.

JULIATTI, F. C. **Mofo branco em soja**: danos causados e alternativas para o manejo da doença. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=26443&secao=Sanidade+Vegetal>> Acesso em: 24 de março 2016.

KRUGNER, T.L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995. P.46-95

LEITE, R. M. V. B. C. (Ed.). **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Embrapa Soja, 2005. 3p. (Embrapa Soja, Comunicado Técnico 76).

LIU, Y; PAUL, V. H. Studies on the germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 114, n. 1, p. 14-19, 2007.

LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p.890-896, 1976.

MADSEN, A.M.; NEERGAARD, E. Interactions between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and sclerotia of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, p.761-768, 1999.

MERRIMAN, P.R. Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.8, n.5, p.385-389, 1976.

MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M. (Ed.). **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo-branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Embrapa Soja, Documentos 345).

MORTON, J.B. Fungi. In: SYLVIA D.M. (Ed.) *Principles and applications of soil microbiology*. New Jersey: Prentice Hall. 1998. p.72-93.

NAPOLEÃO, Reginaldo et al. Neon-S, novo meio para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 2, p. 180-182, 2006.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; GAVA, F.; MOREIRA, É. N.; SACHS, C. Indução da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes substratos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 10, n. 2, p. 145-150, 2011.

REIS, E. M.; TOMAZINI, S. L. Viabilidade de esclerócios de *Sclerotinia sclerotiorum* em duas profundidades no solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 97-99, 2005. v.37, n.4, p.208-210, 2011.

SOUSA, R.O.; VAHL, L.C.; OTERO, X. L. Química dos solos alagados. In: MELO, V.F.; ALLEONI, L.R.F. **Química e mineralogia do solo**. Parte II- Aplicações. Viçosa-MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009 p485-528.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A. Relação de massa e localização do escleródio no solo com germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.29-33, 2014.

WHIPPS, J.M.; BUDGE, S.P. Screening for sclerotial mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Amsterdam, v. 94, p.607-612, 1990.

WILLETTS, H. J.; BULLOCK, S. Developmental biology of sclerotia. **Mycological Research**, Cambridge, v. 96, n. 10, p. 801-816, 1992.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C.A.; VALE, F.X.R. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. **Informe Agropecuário**, v.20, n.200/202, p.114-125, 1999.

ZENG, W.; WANG, D.; KIRK, W.; HAO, J. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, v.60, n.2, p.225-232, 2012.