

RICCELY ÁVILA GARCIA

PRODUÇÃO DE INÓCULO, EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E DE
FUNGICIDAS E REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA À *Sclerotinia sclerotiorum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Fernando César Juliatti

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

RICCELY ÁVILA GARCIA

PRODUÇÃO DE INÓCULO, EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E DE
FUNGICIDAS E REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA À *Sclerotinia sclerotiorum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração
em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 07 de março de 2008.

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes

UFU

Dr. Murillo Lobo Júnior

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO

Prof. Dr. Francisco Xavier Ribeiro do Vale

UFV

Prof. Dr. Fernando César Juliatti
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

- G216p Garcia, Riccely Ávila, 1983-
Produção de inóculo, efeito de extratos vegetais e de fungicidas e reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum* / Riccely Ávila Garcia. - 2008.
154 f. : il.
- Orientador: Fernando César Juliatti.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
- Inclui bibliografia.
1. Soja - Doenças e pragas - Teses. I. Juliatti, Fernando César. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU: 633.34:632

DEDICATÓRIA

Aos meus avós maternos, Antônio Marcelino de Ávila (*in memorian*) e Maria Aparecida de Ávila e, paternos, José Garcia Filho e América Vasconcelos Garcia (*in memorian*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter concedido que cumprisse mais esta etapa de minha vida e pelas proteções e confortos diante dos obstáculos.

A Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade de concluir esta pós-graduação. Em especial ao programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida durante o curso.

Ao Professor Fernando César Juliatti, pela orientação, ensinamentos, incentivos e confiança.

Aos meus pais Lupicínio Garcia Siqueira e Nice Leila de Jesus Garcia e minha irmã Franciele Ávila Garcia, pelo apoio e acompanhamento durante esta trajetória.

A minha namorada Kássia Aparecida Garcia Barbosa, pelo amor, incentivo, auxílio na realização dos experimentos e compreensão nos momentos ausentes.

Aos Professores Jonas Jäger Fernandes e Maria Amélia dos Santos, pela amizade e ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora, professores Jonas Jäger Fernandes e Francisco Xavier Ribeiro do Vale e ao pesquisador Murillo Lobo Júnior, pelas valiosas contribuições.

Ao professor Ednaldo Guimarães e ao mestre César Antônio, pelas valiosas orientações nas análises estatísticas.

A minha madrinha Marly Eunice de Ávila Garcia, pelas orações a Deus.

Aos amigos, Thales Alves Casemiro e Reinaldo França, pela amizade e apoio na realização dos experimentos

A Kelly Cristiene Freitas Borges, pela amizade e ensinamentos.

Aos colegas da Pós-graduação em Agronomia.

A toda a equipe do Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas.

Ao pesquisador Belmiro Pereira das Neves, pelo envio dos produtos de nim indiano e pelas sugestões.

As empresas Fundação Mato Grosso, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Embrapa Soja, Sementes Selecta e CTPA, pelas sementes fornecidas para realização dos ensaios, nas pessoas de Paulo Afonso, Roberto Zito, Lineu Domit, Paulo e Cláudia Barbosa, respectivamente.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução.....	1
2 Referencial Teórico.....	3
2.1 Importância da podridão branca da haste da soja.....	3
2.2 Etiologia.....	4
2.3 Sintomatologia.....	5
2.4 Ciclo de vida e epidemiologia.....	6
2.5 Controle.....	8
3 Referências Bibliográficas.....	12
CAPÍTULO 2: Influência de meios de cultura e concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo na produção de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
1 Resumo.....	21
2 Abstract.....	23
3 Introdução.....	25
4 Referencial Teórico.....	26
5 Material e Métodos.....	30
5.1 Obtenção do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	30
5.2 Produção de escleródios em meios de cultura à base de vegetais.....	30
5.3 Influência de concentrações dos complementos fubá de milho, trigo e farinha de mandioca associadas ao meio de cultura feijão na produção de escleródios.....	32
5.4 Avaliações.....	33
5.5 Determinação do rendimento de escleródios.....	34
5.6 Delineamento experimental.....	34
6 Resultados e Discussão.....	35
6.1 Influência de meios de cultura na produção de escleródios.....	35

6.2 Influência de concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca associadas ao meio de cultura feijão na produção de escleródios.....	38
7 Conclusões.....	41
8 Referências Bibliográficas.....	42
Anexos.....	46
CAPÍTULO 3: Inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> através de óleo e extratos vegetais.....	51
1 Resumo.....	53
2 Abstract.....	55
3 Introdução.....	57
4 Referencial Teórico.....	58
5 Material e Métodos.....	62
5.1 Obtenção do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	62
5.2 Inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com óleo de <i>Azadirachta indica</i> associado ao óleo de <i>Pongamia glabra</i>	62
5.3 Inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com extratos aquosos de plantas.....	63
5.4 Avaliações.....	65
5.5 Delineamento experimental.....	65
6 Resultados e Discussão.....	66
6.1 Efeito do óleo de <i>Azadirachta indica</i> associado ao óleo de <i>Pongamia glabra</i> na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	66
6.2 Efeito dos extratos aquosos de plantas sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	70
7 Conclusões.....	73
8 Referências Bibliográficas.....	74
Anexos.....	78
CAPÍTULO 4: Eficiência de fungicidas sobre o crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e podridão branca da haste da soja.....	79
1 Resumo.....	81
2 Abstract.....	83

3 Introdução.....	85
4 Referencial Teórico.....	86
5 Material e Métodos.....	91
5.1 Obtenção dos isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	91
5.2 Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	91
5.3 Eficiência preventiva e curativa dos fungicidas no controle da podridão branca da haste da soja em condições de laboratório.....	95
5.4 Elaboração da escala diagramática utilizando o programa QUANT.....	96
5.5 Delineamento experimental.....	96
6 Resultados e Discussão.....	99
6.1 Eficiência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	99
6.2 Eficiência preventiva e curativa dos fungicidas no controle da podridão branca da haste da soja.....	101
7 Conclusões.....	106
8 Referências Bibliográficas.....	107
Anexos.....	111
CAPÍTULO 5: Métodos de inoculação de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e avaliação de genótipos de soja quanto à podridão branca da haste.....	113
1 Resumo.....	115
2 Abstract.....	117
3 Introdução.....	119
4 Referencial Teórico.....	120
5 Material e Métodos.....	124
5.1 Obtenção do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	124
5.2 Determinação do estágio fenológico para inoculação de <i>S. sclerotiorum</i>	124
5.3 Determinação do método de inoculação de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	125
5.3.1 Inoculação em folha e haste destacada.....	125
5.3.2 Inoculação na planta - folha e haste.....	126
5.4 Seleção de genótipos de soja à <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	126
5.4.1 Inoculação em folha destacada.....	126
5.4.2 Inoculação na planta – folha.....	130

5.5 Avaliações.....	130
5.6 Delineamento experimental.....	131
6 Resultados e Discussão.....	132
6.1 Influência do estágio fenológico de plantas de soja na inoculação de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> quanto à podridão branca da haste.....	132
6.2 Influência do método de inoculação na severidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em inoculação em folha e haste destacada e na planta.....	133
6.3 Reação de cultivares de soja à <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	139
7 Conclusões.....	148
8 Referências Bibliográficas.....	149
Anexos.....	153

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 2	
TABELA 1. Composição dos meios de cultura à base de vegetais para produção de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	31
Anexo 1A. Análise de variância dos dados referentes ao número de escleródios em função do efeito dos meios de cultura à base de vegetais com e sem adição de fubá. UFU, Uberlândia, 2008.....	46
Anexo 2A. Análise de variância dos dados referentes ao rendimento de escleródios em função do efeito dos meios à base de vegetais com e sem adição de fubá. UFU, Uberlândia, 2008.....	46
Anexo 3A. Análise de variância dos dados referentes ao número de escleródios em função do efeito das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”. UFU, Uberlândia, 2008.....	46
Anexo 4A. Análise de variância dos dados referentes ao rendimento de escleródios em função do efeito das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”. UFU, Uberlândia, 2008.....	47
Anexo 5A. Custo de produção de meios de cultura à base de vegetais referente à 100 gramas de meio. UFU, Uberlândia, 2008.....	47
Anexo 6A. Custo de produção de meios de cultura em função das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”, quantidade de 100 gramas de meio. UFU, Uberlândia, 2008.....	48
Anexo 7A. Composição dos alimentos utilizados na preparação dos meios de cultura referente a uma porção de 100 g.....	49
CAPÍTULO 3	
TABELA 1. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com óleo de <i>Azadirachta indica</i> e <i>Pongamia glabra</i> , em comparação aos tratamentos adicionais (testemunha e fungicida). UFU, Uberlândia, 2008.....	68
Anexo 1A. Análise de variância referente ao efeito das concentrações de <i>Azadirachta indica</i> e <i>Pongamia glabra</i> sobre o crescimento micelial de	

<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	78
Anexo 2A. Análise de variância referente ao efeito dos tratamentos adicionais testemunha e fungicida sobre o crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	78
Anexo 3A. Análise de variância referente ao efeito dos extratos aquosos de plantas sobre o crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	78

CAPÍTULO 4

TABELA 1. Fungicidas utilizados no bioensaio “ <i>in vitro</i> ” para screening inicial, quanto ao espectro de ação sobre <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , agente causal da podridão branca da soja. UFU, Uberlândia, 2008.....	93
TABELA 2. Doses utilizadas no controle preventivo e curativo da podridão branca da haste da soja. UFU, Uberlândia, 2008.....	98
TABELA 3 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com fungicidas. UFU, Uberlândia, 2008.....	100
TABELA 4. Severidade da podridão branca da haste da soja em função do efeito das aplicações preventivas e curativas de fungicidas. UFU, Uberlândia, 2008.....	102
Anexo 1A. Análise de variância referente ao efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	111
Anexo 2A. Análise de variância referente ao efeito do controle preventivo e curativo sobre a doença podridão branca da haste da soja. UFU, Uberlândia, 2008.....	111

CAPÍTULO 5

TABELA 1. Cultivares de soja utilizadas para screening inicial, quanto a resistência <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , agente causal da podridão branca da soja. UFU, Uberlândia, 2008.....	127
TABELA 2. Severidade (%) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito dos órgãos e estádios de desenvolvimento. UFU, Uberlândia, 2008.....	132

TABELA 3. Severidade (%) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação em órgãos destacados, pelo teste de Tukey, avaliando método e órgão. UFU, Uberlândia, 2008.....	134
TABELA 4. Severidade (%) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação em órgãos destacados, pelo teste de Tukey, avaliando cultivares. UFU, Uberlândia, 2008.....	134
TABELA 5. Severidade (%) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação na planta, pelo teste de Tukey, avaliando método e órgão. UFU, Uberlândia, 2008.....	137
TABELA 6. Severidade (%) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação na planta, pelo teste de Tukey avaliando cultivares. UFU, Uberlândia, 2008.....	137
TABELA 7. Reação de cultivares de soja à <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> pelo método da folha destacada. UFU, Uberlândia, 2008.....	140
TABELA 8. Reação de cultivares de soja a <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> pelo método de inoculação na planta. UFU, Uberlândia, 2008.....	148
Anexo 1A. Análise de variância dos dados referentes à severidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito dos estádios de desenvolvimento, cultivares e órgão, em plantas. UFU, Uberlândia, 2008..	153
Anexo 2A. Análise de variância dos dados referentes à severidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito dos métodos de inoculação, cultivares e órgão em inoculações em órgãos destacados. UFU, Uberlândia, 2008.....	153
Anexo 3A. Análise de variância dos dados referentes à severidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função do efeito dos métodos de inoculação, cultivares e órgão através de inoculação na planta. UFU, Uberlândia, 2008.....	153
Anexo 4A. Análise de variância em função do efeito dos genótipos sobre a severidade (%) da podridão branca da haste em folíolos de soja destacados. UFU, Uberlândia, 2008.....	154

Anexo 5A. Análise de variância em função da severidade (%) da podridão branca da haste em inoculações na planta nos folíolos. UFU, Uberlândia, 2008.....	154
--	-----

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
FIGURA 1. Processo de formação de apotécios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultivo batata dextrose ágar (BDA): (A) escleródios, (B) início da emissão de estipes, (C) apotécios maduros e (D) vista frontal do apotécio. UFU, Uberlândia, 2008.....	5
FIGURA 2. Lavoura de soja com sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (A) e presença de micélio e escleródios nas hastes (B). UFU, Uberlândia, 2008.....	6
FIGURA 3. Ciclo de vida do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . (A) escleródios, (B) apotécios no solo, formados a partir dos escleródios (germinação carpogênica), (C) liberação e disseminação dos ascosporos, (D) infecção das flores pelos ascosporos e (E) infecção da planta, (F) formação de escleródios na haste. UFU, Uberlândia, 2008.....	8
CAPÍTULO 2	
FIGURA 1. Meio de cultura abóbora com fubá de milho (A) e sem fubá (B) inoculado com discos de micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> nos Erlenmeyers. UFU, Uberlândia, 2008.....	31
FIGURA 2. Meio de cultura feijão na concentração de 50% complementado com trigo (A), fubá de milho (B) e farinha de mandioca (C) a 50%, contendo discos de micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> nos Erlenmeyers. UFU, Uberlândia, 2008.....	32
FIGURA 3. Incubação, em câmara durante 45 dias para colonização dos meios. UFU, Uberlândia, 2008.....	33
FIGURA 4. Lavagem (A), secagem (B) e armazenagem (C) de escleródios. UFU, Uberlândia, 2008.....	33
FIGURA 5. Início da formação de escleródios após o 3º dia de incubação (A) e presença de escleródios já formados no 5º dia (B), em meio de cultura abóbora. UFU, Uberlândia, 2008.....	36
FIGURA 6. Efeito de meios de cultura no rendimento de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá, a 1% de	

significância, pelo teste de Tukey.....	37
FIGURA 7. Efeito de meios de cultura no número de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá a 1% de significância pelo teste de Tukey.....	37
FIGURA 8. Efeito das concentrações (%) de fubá de milho (A), farinha de mandioca (B) e trigo para “kibe” (C) associadas ao meio de cultura feijão no rendimento (%) de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	39
FIGURA 9. Efeito das concentrações (%) de fubá de milho (A), farinha de mandioca (B) e trigo para “kibe” (C) associados ao meio de cultura feijão no número (%) de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	40

CAPÍTULO 3

FIGURA 1. Algumas plantas utilizadas na obtenção de extratos: (A) pimenta longa, (B) aroeirinha, (C) mentrasto e (D) jambolão. UFU, Uberlândia, 2008.....	64
FIGURA 2. Desinfestação (A) e lavagem (B) da planta arruda e secagem sobre papel toalha (C) da planta losna. UFU, Uberlândia, 2008.....	64
FIGURA 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função das concentrações (ppm) de <i>Azadirachta indica</i> e <i>Pongamia glabra</i> . (A) 1/3 de <i>P. glabra</i> , (B) 1/6 de <i>P. glabra</i> , (C) 1/8 de <i>P. glabra</i> , (D) 1/10 de <i>P. glabra</i> e (E) <i>A. indica</i> . UFU, Uberlândia, 2008.....	67
FIGURA 4. Crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em placas de Petri contendo os tratamentos, (A) 100 ppm de <i>Azadirachta indica</i> , (B) 100 ppm de <i>A. indica</i> com 1/3 de <i>Pongamia glabra</i> , (C) 100 ppm de <i>A. indica</i> com 1/6 de <i>P. glabra</i> , (D) 100 ppm de <i>A. indica</i> com 1/8 de <i>P. glabra</i> , (E) 100 ppm de <i>A. indica</i> com 1/10 de <i>P. glabra</i> , (F) testemunha (sem tratamento) e (G) fungicida procimidone. UFU, Uberlândia, 2008.....	69
FIGURA 5. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função dos extratos aquosos de plantas.	

Médias seguidas de letras distintas diferem o efeito dos extratos vegetais pelo teste de Tukey a de 1% de significância. UFU, Uberlândia, 2008.....	71
---	----

CAPÍTULO 4

FIGURA 1. Medições do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com auxílio de régua. UFU, Uberlândia, 2008.....	92
FIGURA 2. Escala diagramática para avaliação de sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas inoculadas de plantas de soja.....	96
FIGURA 3. Crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em função dos tratamentos, (A) tebuconazole, (B) fluquinconazole, (C) testemunha (sem fungicida) e (D) azoxistrobina, isolado Indianópolis-MG, e (E) azoxistrobina, isolado Jataí-GO. UFU, Uberlândia, 2008.....	99
FIGURA 4. Controle preventivo da podridão branca da haste da soja, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí-GO, em função dos fungicidas, (A) ciproconazol + propiconazol, (B) fluazinam, (C) epoxiconazole + piraclostrobina, (D) protioconazole, (E) vinclozolin, (F) iprodione e (G) testemunha. UFU, Uberlândia, 2008.....	104
FIGURA 5. Controle curativo da podridão branca da haste da soja, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí-GO, em função dos fungicidas, (A) vinclozolin, (B) iprodione e (C) testemunha. UFU, Uberlândia, 2008.....	105

CAPÍTULO 5

FIGURA 1. Inoculação com discos de BDA contendo micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em folíolos (A) e haste (B) de soja destacados. UFU, Uberlândia, 2008.....	125
FIGURA 2. Inoculação com discos de BDA contendo micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em folíolo (A) e haste (B) de soja na planta. UFU, Uberlândia, 2008.....	126
FIGURA 3. Escala diagramática para avaliação de sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas inoculadas de plantas de soja. UFU, Uberlândia, 2008.....	130
FIGURA 4. Sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em	

folíolos de soja destacados em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.....	135
FIGURA 5. Sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em hastes de soja destacadas em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.....	135
FIGURA 6. Sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em hastes de soja em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.....	138
FIGURA 7. Sintomas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, em folhas de soja em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.....	139
FIGURA 8. Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) Emgopa 316, (B) BR 16 (C) BRSGO Milena, (D) BRS Baliza RR, classificados como resistentes. UFU, Uberlândia, 2008.....	143
FIGURA 9. Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) BRSGO Caiapônia, (B) FMT Perdiz, (C) P98R31 e (D) CD 211, classificados como moderadamente resistentes. UFU, Uberlândia, 2008.....	143
FIGURA 10. Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) BRSGO Luziânia, (B) BRSMG 850GRR, (C) M-Soy 8000 RR, classificados como moderadamente suscetíveis. UFU, Uberlândia, 2008.....	144

FIGURA 11. Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) FMT Tabarana, (B) BR/MG-46 (Conquista), (C) BRSMG Garantia e (D) Abyara, classificados como suscetíveis. UFU, Uberlândia, 2008.....

RESUMO

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Produção de inóculo, efeito de extratos vegetais e de fungicidas e reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum***. UFU. 2008. 154 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

A podridão branca da haste causada por *S. sclerotiorum* vem aumentando em campos de cultivo de soja, devido ao cultivo de espécies altamente suscetíveis na safrinha e a utilização de sementes contaminadas por *S. sclerotiorum*. Estudos envolvendo produção de inóculo, controle alternativo e químico, metodologia de inoculação e resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum* constituíram os objetivos deste trabalho. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas – LAMIP da Universidade Federal de Uberlândia. Os isolados utilizados foram obtidos de plantas de soja provenientes de Jataí-GO e Indianópolis-MG. Quanto à produção de escleródios, os resultados demonstraram que meios de cultura combinados com fubá foram mais promissores, tanto no rendimento, quanto no número de escleródios. Os meios de cultura feijão e girassol foram os mais promissores. Quanto às doses de fubá de milho, trigo para “kibe” e farinha de mandioca, o rendimento e número de escleródios decresceram com o aumento das concentrações. A concentração de 20% proporcionou maior produção de escleródios para os três complementos. Em relação ao controle alternativo, os resultados demonstraram que a maior inibição do crescimento micelial está diretamente proporcional ao aumento das doses de *Azadirachta indica*. A interação *A. indica* e *Pongamia glabra* foi significativa, sendo a dosagem de 1/3 de *P. glabra* a mais eficiente, com 65% de inibição. Quanto aos extratos vegetais, o fruto de *Piper aduncum* foi o mais promissor sobre a redução do crescimento micelial, com 43% de inibição. Os resultados referentes ao controle químico “*in vitro*” demonstraram que os fungicidas flutriafol, fluazinam, propiconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, ciproconazol, fluquinconazol, tetraconazol, procymidone, iprodione, ciproconazol + trifloxistrobina, epoxiconazol, miclobutanil e difenoconazol inibiram o crescimento acima de 98% para os dois isolados. Quanto ao ensaio “*in vivo*”, houve diferença no efeito dos fungicidas, quando aplicados preventivamente e curativamente. O fungicida iprodione controlou melhor a doença, tanto em aplicações preventivas, como curativas. Quanto às inoculações em diferentes estádios de desenvolvimento de plantas de soja, os resultados demonstraram que as menores porcentagens de severidade da doença foram diretamente proporcionais à idade das plantas, determinando-se como estádios ideais de inoculação os estádios V₂ (folhas e hastes) e V₃ (folhas). Em relação aos métodos de inoculações, o disco permanente proporcionou resultados mais consistentes, seja em órgãos destacados como na própria planta, resultando em correlação significativa. Quanto à seleção de genótipos de soja, apenas 19 genótipos se comportaram como resistentes e moderadamente resistentes pelo método de inoculação na folha destacada. Em inoculações na planta, apenas 2 genótipos destes 19 foram moderadamente resistentes e os demais moderadamente suscetível a suscetível, gerando correlação não significativa.

Palavras-chave: *S. sclerotiorum*, *Glycine max*, produção de escleródios, controle alternativo e químico, métodos de inoculação, resistência.

¹ Comitê Orientador: Prof. Dr. Fernando César Juliatti – UFU

ABSTRACT

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Inoculum production, the effect of vegetable extracts and fungicides and soybean genotypes reaction to *Sclerotinia sclerotiorum***. UFU. 2008. 154 p. Dissertation (Master's degree in Agriculture/Phytopathology) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia¹.

Stem white rot, caused by *S. sclerotiorum*, has increased in fields cultivated with soybean due to the cropping of highly susceptible species during winter and the use of seeds contaminated with *S. sclerotiorum*. Studies involving inoculum production, alternative and chemical control, inoculation methodology and soybean genotypes resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* consisted on the objectives of this work. The experiments were done in the Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas – LAMIP at the Universidade Federal de Uberlândia. The isolates used were obtained from soybean plants from Jataí-GO and Indianópolis-MG. Culture media amended with cornmeal were the most promising for sclerotium production both for yield and for the number of sclerotia. Culture media containing common beans and sunflower were the best ones. The number of sclerotia and yield decreased as the doses of cornmeal, bulgur wheat and cassava crumbs increased. The concentration of 20% yielded the greatest production of sclerotia for all three amendments. In relation to the alternative control, the results indicate that the greatest inhibition of mycelial growth was directly related to the increase of *Azadirachta indica* doses. The interaction *A. indica* with *Pongamia glabra* was significant, and the dose of 1/3 *P. glabra* was the most effective, with 65% inhibition. Of all vegetable extracts, the fruit of *Piper aduncum* was the most effective for reducing mycelial growth, with 43% inhibition. The results of "in vitro" chemical control demonstrated that the fungicides flutriafol, fluazinam, propiconazole, epoxiconazole + piraclostrobin, tebuconazole + trifloxistrobin, tebuconazole, ciproconazole + propiconazole, cyproconazole, fluquinconazole, tetraconazole, procymidone, iprodione, ciproconazole + trifloxistrobin, epoxiconazole, myclobutanil and difenoconazole inhibited more than 98% of the mycelial growth for both isolates. In the "in vivo" trial differences were noted for the fungicide effect, applied either preventively or as a curative. The fungicide iprodione best controlled the disease for both types of application. The results of inoculation of different soybean growth stages demonstrated that the smallest percentages of disease severity were directly proportional to plant age, and the best stage for inoculating the plants were V₂ (leaves and stems) e V₃ (leaves). The most consistent inoculation method was the permanent disk, for detached organs and for the whole plant, resulting in a significant correlation. Only 19 soybean genotypes performed as resistant or moderately resistant by the detached leaf method. When whole plants were inoculated, only two of these were moderately resistant, while all others were moderately susceptible or susceptible, generating a non significant correlation.

Keywords: *S. sclerotiorum*, *Glycine max*, sclerotium production, alternative and chemical control, inoculation methods, resistance.

¹ Supervisor: Prof. Dr. Fernando César Juliatti – UFU

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma espécie originária da Ásia, onde vem sendo cultivada há centenas de anos (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004). No contexto das grandes culturas produtoras de grãos, a soja foi a que mais cresceu em termos percentuais nos últimos 37 anos, tanto no Brasil, quanto em nível mundial, sendo o principal grão oleaginoso cultivado no mundo. Seu elevado teor de proteínas faz dela a principal matéria prima na fabricação de rações para alimentação animal e, apesar do seu baixo teor de óleo, disputa com o dendê a posição de maior produtora de óleo vegetal (DALL'AGNOL, 2007).

A exploração econômica de seu potencial de rendimento ($4000 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) dificilmente é alcançada (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004). O rendimento médio mundial tem sido de $2.541 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (EMBRAPA, 2008). Entre os fatores que limitam o rendimento, a lucratividade e o sucesso de produção destacam-se as doenças (JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004). Segundo Sinclair; Backman (1989), são listadas mais de 100 doenças afetando a cultura, sendo que 50 foram listadas no Brasil. As perdas anuais de produção por doenças são estimadas em cerca de 15 a 20%, porém as perdas podem chegar a 100%, dependendo da doença (EMBRAPA, 2003; JULIATTI et al., 2003).

A doença podridão branca da haste da soja, causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, sempre foi de ocorrência esporádica em áreas de sequeiro (SILVA et al., 2008). Entretanto, esta doença vem assumindo grande importância nos campos de cultivo desta leguminosa, em virtude da rotação de culturas com espécies altamente suscetíveis como ervilha, feijão, tomate, algodoeiro e batata até safras contínuas de soja, além das temperaturas amenas durante o cultivo (LEITE, 2005).

O fungo é considerado um dos patógenos mais importantes no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas temperadas, subtropicais ou tropicais (LEITE, 2005). Em regiões de altitudes elevadas, onde as temperaturas noturnas são amenas e ocorre ampla formação de orvalho, tem sido comum observar áreas com incidência da doença superior a 50%. No sudoeste Goiano, têm sido constatadas, tanto em áreas experimentais, quanto dos próprios agricultores, perdas de até 60% na produtividade (SILVA, 2008).

O controle da podridão branca da haste é considerado difícil devido à ausência de cultivares resistentes, sobrevivência do fungo no solo, ampla gama de hospedeiros, elevado número de ascósporos produzidos por apotécio e sua rápida e longa disseminação a partir da fonte produtora, sobrevivência em sementes na forma de micélio dormente ou escleródios aderidos às mesmas e a falta de informações sobre controle químico para a cultura da soja. Embora vários trabalhos sobre resistência de genótipos de soja já tenham sido relatados na literatura, ainda pouco se sabe sobre fontes de resistência à *S. sclerotiorum*, bem como métodos práticos de seleção de germoplasma.

Em face da importância da sojicultura para o Brasil, este trabalho objetivou estudar produção de inóculo de *S. sclerotiorum*, efeito de extratos e óleos vegetais, bem como fungicidas “*in vitro*” e “*in vivo*” e métodos de inoculação para seleção de alguns genótipos de soja brasileiros à *S. sclerotiorum*, para obtenção de medidas práticas, efetivas e econômicas no controle da podridão branca da haste.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da podridão branca da haste da soja

Sclerotinia sclerotiorum é o agente causal da podridão branca da haste da soja. As doenças causadas pelo patógeno recebem diferentes denominações em outros hospedeiros, entre elas: mofo branco, podridão da cabeça, podridão aquosa e podridão da haste (PURDY, 1979).

O patógeno está distribuído mundialmente afetando mais de 400 espécies de plantas (BOLAND; HALL, 1994). Entre elas, destacam-se a soja, girassol, canola, ervilha, feijão, alfafa, fumo, tomate e batata (LEITE, 2005). Plantas infestantes como carrapicho, mentrasto, caruru, picão, mostarda, botão-do-ouro, marselha, serralha e vassoura também são suscetíveis a *S. sclerotiorum* (VIEIRA, 1988).

No Brasil, a ocorrência de *S. sclerotiorum* foi feita pela primeira vez em 1921, por Saccá, que verificou o fungo sobre batata (*Solanum tuberosum* L.), no estado de São Paulo. Nos anos seguintes, o patógeno foi verificado sobre diferentes hospedeiros em outros Estados do País (CHAVES, 1964). Com a expansão da fronteira agrícola na região dos cerrados, e com a agricultura praticada no período frio e seco do ano, esta doença se destacou na cultura do feijão e da ervilha (CAFÉ FILHO, 1985; SANTOS et al., 1990), pois o patógeno encontrou temperaturas amenas e umidade alta, umidade fornecida pela irrigação, principalmente via pivô central. Na cultura da soja, a doença vem crescendo no Centro-Sul do país e causando perdas significativas na produção.

Segundo Ferreira et al. (1981), *S. sclerotiorum* foi constatada em soja em 1975, no sul do Estado do Paraná, causando perdas de até 70% de plantas infectadas em lavouras destinadas a produção de sementes. Homechin (1982) determinou que as perdas da produção de soja devido, a incidência de *S. sclerotiorum* em lavouras comerciais nos municípios de Castro, Ponta Grossa, Palmeira e Guarapuava, no Estado do Paraná, variaram de 70 a 92% para o rendimento, 5,6 a 39,2% para o peso de 100 sementes e 20 a 90% para porcentagem de plantas infectadas. Segundo Nasser et al. (1984), no início da década de 80, foram registradas perdas de até 30% em lavouras de soja dos municípios de São Gotardo, Rio Parnaíba e Carmo do Parnaíba, em Minas Gerais, devido à ocorrência de *S. sclerotiorum*.

As sementes são importantes veículos de disseminação de *S. sclerotiorum*, através de escleródios misturados a elas ou de micélio existente nos tecidos internos

(LEITE, 2005). Devido ao importante papel das sementes na disseminação da doença, Machado (1994) propôs o padrão de tolerância zero para *S. sclerotiorum* em sementes de feijão e soja das classes básica e certificada. Segundo Grau (1989), a presença de alguns escleródios em portos estrangeiros, mesmo em soja para consumo, poderá resultar na rejeição de todo o carregamento.

Práticas culturais inadequadas, como o uso de sementes contaminadas, alta densidade de plantas, menor espaçamento entre linhas, rotação de cultura com hospedeiros suscetíveis e época de semeadura, além das condições climáticas de alta umidade e baixa temperatura são situações que favorecem o desenvolvimento de *S. sclerotiorum* (LEITE, 2005).

2.2 Etiologia

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary pertence à subdivisão Ascomycota, classe Leotiomycetes, ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae (CABI, 2008). O fungo produz estruturas de resistência denominadas de escleródios. De acordo com Agrios (1997), estas estruturas apresentam formato irregular, com um a vários milímetros de diâmetro e comprimento; a princípio apresentam coloração branca, e posteriormente, tornam-se negros e duros. Os escleródios podem germinar de forma miceliogênica ou carpogênica. Enquanto que na forma miceliogênica há a produção de micélio hialino e septado (PURDY, 1979), na forma carpogênica (FIGURA 1), o escleródio pode produzir um ou mais apotécios (SCHWARTZ e STEADMAN, 1989).

A influência do tamanho dos escleródios na germinação carpogênica apresenta resultados contraditórios. Segundo Budge e Whipps (1991), maior produção de apotécios foi obtida com escleródios com peso menor que 10 mg e 2 mm de diâmetro. Dillard et al. (1995) observaram que, quanto maiores os escleródios, maior a porcentagem de escleródios germinados e maior o número de apotécios produzidos. De acordo com Bedi (1963), quanto maior o escleródio, maior o número de apotécios formados; um escleródio grande (13 x 5 mm) originou 15 apotécios.

Cada apotécio contém centenas de ascos de forma cilíndrica. Em cada asco, há oito ascosporos, que são ovóides e apresentam de 4 a 10 mm de largura e 9 a 16 mm de comprimento (SCHWARTZ e STEADMAN, 1989). O apotécio libera ascosporos continuamente por 2 a 17 dias, com uma média de 9 dias. A produção máxima de ascosporos ocorre num intervalo de 2 a 3 dias entre o quarto e nono dia de vida ativa do

apotécio. O total de ascosporos produzidos por um apotécio atinge ao redor de dois milhões (SCHWARTZ e STEADMAN, 1978).

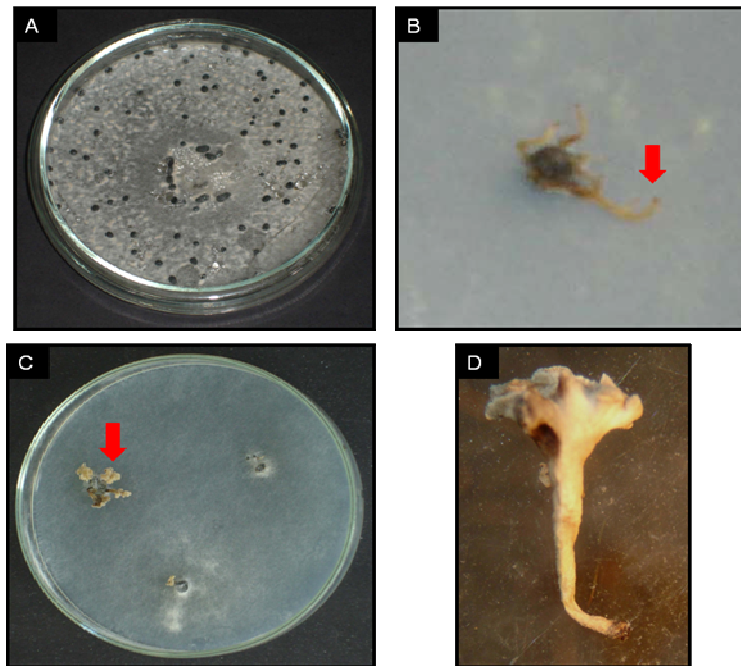


FIGURA 1 – Processo de formação de apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultivo batata dextrose ágar (BDA): (A) escleródios, (B) início da emissão de estipes, (C) apotécios maduros e (D) vista frontal do apotécio. UFU, Uberlândia, 2008.

2.3 Sintomatologia

Como revisado por Hegedus; Rimmer (2005), a infecção do tecido sadio do hospedeiro depende da formação do apressório, que pode ser simples ou complexo dependendo da estrutura da superfície do hospedeiro. Na maioria dos casos, a penetração ocorre diretamente através da cutícula e não através dos estômatos. O apressório desenvolve-se da ramificação dicotômica das hifas que crescem na superfície do hospedeiro e consiste-se de um aglomerado mucilaginoso de hifas largas, multi-septadas e curtas. Embora a penetração da cutícula seja um processo puramente mecânico, a degradação enzimática da cutícula auxilia no processo de penetração afetando a lamela média das células. Quanto às cutinases de *S. sclerotiorum*, ainda pouco se sabe, entretanto, ao menos quatro cutinases como enzimas parecem estar envolvidas.

Segundo Almeida et al. (2005), a fase mais vulnerável da cultura da soja vai do estágio da floração plena (R₂) ao início da formação das vagens (R₃/R₄). O fungo é

capaz de infectar qualquer parte da planta, porém, as infecções iniciam-se com mais frequência a partir das inflorescências e das axilas das folhas e dos ramos laterais. Segundo Leite (2005), os sintomas geralmente ocorrem no terço médio das plantas.

Os primeiros sintomas são manchas de anasarca que evoluem para coloração castanho-clara (YORINORI, 1997). Os sintomas atingem outros órgãos da planta e pode envolver toda a haste, impedindo o fluxo de água e nutrientes, levando a planta a morte (GRAU, 1989). Sobre as áreas afetadas, desenvolvem abundante formação de micélio branco e de aspecto algodinoso. Geralmente, numerosos escleródios são produzidos na superfície do micélio, de 7 a 10 dias depois da colonização (ABAWI; GROGAN, 1979). Estes são formados tanto na superfície, como no interior da haste e das vagens infectadas (ALMEIDA et al., 2005) (FIGURA 2).



FIGURA 2 – Lavoura de soja com sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum* (A) e presença de micélio e escleródios nas hastes (B). UFU, Uberlândia, 2008.

Fonte: Lobo Júnior, M.

2.4 Ciclo de vida e epidemiologia

Os escleródios produzidos nas plantas infectadas retornam ao solo após a colheita com os resíduos da cultura e garantem a perpetuação do fungo no solo (SCHWARTZ e STEADMAN, 1978; LEITE, 2005). Segundo Abawi e Grogan (1979), os escleródios não são capazes de germinar sem antes maturar fisiologicamente.

Steadman (1983) relata que somente os escleródios localizados nos 5 cm superficiais do solo são capazes de produzir apotécios. Mas alguns escleródios

localizados até 10 cm também podem produzir apotécios (COOK et al., 1975). Segundo Schwartz e Steadman (1989), o apotécio tem 3 mm de diâmetro e eleva-se de 3 a 6 mm da superfície do solo. Segundo Lloyd Junior (1975), às vezes, grande número de apotécios são observados em reboleiras, as quais, geralmente, localizam-se nas partes do terreno com o solo mais saturado de água. Ligeiro estresse hídrico previne a formação de apotécios (ABAWI; GROGAN, 1975).

Quando os ascosporos estão maduros dentro dos ascos, um ligeiro decréscimo da umidade relativa do ar provoca-lhes a liberação por ejeção (NATTI, 1971). Uma substância mucilaginosa é liberada junto com os ascosporos, assegurando-lhes a adesão ao tecido hospedeiro ou a outro obstáculo encontrado durante o seu percurso aéreo. A maioria dos ascosporos fica retida dentro do dossel das plantas, possibilitando alto potencial de infecção local (ABAWI e GROGAN, 1979) (FIGURA 3). Os ascosporos que sobrepõem às plantas são facilmente disseminados pelo vento e podem infectar plantas em um raio de 50 a 100 m da fonte produtora. As abelhas também podem servir como agente de disseminação dos ascosporos. (STEADMAN, 1983) (FIGURA 2).

A germinação constante de escleródios e a liberação contínua dos ascosporos de cada apotécio asseguram adequado potencial de infecção superior a 3 - 4 semanas (VIEIRA, 1994). Os ascosporos liberados pelos apotécios constituem a fonte primária de infecção de plantas (ABAWI; GROGAN, 1975; TU, 1989). Portanto, os ascosporos de *S. sclerotiorum* requerem a presença de nutrientes exógenos para germinar e, conseqüentemente, infectar as plantas. Tecidos vegetais jovens, flores e fragmentos de flores são a base nutritiva para o início da colonização por ascosporos do fungo (SUTTON; DEVERAL, 1983), por possuírem altas concentrações de α -celulose. Se os ascosporos são liberados antes que o feijão floresça, eles são incapazes de causar doença sem estímulo da α -celulose, contida nas flores senescentes, mas podem sobreviver por cerca de duas semanas na superfície da planta ou do solo. Uma vez colonizadas as flores, o micélio permanece viável por até um mês (STEADMAN, 1983). A partir da formação de micélio, os escleródios são formados e são incapazes de germinar carpogenicamente na mesma safra, sugerindo ser o mofo branco uma doença monocíclica (SOUZA, 1999). Os escleródios podem ser disseminados pelo solo, água de irrigação, máquinas agrícolas e sementes infectadas.

O ácido oxálico e as enzimas pectolíticas estão associados com o desenvolvimento da podridão branca causada por *S. sclerotiorum*. O ácido oxálico penetra no tecido ao redor da lesão, reduzindo o pH de aproximadamente 6,8 para 4,0,

forneendo um pH ótimo para a ação da enzima pectolítica (ECHANDI; WALKER, 1957; MAXWELL; LUMSDEN, 1970). As diferenças na tolerância ao ácido oxálico e/ou resistência a sua difusão no tecido do hospedeiro podem resultar em regiões de encharcamento variáveis ao redor das lesões (TU; BEVERSDORF, 1982). Espécies de *Sclerotinia* podem tolerar uma ampla faixa de pH, mas adaptam-se melhor ao substrato ácido. O ácido oxálico é produzido por *S. sclerotiorum* no tecido do hospedeiro e em cultura, contribuindo a um decréscimo no pH de substratos alcalinos (WILLETTS; WONG, 1980).

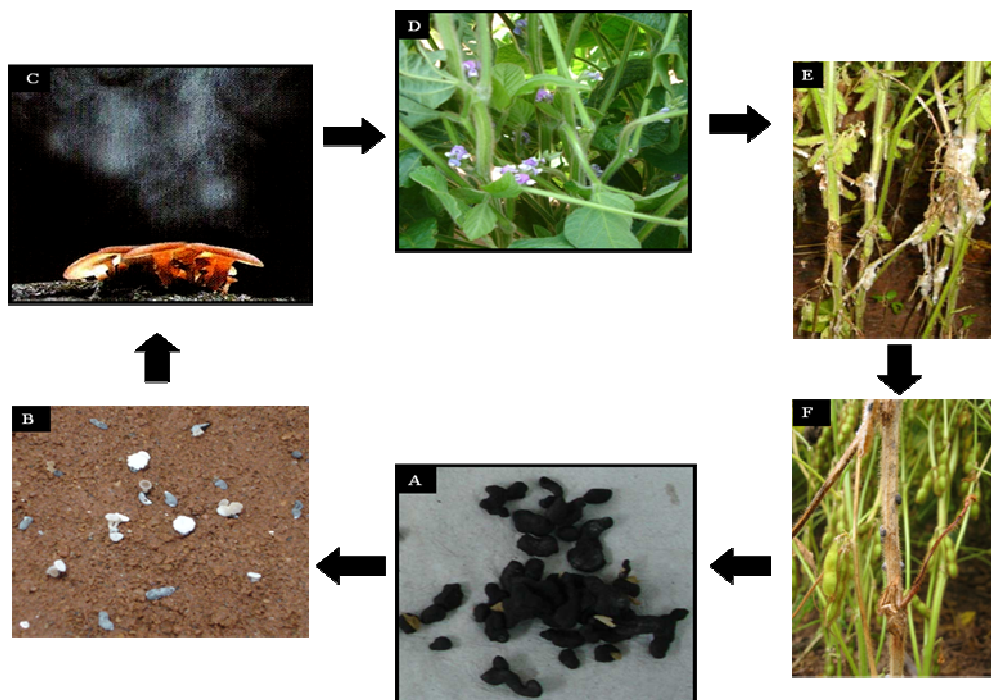


FIGURA 3 – Ciclo de vida do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. (A) escleródios, (B) apotécios no solo, formados a partir dos escleródios (germinação carpogênica), (C) liberação e disseminação dos ascósporos, (D) infecção das flores pelos ascósporos e (E) infecção da planta, (F) formação de escleródios na haste. UFU, Uberlândia, 2008.

Fonte: Lobo Júnior, M. (FIGURA E e F) e Hokko do Brasil (FIGURA C).

2.5 Controle

O controle da podridão branca é difícil devido à permanência de escleródios viáveis por um longo período no solo, aliado ao fato de que os ascósporos que produzem a infecção aérea podem ser provenientes de escleródios existentes a longas distâncias, à falta de controle químico eficaz e a alta suscetibilidade dos hospedeiros cultivados. Assim, o controle mais efetivo baseia-se num programa integrado de

medidas, que incluem diversas práticas culturais, como: sementes saudáveis, rotação de culturas, irrigação equilibrada, menores densidades de semeadura e espaçamentos maiores, tratamento de sementes (LEITE, 2005), controle biológico (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993; ABAWI; GROGAN, 1979; CASSIOLATO et al., 1997), uso de palhada (NAPOLEÃO et al., 2005; GASPAROTTO et al., 1982; FERRAZ et al., 1999) e controle químico (SECCO et al., 2007).

O uso de sementes certificadas e qualidade fitossanitária conhecida são fundamentais para evitar a introdução do patógeno em áreas isentas. Para a soja, a separação dos escleródios pode ser feita durante o beneficiamento da semente, pelo emprego do separador espiral seguido da mesa de gravidade. Entretanto, para o girassol, a remoção dos escleródios na operação de limpeza é difícil, devido os escleródios terem o mesmo tamanho, forma e peso específico das sementes. O tratamento de sementes de soja com fungicidas do grupo dos benzimidazóis associados a produtos de contato deve ser adotado como medida de segurança para reduzir a possibilidade de transmissão do fungo por meio de micélio dormente (LEITE, 2005).

Segundo Coley-Smith; Cooke, (1971) e Ferraz et al. (1999), a palhada no plantio direto atua como uma barreira física à emergência de apotécios, uma vez que as estipes que saem dos escleródios têm fototropismo positivo. Além disto, a cobertura morta do solo impede que a parte aérea das plantas entre em contato com o solo infestado e mantém um nível de umidade e temperatura mais constante na superfície do solo, permitindo o desenvolvimento de outros microrganismos que podem atuar antagonicamente sobre *Sclerotinia sclerotiorum*.

Segundo Vieira (1994), a rotação de cultura não é uma medida eficaz para o controle do mofo-branco, pois os escleródios sobrevivem no solo por vários anos na ausência de hospedeiro. Para Steadman (1983), operações de preparo do solo geralmente asseguram a presença de escleródios na superfície do solo ou próximo a ela. Entretanto, LEITE (2005) relata que a rotação de cultura com gramíneas pode reduzir o inóculo inicial através da degradação natural dos escleródios por meio de antagonistas.

De acordo com Napoleão et al. (2005), a incidência e severidade do mofo branco na cultura do feijoeiro aumentaram com o incremento das lâminas d'água e foram maiores no plantio convencional do que no plantio direto. O porte das variedades também influenciou na incidência e severidade da doença, sendo que a variedade Pérola de porte semi-ereto foi mais suscetível que Diamante Negro de porte ereto. Segundo Gasparotto et al. (1982), a cobertura do solo com capim-braquiária e capim-gordura

reduziram a sobrevivência dos escleródios de *S. sclerotiorum*. Entretanto, o cultivo de alface, em sucessão ao ensaio de cobertura do solo, demonstrou que a rotação de cultura com as gramíneas não foi uma medida de controle eficaz, durante o período de 7 meses.

Vieira et al. (2005) avaliaram a intensidade do mofo branco do feijoeiro em função da aplicação de fungicida, espaçamento entre fileiras e densidade de plantio, nos anos 2002 e 2003, na safra de inverno. Os autores verificaram que a eficiência destas medidas de controle em reduzir a doença depende do ano de plantio.

A presença de microrganismos antagonísticos no solo afeta consideravelmente a sobrevivência dos escleródios de *S. sclerotiorum*. *Coniothyrium minitans* e *Trichoderma* spp. são considerados os mais importantes no controle biológico do patógeno (ADAMS; AYRES, 1979). O tratamento biológico de sementes de soja e feijão visando o controle de *S. sclerotiorum* através da suspensão de conídios de nove espécies de fungos, em comparação ao tratamento químico, mostrou que os melhores resultados, em ambas as culturas, foram obtidos com benomyl, seguido de espécies de *Trichoderma* (Illipronti & Machado, 1993).

De acordo com Mello (1996), microparasitas necrotróficos, como *Trichoderma*, têm sido considerados eficazes no controle de fitopatógenos, principalmente aqueles formadores de estrutura de resistência. Assim sendo, tais organismos podem controlar mais eficientemente esses patógenos, uma vez que as estruturas de sobrevivência destes são freqüentemente persistentes no solo por longos períodos, tornando-os mais suscetíveis ao ataque do antagonista.

A eficiência do controle químico para *S. sclerotiorum* pode ser influenciada segundo a densidade de inóculo no solo. Costa (1997) testou o fungicida procimidone em campos de feijoeiro com diferentes densidades de escleródios e verificou que o controle adequado da doença foi obtido somente em áreas com menos de 19 escleródios por m² e, em solos com mais de 27 escleródios por m², o fungicida foi ineficiente.

Além de fungicidas, certos herbicidas também podem inibir o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*. Casale; Hart (1986) verificaram que metribuzin e diuron inibiram o crescimento micelial do fungo *in vitro* e reduziram a produção de estipes quando aplicados no solo, enquanto que atrazina e simazina não afetaram a formação de estipes, porém os apotécios não se desenvolveram ou não produziram ascosporos na presença desses dois herbicidas. Entre vários herbicidas e fungicidas testados *in vitro* por Fernandes et al. (1994) contra *S. sclerotiorum*, EPTC e fluazinan apresentaram inibição

da germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios, quando imersos em suspensões dos produtos por 30 segundos.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 899-903, 1979.

ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, n.3, p. 300-309, 1975.

ADAMS, P.B.; AYRES, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v.69, n.8, p. 896-899, 1979.

AGRIOS, G. **Plant Pathology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1997, cap. 11, p. 245-404.

ALMEIDA, A.M.R.; PEREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, C.V.; GODOY, L.M.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 2005, p. 569-588.

BEDI, K.S. The age and size of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in relation to the formation of apothecia. **Journal of the Indian Botanical Society**, Madras, v. 42, p. 204-207, 1963.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant host s of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Canadá, v. 16, p. 93-108, 1994.

BUDGE, S.P.; WHIPPS, J.M. Effect of sucrose concentration on sclerotia production and subsequent apothecial formation by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 2, p. 195-198, 1991.

CABI DATABASES. **Dictionary of the Fungi**. Disponível em: <<http://www.speciesfungorum.org/names/fundic.asp>>. Acesso em: 25 maio 2008.

CAFÉ FILHO, A.C. Alerta aos produtores de ervilha: Podridão de Sclerotinia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.3, p.57, 1985.

CASALE, W.L.; HART, L.P. Influence of four herbicides on carpogenic germination and apothecium development of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 76, p. 980-984, 1986.

CASSIOLATO, A.M.R.; BAKER, R.; MELO, I.S. de. Ação de mutantes de *Trichoderma harzianum* na formação, germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e sobrevivência de plantas de alfaca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p.34-38, 1997.

CHAVES, G.M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Experientiae**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 64-133, 1964.

COOK, G.E.; STEADMAN, J.R.; BOOSALIS, M.G. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in western Nebraska. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, n. 3, p. 250-255, 1975.

COLEY-SMITH, J.R.; COOKE, R.C. Survival and germination of fungal sclerotia. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 65-92. 1971.

COSTA, J.L.S. A densidade de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo determina a eficiência do controle químico do mofo branco do feijoeiro. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 21., 1997, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. p. 258.

DALL'AGNOL, A.; ROESSING, A.C.; LAZZAROTTO, J.J.; HIRAKURI, M.H.; OLIVEIRA, A.B. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Londrina: Embrapa Soja, 2007, 5 p. (Circular Técnica 43).

DILLARD, H.R.; LUDWIG, J.W.; HUNTER, J.E. Conditioning sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* for carpogenic germination. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, n. 4, p. 411-415, 1995.

ECHANDI, E.; WALKER, J.C. Pectolytic enzymes produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 47, p. 303-306, 1957.

EMBRAPA SOJA. **Soja em Números**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.com.br/index.php?>>. Acesso em: 20 maio 2008.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2004. Londrina: Embrapa Soja, 2003. 237 p. (Sistemas de Produção 4).

FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S.; ALMEIDA, A.M.R. Moléstias e seu controle. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (eds.). **A soja no Brasil**. 1981, p. 603-639.

FERNANDES, N.T.; PAULA, Jr., T.J.; ZAMBOLIN, L.; SILVA, A.A.; CHAVES, G.M. Efeito de herbicidas e fungicidas sobre a germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., Itajaí, 1994. **Resumos...** Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1994. p. 375.

FERRAZ, L.C.L., CAFÉ-FILHO, A.C., NASSER, L.C.B.; AZEVEDO, J.A. Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 48, p. 77-82. 1999.

GASPAROTTO, L.; CHAVES, G.M.; CONDÉ, A.R. Sobrevivência de *Sclerotinia sclerotiorum* em solos cultivados com gramíneas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, p.223-232, 1982.

GRAU, C.R. Sclerotinia stem rot. In: **Compendium of soybean diseases**. St. Paul, APS Press. 1989, p. 47-48.

HEGEDUS, D.D.; RIMMER, S.R. *Sclerotinia sclerotiorum*: When “to be or not to be” a pathogen? **Fems Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 251, p. 177-184, 2005.

HOKKO DO BRASIL. **Sialex[®] 500 no controle do mofo branco**. 2005. 1 fotografia, color., 7,54 cm x 7,74 cm.

HOMECHIN, M. Determinação de perdas da produção de soja, devido a incidência do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 15., 1982, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1982. p. 476.

ILLIPRONTI, J.R.; MACHADO, J.C. Antagonismo de fungos a *Sclerotinia sclerotiorum* em soja e feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 162-166, 1993.

JULIATTI, F.C.; BORGES, E.N.; PASSOS, R.R.; JÚNIOR, J.C.C.; JULIATTI, F.C.; BRANDÃO, A.M. **Doenças da Soja**. Uberlândia: UFU, 2003, 13 p. (Caderno Técnico Cultivar, n. 47).

JULIATTI, F.; POLIZEL, A.C.; JULIATTI, F.C. **Manejo integrado de doenças na cultura da soja**. Uberlândia: Composer, 2004, 327 p.

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

LLOYD JUNIOR, E.H. White mold of pinto beans: effects on yield and fungicidal control. **Farm Research**, Fargo, v. 32, p. 9-14, 1975.

LOBO JÚNIOR, M. **Sintomas da podridão branca da haste da soja**. 2008. 2 fotografia, color., 12,3 cm x 14,2 cm.

LOBO JÚNIOR, M. **Sintomas da podridão branca da haste da soja**. 2008. 2 fotografia, color., 8,95 cm x 5,36 cm.

MACHADO, J.C. Padrões de tolerância de patógenos associados às sementes. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p. 229-263, 1994.

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

MELO, I. S. de. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p.261-295, 1996.

NAPOLEÃO, R.; CAFÉ FILHO, A.C.; NASSER, L.C.B.; LOPES, C.A.; SILVA, H.R. Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em plantio convencional e direto sob diferentes lâminas d'água. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n. 4, p. 374-379, 2005.

NASSER, L.C.B.; ANJOS, J.R.N.; PERES, J.R.R.; MEDEIROS, A.C.S.; SPEHAR, C.R.; URBEN FILHO, G.; SOUZA, P.I.M. **Fungicidas para tratamento de semente de soja**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1984, 6 p. (Comunicado Técnico 40).

NATTI, J.J. Epidemiology and control of bean white mold. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, p. 669-674, 1971.

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

SANTOS, J.R.M.; CHARCHAR, M.J.; NASSER, L.C.B. Levantamento de patógenos que afetam ervilha irrigada no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, p.98-99, 1990.

SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R. Factors affecting sclerotium population of, and apothecium production by, *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 68, p. 383-388, 1978.

SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R. White Mold. In: SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. (ed.). **Bean production problems in the tropics**. 2. ed. Cali: CIAT, 1989. 726 p.

SECCO, M.D.; CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.P.; SILVA, J.R.C.; MORAES, E.B.; NEVES, D.L.; RIBEIRO, G.C. Eficiência de tiofanato metílico e fluazinam no controle do mofo branco em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Brasília. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2007, p. 299.

SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, H.D.; SILVA, J.R.C. **Mofo branco**. Disponível em: <http://www.ihara.com.br/index/ezsite.asp?ID=2065>. Acesso: 10 jun. 2008.

SINCLAIR, J.B.; BACKMAN, P.A. **Compendium of soybean disease**. 3 ed. St. Paul: APS Press, 1989. 106 p.

SOUZA, E.D.T. **Métodos de inoculação para avaliação e seleção de germoplasma de *Phaseolus* spp. quanto à resistência à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary**. 1999. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

STEADMAN, J.R. White mold- a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983.

SUTTON, D.C.; DEVERAL, B.J. Studies on infection of bean (*Phaseolus vulgaris*) and soybean (*Glycine max*) by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, Oxford, v.32, p. 251-261, 1983.

TU, J.C. Management of white mold of white beans in Ontario. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 73, n. 4, p. 281-285, 1989.

TU, J.C.; BEVERSDORF, W.D. Tolerance to white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) in Ex Rico 23, a cultivar of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 62, p. 65-69, 1982.

VIEIRA, R. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1988. 231 p.

VIEIRA, R. O mofo branco do feijoeiro - Feijão no inverno, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 178, p. 54-63, 1994.

VIEIRA, R.F.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PINTO, C.M.F. Intensidade de mofo branco influenciada por fungicida, espaçamento entre fileiras e densidade de plantas. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 205-207.

YORINORI, J.T. Soja. In: VALE, F.X.R. do; ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p. 973.

WILLETS, H.J.; WONG, J.A.L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum* and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **The Botanical Review**, New York, v. 46, p. 101-165, 1980.

CAPÍTULO 2

**INFLUÊNCIA DE MEIOS DE CULTURA À BASE DE VEGETAIS E
CONCENTRAÇÕES DE FUBÁ DE MILHO, FARINHA DE MANDIOCA E
TRIGO NA PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE *Sclerotinia sclerotiorum***

1 RESUMO

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Influência de meios de cultura à base de vegetais e concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo na produção de escleródios.** UFU. 2008. 32 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

Considerando a biologia de *Sclerotinia sclerotiorum*, os escleródios são fundamentais em seu ciclo de vida, pois são precursores dos apotécios e conseqüentemente dos ascosporos e produção de hifas. Estudos envolvendo o patógeno exigem a disponibilidade de inóculo. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar meios de cultura à base de vegetais e concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe” sobre a produção de escleródios. Os meios de cultura à base de vegetais estudados foram: cenoura, repolho, soja, couve-flor, feijão, tomate, girassol, vagem, batata, batata-doce e abóbora, com e sem adição de fubá de milho. Em relação ao ensaio de concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca, as concentrações estudadas foram: 0, 5, 20, 35, 50, 65, 85 e 100% em adição ao substrato feijão. Os meios de cultura estudados nos dois ensaios foram umedecidos com água destilada. Os Erlenmeyers contendo os meios de cultura foram esterilizados a 120°C, por 20 minutos. Após 12 horas de resfriamento dos meios de cultura, 5 discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram inoculados em cada frasco de erlenmeyer. Os frascos foram incubados a 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas, durante 30 dias consecutivos (meios de cultura à base de vegetais) e 45 dias (concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca). Decorrido o período de incubação, os escleródios foram separados do meio original através de lavagem em água corrente sobre malha de 2 mm. Os escleródios foram secos sobre papel toalha, por 48 horas, a temperatura ambiente. Em seguida, determinou-se o peso e o número de escleródios. Com base no peso dos escleródios, determinou-se o rendimento para cada meio de cultura estudado. Pelos resultados obtidos, verificou-se que meios combinados com fubá de milho foram mais promissores, independente do vegetal utilizado, tanto no rendimento, quanto no número de escleródios, sendo que os melhores foram os meios de cultura a base de feijão e girassol. Quanto às concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca, o rendimento e número de escleródios decresceram com o aumento das concentrações. A concentração de 20% proporcionou maior produção de escleródios, sendo fubá de milho e trigo os mais promissores.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*, meios de cultura, concentrações, produção de escleródios.

¹ Comitê Orientador: Prof. Dr.Fernando César Juliatti – UFU

2 ABSTRACT

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Effect of vegetable culture media and cornmeal, cassava flower and wheat concentrations on sclerotium production.** UFU. 2008. 32 p. Dissertation (Master's degree in Agriculture/Phytopathology) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia¹.

Sclerotia are fundamental for the life cycle of *Sclerotinia sclerotiorum* because they are the resting structures that form apothecia and, consequently, ascospores, and the hyphae. Studies involving this pathogen require inoculum availability; thus, the objective of this study was to evaluate vegetable growth media and the concentrations of cornmeal, cassava crumbs and bulgur wheat for sclerotium production. The vegetable culture media analyzed were: carrot, cabbage, soybean, cauliflower, common beans, sunflower, snap beans, potato, sweet potato and pumpkin, with or without the amendment of cornmeal. The concentrations of cornmeal, wheat and cassava crumbs amended on the common beans medium were 0, 5, 20, 35, 50, 65, 85 and 100%. The culture media of both tests were moistened with distilled water. The Erlenmeyers flasks containing the media were sterilized at 120°C, for 20 minutes. Twelve hours after the media had cooled to room temperature, 5 6-mm diameter mycelial plugs were inoculated into each flask. The flasks were incubated at 22 ± 3°C and 12 hours lighting, for 30 days (vegetable based media) or 45 days (concentrations of cornmeal, wheat and cassava crumbs). The sclerotia were separated from the original media after the incubation period by washing in tap water on a 2 mm screen. The sclerotia were dried on paper towel for 48 hours at room temperature. Subsequently, the weight and number of sclerotia were determined. Culture media yield was determined based on the sclerotia weight. The culture media amended with cornmeal were more effective, regardless of the vegetable used as a base, for both yield and number of sclerotia, and within this group, the media based on common beans and sunflower were the best ones. Sclerotia yield and number decreased as the concentrations of cornmeal, wheat and cassava crumbs increased. The concentration of 20% yielded the greatest production of sclerotia, and cornmeal and wheat were more effective at that.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*, culture media, concentrations, sclerotia production.

¹ Supervisor: Prof. Dr.Fernando César Juliatti – UFU

3 INTRODUÇÃO

A podridão branca da haste da soja causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary tem se tornado uma doença de grande importância para a cultura. Isto se deve principalmente a alta precipitação durante a safra aliada a temperaturas amenas, rotação de culturas com espécies altamente suscetíveis e ao uso de sementes contaminadas produzidas pelos próprios produtores. Segundo Leite (2005), as sementes podem ser disseminadoras, sejam através de escleródios misturados a elas ou de micélio existente nos tecidos internos.

O fungo produz estruturas de resistência denominadas escleródios, dentro e na superfície dos tecidos colonizados, que retornam ao solo com os resíduos da cultura e são responsáveis pela sobrevivência do fungo (LEITE, 2005). São a partir dos escleródios que são formados os apotécios (germinação carpogênica) e as hifas (germinação miceliogênica), isto faz com que os escleródios sejam extremamente importantes no ciclo de vida de *S. sclerotiorum*.

Os escleródios podem sobreviver no solo por um período superior a cinco anos (Steadman, 1983). Sob condições favoráveis e na presença de um hospedeiro suscetível, o escleródio germina e produz micélio, que penetra diretamente nos tecidos da base da planta, ou forma apotécios, que emergem na superfície do solo e liberam os ascosporos. Dependendo das condições climáticas, os apotécios liberam ascosporos durante várias semanas, que são responsáveis pela infecção da parte aérea das plantas (LEITE, 2005).

A produção de escleródios em larga escala, em condições de laboratório, é importante e facilita a realização de trabalhos envolvendo o patógeno. Vários meios de cultura à base de vegetais como aveia, cenoura + batata, sorgo, feijão, batata e cenoura (FERRAZ; CAFÉ FILHO, 1998), repolho (FERNANDES et al. 1993) e abóbora (LIMA et al. 1997) foram descritos na literatura, porém, muitos ainda não foram testados e não se sabe a capacidade destes na produção de escleródios. Outro aspecto é que os meios descritos, geralmente, foram testados em adição de fubá milho, não testando outros complementos, bem como, qual a melhor dose a ser utilizada.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo estudar meios de cultura à base de vegetais e o efeito de doses de farinha de mandioca, fubá de milho e trigo para kibe na produção de escleródios.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

A formação de escleródios envolve mudanças celulares e a mobilização e deposição de muitos materiais (LETORNEAU, 1979). Como revisado por LeTorneau (1979), as hifas vegetativas de *S. sclerotiorum*, geralmente crescem longe uma da outra. Na formação inicial dos escleródios, há uma atração entre as hifas de modo que ocorre a fusão das mesmas, e a formação de escleródio pode ser uma resposta às mudanças na disponibilidade de nutrientes. Alguns isolados de *S. sclerotiorum* perdem a habilidade de produzir escleródios após repicagens consecutivas em meio de cultura. Isto pode ser devido à inabilidade do fungo sintetizar os compostos específicos exigidos para a formação de escleródio. Metabólito presente em *Sclerotinia* spp., conhecido como “sclerin”, em combinação com outros compostos, tais como fenóis, está envolvido no melanogênese e na formação de agregados de hifas.

Segundo Georgiou et al. (2001), *S. sclerotiorum* produz β -caroteno em baixo e alto níveis durante os estágios de não diferenciação e diferenciação, respectivamente. Em isolados que produzem escleródios, a produção de β -caroteno depende das condições de luz durante os estágios de desenvolvimento, enquanto que em isolados que não produzem, a produção de β -caroteno é muito baixa e independe de luz e do período de crescimento.

Como revisado por Bolton et. al. (2006) três estágios do desenvolvimento de escleródios de *S. sclerotiorum* foram caracterizados (TOWNSEND; WILLETTS, 1954): (a) iniciação (agregação de hifas para formar uma massa branca chamada de escleródio inicial), (b) desenvolvimento (crescimento das hifas e agregação para aumentar de tamanho), e (c) maturação (delimitação da superfície, depósito da melanina na superfície externa e consolidação interna).

De acordo com a revisão realizada por LeTorneau (1979), *Sclerotinia* spp. utiliza como fonte de carbono muitos compostos orgânicos, tais como açúcares, alcóois e ácidos orgânicos, para o crescimento e a produção de escleródios. A inabilidade de usar as fontes de carbono endógenas normalmente presentes no escleródio para o crescimento micelial pode ser parte de um mecanismo de controle relativo à germinação carpogênica e miceliogênica. Compostos orgânicos e inorgânicos também são utilizados como fontes de nitrogênio. Áminoácidos de ácidos orgânicos do ciclo de Krebs são boas fontes de nitrogênio para a formação dos escleródios. A relação carbono/nitrogênio (C/N) e a forma do nitrogênio com relação ao C/N podem afetar a produção de

escleródio. A supressão da glicólise e ciclo de Krebs e a estimulação da rota pentose fosfato estão envolvidos durante a compactação e maturação do escleródio (WONG; WILLETS, 1974). A trianose está envolvida na iniciação do escleródio e o fenol na formação da superfície escura.

S. sclerotiorum pode produzir escleródios anormais. Segundo Huang (1983), o primeiro relato de escleródios anormais ocorreu em Manitoba, durante 1977-1979, em plantas de girassol. Os escleródios são ditos anormais quando apresentam a superfície enrugada e descoloração dos tecidos medulares comparados com escleródios normais, que apresentam tecido interno medular branco e superfície lisa. De acordo com Huang; Kozub (1994), escleródios anormais perdem a viabilidade mais rápida, comparados com os normais, e a redução na longevidade é proporcional ao grau de malformação. A viabilidade dos escleródios diminuiu com o aumento da temperatura de 0,5 a 30°C e, dentro de cada temperatura, a taxa de viabilidade dos escleródios reduziu com o aumento do período de armazenamento e grau de anomalia.

Diversos meios para a produção de escleródios de *S. sclerotiorum* foram relatados. Ferraz; Café Filho (1998) estudaram os meios aveia, batata, cenoura, cenoura + batata, feijão e sorgo, isoladamente ou combinados com fubá na concentração de 20% p/p. Os meios feijão e cenoura + batata com adição de fubá promoveram maiores produções de escleródios. Lima et al (1997) avaliaram os substratos abóbora-moranga, batata, beterraba e cenoura, aos 15, 30 e 45 dias após a incubação. O peso total de escleródios para cada substrato testado foi de 115,89 g (15 dias), 103,72 g (30 dias) e 126,82 g (45 dias). Os substratos batata (15, 30 e 45 dias), cenoura (15, 30 e 45 dias) e abóbora (45 dias) foram os melhores.

Os substratos batata, cenoura, chuchu e abóbora foram inoculados com isolados de *S. sclerotiorum* obtidos de feijão, canola, abobrinha, repolho e alface para produção de escleródios. O maior número de escleródios foi obtido no substrato batata para os isolados de repolho, alface, canola e feijão, e para o isolado de abobrinha em chuchu (LIMA et al. 1997).

Os meios de cultura à base de sorgo, arroz, milho, trigo e fubá de milho foram estudados por Rios et al. (1996). Os autores verificaram que os meios à base de grãos de sorgo e arroz promoveram maior número de escleródios e peso de escleródios. As menores quantidades de escleródios ocorreram nos meios à base de fubá de milho e grãos de trigo. Prasad et al. (1988) cultivaram escleródios de *S. sclerotiorum* em meios de ágar com extratos de coentro, feijão rajma e feijão-de-corda e verificaram que o meio

contendo feijão-de-corda promoveu maior produção de escleródios, sendo que nenhum escleródio, foi observado no meio contendo extrato de coentro.

Fernandes et al. (1993) avaliaram os meios à base de vegetais, como cenoura, mandioquinha-salsa, repolho, vagem, alface e BD (Batata – Dextrose), na ausência e presença de fubá de milho. Os melhores meios foram repolho e cenoura, e todos os meios contendo fubá produziram mais escleródios que os seus correspondentes sem fubá. Nasser et al. (1995) testaram um novo método para produção massal de escleródios de *S. sclerotiorum* à base de cenoura e conseguiram produzir 112 g de escleródios em 1,9 kg de cenoura. Nelson et al. (1988) propuseram um meio composto de 54 g de fubá, 3,5 g de vermiculita, 37 ml de solução de ácido casamino a 1% e extrato de levedura à 1%, colocados em frascos de 1000 ml e o potencial osmótico ajustado a – 25 bars.

A influência do meio de produção de escleródios na produção posterior de apotécios foi estudada por Budge e Whipps (1991). Os autores verificaram que meios com alta concentração de sacarose interferiu negativamente na produção subsequente de apotécios. Em baixas concentrações de sacarose, os escleródios formaram apotécio mais rapidamente e em maior número. Segundo Chaves (1964), os escleródios apresentam grande variabilidade de tamanho, de 2 a 20 mm de comprimento e de 2 a 10 mm de diâmetro. Dillard et al. (1995) verificaram que o maior número de apotécios está diretamente proporcional ao aumento do tamanho dos escleródios. De acordo com Ferraz e Café Filho (1998), escleródios com diâmetros entre 2,4 e 6,3 mm não diferiram quanto à habilidade de formar apotécios “*in vitro*”.

Os escleródios devem ser colocados em substratos com poucos nutrientes para favorecer a germinação carpogênica (LETORNEAU, 1979), como filtro de papel molhado em placas de Petri (BUDGE e WHIPPS, 1991). Os substratos de incubação como areia, composto orgânico, agar-água e composto + areia favoreceram igualmente a formação de apotécios (FERRAZ e CAFÉ FILHO, 1998). Segundo Dillard et al. (1995), a temperatura ótima de acondicionamento dos escleródios de *S. sclerotiorum* esteve em torno de 8 a 16°C, quando testados a 4, 8, 16 e 24°C.

Plantas da família Brassicaceae que são utilizadas como meio de cultura para produção de escleródios de *S. sclerotiorum*, como o repolho (Fernandes et al., 1993), vêm sendo utilizadas também em biofumigação do solo para controle de patógenos, inclusive *S. sclerotiorum*. A biofumigação consiste na incorporação de matéria orgânica ao solo, principalmente resíduos de brássicas e resíduos ricos em nitrogênio, que

durante a decomposição produzem substâncias tóxicas aos fitopatógenos, reduzindo sua viabilidade no solo.

O uso de plantas da família Brassicaceae se deve ao fato delas possuírem um grupo de metabólitos secundários denominados glucosinolatos (MOJTAHEDI et al., 1993; POTTER et al., 1998). Os glucosinolatos encontrados em todos os tecidos da planta, após sofrerem hidrólise, liberam compostos de enxofre que são tóxicos a diversos microrganismos do solo (GAMLIEL; STAPLETON, 1993).

O efeito dos produtos da hidrólise dos glucosinolatos tem sido comprovado em plantas daninhas (HARAMOTO; GALLANTD, 2004), *Heterodera glycines*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne mayaguensis* (LIMA, 2006), *Fusarium oxysporum* (SMOLINSKA et al., 2003), *Pseudomonas marginalis* (CHARRON et al., 2002), *Rhizoctonia solani* (CHUNG et al., 2002), entre outros. Yamagata et al. (2007) avaliaram o efeito dos extratos de couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*), brócolis (*B. oleracea* var. *italica*), repolho (*B. oleracea* var. *capitata*) e acelga (*Beta vulgaris* var. *ciela*), sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Os tratamentos com couve-manteiga e brócolis promoveram redução significativa no crescimento micelial, na dosagem de 20%. Entretanto, o extrato de couve-manteiga, nas concentrações de 2 e 5%, estimulou o crescimento do fungo. Enquanto que os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha.

Fan et al. (2008) estudaram diferentes concentrações de couve-rábano (*Brassica oleraceae* var. *caulorapa*) sobre o crescimento micelial de *Fusarium culmorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Ceratocystis fimbriata* e *Verticillium dahliae*. Os autores verificaram que para *Fusarium culmorum* e *Sclerotinia sclerotiorum* a maior supressão do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações. *Ceratocystis fimbriata* e *Verticillium dahliae* apresentaram maior sensibilidade a biofumigação pela planta de couve-rábano. Para o controle de patógenos, utilizando a biofumigação com couve-rábano, deve-se levar em consideração o patógeno em estudo, uma vez que os mesmos podem apresentar sensibilidades diferentes.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas, LAMIP, da Universidade Federal de Uberlândia, MG.

5.1 Obtenção do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*

O isolado foi obtido de escleródios formados no interior da haste de soja, provenientes de campos comerciais de Jataí-GO. Os escleródios foram previamente desinfestados em álcool 50% e hipoclorito de sódio a 0,5%, diluídos em água destilada estéril, por 30 e 60 segundos, respectivamente. Em seguida, os escleródios foram enxaguados em água destilada estéril para serem transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. As placas de Petri foram incubadas a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, luz fluorescente, para germinação miceliogênica e formação de escleródios.

5.2 Produção de escleródios em meios de cultura à base de vegetais

A produção de escleródios foi avaliada em 11 meios de cultura à base de vegetais (Tabela 1), isoladamente ou complementados com fubá, na proporção de 20% p/p, segundo Ferraz e Café Filho (1998).

Os frascos de Erlenmeyer de 500 ml contendo os meios foram autoclavados por 20 minutos à 120°C e, após 12 horas de resfriamento, receberam cinco discos de micélio de sete dias de idade com seis mm de diâmetro, originados em BDA a partir de escleródios (FIGURA 1). Para colonização dos meios, os frascos foram incubados à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por 30 dias consecutivos, de acordo com Ferraz; Café Filho (1998).

TABELA 1 – Composição dos meios de cultura à base de vegetais para produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

Meio de Cultura	Composição/Orgão Botânico Estudado
Feijão	100 g de grãos* + 10 ml de água
Feijão + Fubá	100 g de grãos* + 20 g de fubá + 15 ml de água
Batata	100 g de tubérculo com casca e picado + 10 ml de água
Batata + Fubá	100 g de tubérculo com casca e picado + 20 g de fubá + 15 ml de água
Cenoura	100 g de raiz com casca e picada
Cenoura + Fubá	100 g de raiz com casca e picada + 20 g de fubá
Soja	100 g de grãos* + 10 ml de água
Soja + Fubá	100 g de grãos* + 20 g de fubá + 15 ml de água
Vagem	100 g de fruto picado + 10 ml de água
Vagem + Fubá	100 g de fruto picado + 20 g de fubá + 15 ml de água
Abóbora	100 g de fruto com casca e picado + 10 ml de água
Abóbora + Fubá	100 g de fruto com casca e picado + 20 g de fubá + 15 ml de água
Tomate	100 g de fruto com casca e picado
Tomate + Fubá	100 g de fruto com casca e picado + 20 g de fubá
Repolho	100 g de folha picada + 10 ml de água
Repolho + Fubá	100 g de folha picada + 20 g de fubá + 15 ml de água
Girassol	100 g de grãos* + 10 ml de água
Girassol + Fubá	100 g de grãos* + 20 g de fubá + 15 ml de água
Couve-flor	100 g de inflorescência picada + 10 ml de água
Couve-flor + Fubá	100 g de inflorescência picada + 20 g de fubá + 15 ml de água
Batata Doce	100 g de raiz com casca e picada + 10 ml de água
Batata Doce + Fubá	100 g de raiz com casca e picada + 20 g de fubá + 15 ml de água

*Os grãos foram imersos em água destilada por 12 horas, segundo Ferraz; Café Filho (1998).



FIGURA 1 – Meio de cultura abóbora com fubá de milho (A) e sem fubá (B) inoculado com discos de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* nos Erlenmeyers. UFU, Uberlândia, 2008.

5.3 Influência de concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca associadas ao meio de cultura feijão na produção de escleródios

Concentrações de 0, 5, 20, 35, 50, 65, 85 e 100% de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe” foram estudadas em adição ao substrato feijão, totalizando um peso constante de 100 gramas de meio + 30 ml de água destilada para cada frasco de Erlenmeyer de 500 ml. Os grãos de feijão foram umedecidos em água destilada previamente por 12 horas.

Os frascos foram autoclavados por 20 minutos à 120°C e, após 12 horas de resfriamento, receberam cinco discos de micélio de nove dias de idade com 6 mm de diâmetro, originados em BDA a partir de escleródios (FIGURA 2). Em seguida, os frascos foram incubados à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por 45 dias consecutivos, segundo Lima et al., 1997, para a colonização dos meios (FIGURA 3).

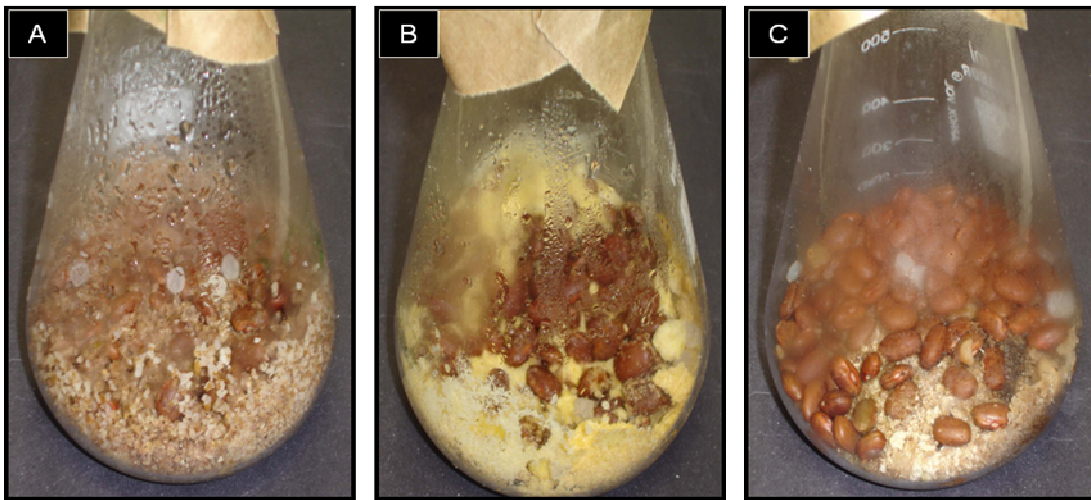


FIGURA 2 – Meio de cultura feijão na concentração de 50% complementado com trigo (A), fubá de milho (B) e farinha de mandioca (C) a 50%, contendo discos de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* nos Erlenmeyers. UFU, Uberlândia, 2008.



FIGURA 3 – Incubação em câmara durante 45 dias para colonização dos meios. UFU, Uberlândia, 2008.

5.4 Avaliações

Decorrido o período de incubação para os dois experimentos, os escleródios foram separados do meio original através de lavagem em água corrente sobre peneiras de 2 mm. Após a lavagem, os escleródios foram secos, em condições de laboratório, sobre papel toalha por 48 horas para posterior contagem, pesagem e armazenagem (FIGURA 4).

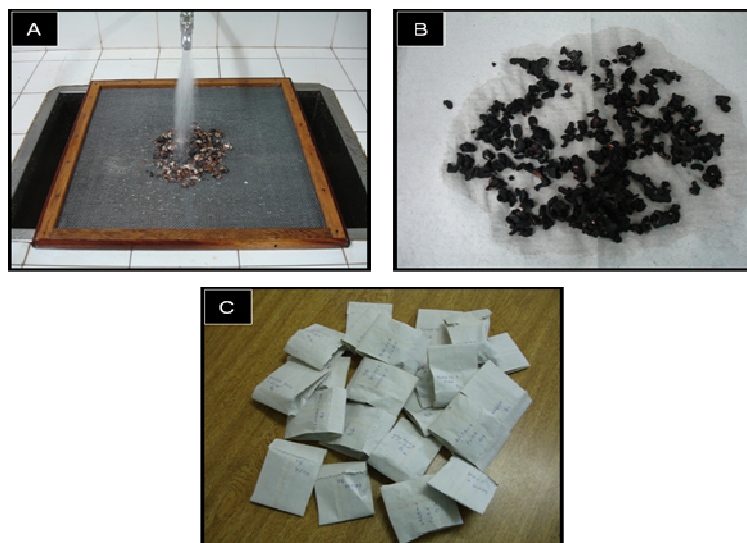


FIGURA 4 – Lavagem (A), secagem (B) e armazenagem (C) de escleródios. UFU, Uberlândia, 2008.

5.5 Determinação do rendimento de escleródios

O rendimento foi calculado através da fórmula abaixo proposta por Juliatti (1985):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Peso (g) dos escleródios totais beneficiados} \times 100}{\text{Peso do Meio (g)}}$$

5.6 Delineamento experimental

O ensaio 5.2 foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial de 11 (meios) x 2 (adição de fubá) com quatro repetições. Em relação ao ensaio 5.3, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 8 (concentrações) x 3 (complementos), com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste de F, a 1% de significância. Para valores quantitativos (ensaio 5.3), aplicou-se regressão e para dados qualitativos, aplicou-se teste de Tukey (ensaio 5.2 “com e sem fubá de milho”) e ensaio 5.3 (meios fubá de milho, trigo e farinha de mandioca) e teste de Scott-Knot para o ensaio 5.2 (meios vegetais), por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2000).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Influência de meios de cultura na produção de escleródios

A adição de fubá teve efeito significativo sobre o rendimento e o número de escleródios (Anexos 1A e 2A). Observando-se a FIGURA 5, verifica-se que após o terceiro dia de incubação havia aglomerados de micélio dando início a formação de escleródios, sendo que no quinto dia após, os escleródios já se encontravam escuros. O meio “feijão”, com e sem fubá, proporcionou maior rendimento de escleródios com 21,7 e 17,9%, respectivamente, concordando com os resultados de FERRAZ e CAFÉ FILHO (1998) que obtiveram maior produção de escleródios com este meio (FIGURA 6). Isto pode ser explicado pelo fato do alimento feijão apresentar maior conteúdo de carboidrato em relação aos demais alimentos utilizados na preparação dos meios (Anexo 7A). Este alimento além de apresentar maior conteúdo de carboidrato contém também os macronutrientes fósforo, potássio e magnésio (PURDY; GROGAN, 1954) e o micronutriente zinco (VEGA; LETORNEAU, 1974), considerados essenciais na formação de escleródios. Budge; Whipps (1991) verificaram que aumentos crescentes da concentração de sacarose no meio de produção de escleródios resultaram em maior peso fresco e número de escleródios, parecendo existir uma relação direta entre conteúdo de carboidrato e produção de escleródios.

Quanto ao número de escleródios, os meios girassol e feijão complementados com fubá produziram 496 e 415 escleródios, respectivamente (FIGURA 7). O meio repolho proporcionou menor quantidade de escleródios, discordando dos resultados de Fernandes et al. (1993) que observaram que os meios repolho e cenoura foram os mais promissores na produção de escleródios, quando comparados com mandioquinha-salsa, vagem, alface e BD (Batata – Dextrose) na ausência e presença de fubá de milho.

A baixa capacidade do meio repolho em formar escleródios pode ser explicada em função destas plantas possuírem um grupo de metabólitos secundários denominados glucosinolatos (MOJTAHEDI et al., 1993; POTTER et al., 1998), que após sofrerem hidrólise, liberam compostos de enxofre que são tóxicos a diversos microrganismos do solo (GAMLIEL; STAPLETON, 1993), inclusive *S. sclerotiorum* (YAMAGATA et al., 2007, FAN et al. 2008). Fatores como efeito de cultivar, modo de preparo e isolado de *S. sclerotiorum* provavelmente podem influenciar na produção de escleródios.

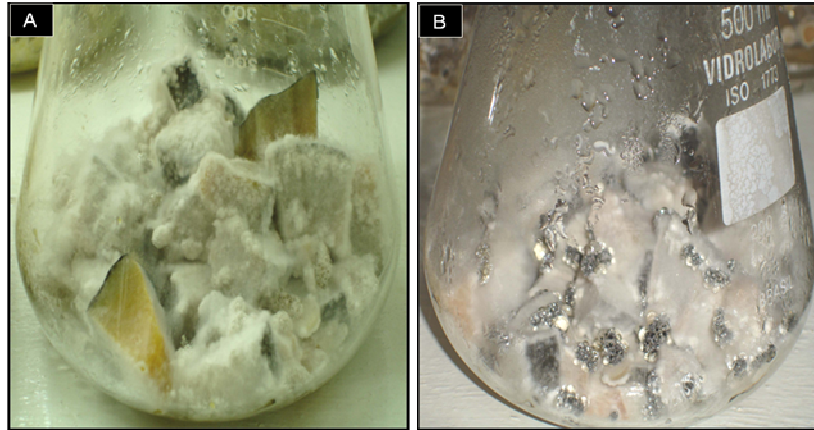


FIGURA 5 – Início da formação de escleródios após o 3º dia de incubação (A) e presença de escleródios já formados no 5º dia (B), em meio de cultura abóbora. UFU, Uberlândia, 2008.

O meio girassol, por ter proporcionado maior número de escleródios, pode ser utilizado em experimentos que demandam maior número de partículas infectivas. Entretanto, este meio de cultura não é o mais prático na separação dos escleródios comparado aos demais, por ter apresentado grande aderência dos escleródios aos grãos, dificultando a separação dos escleródios através de lavagem. Segundo Ferraz (1996), escleródios com restos de meio de cultura, quando inoculados ao solo para estudos, podem levar a formação de escleródios secundários e conseqüentemente aumentar o inóculo inicial. Segundo Adams; Tate (1976), os escleródios, antes de infectarem plantas de alface através de micélio, colonizam inicialmente a matéria orgânica não viva, e podem assim formar escleródios secundários.

Lima et al. (1998) obtiveram maior número de escleródios utilizando o substrato batata comparado à cenoura, chuchu e abóbora, quando inoculados com isolados de repolho, alface, canola e feijão, enquanto que para o isolado de abobrinha o substrato chuchu foi o melhor. Ferraz (1996) também verificou que o efeito do isolado interfere na produção de escleródios em meio de cultura.

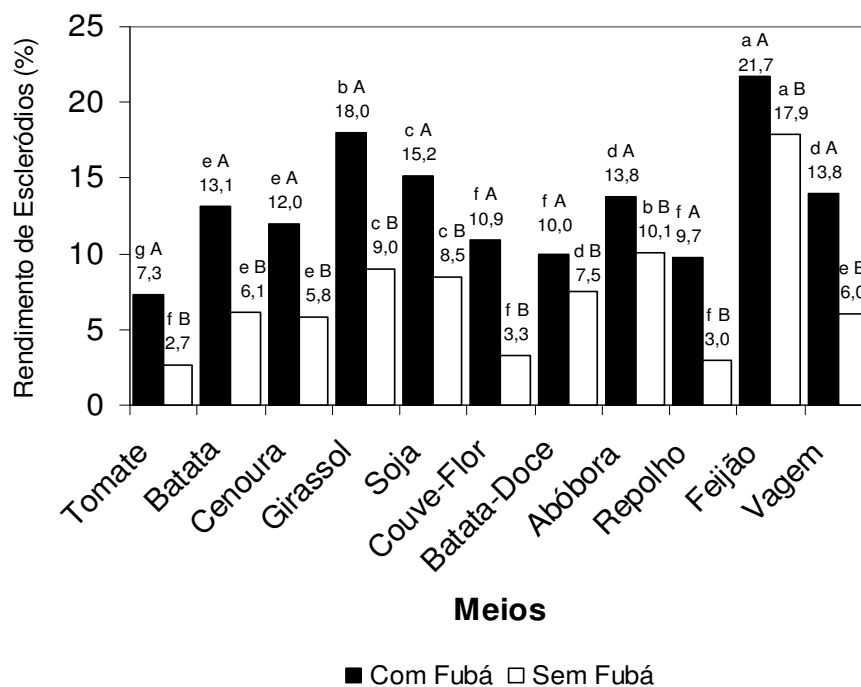


FIGURA 6 – Efeito de meios de cultura no rendimento de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá, a 1% de significância, pelo teste de Tukey.

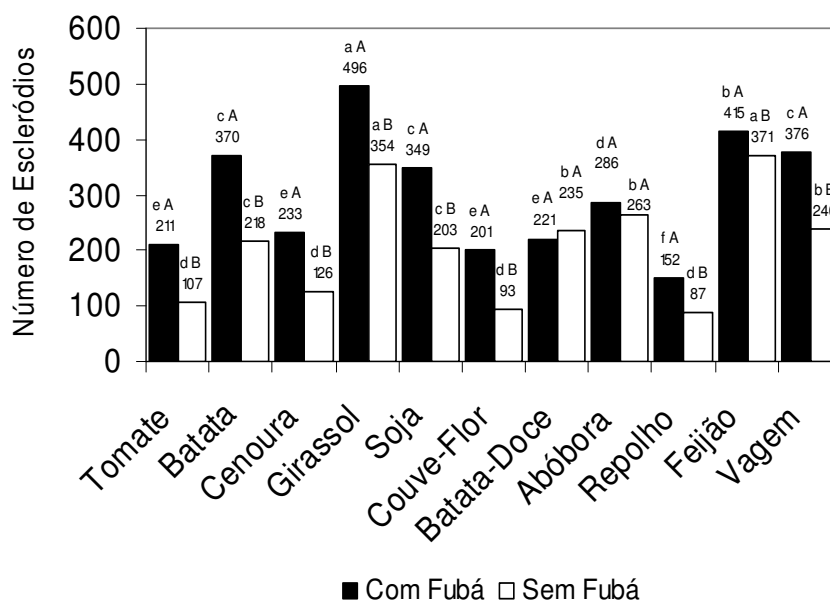


FIGURA 7 – Efeito de meios de cultura no número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá, a 1% de significância, pelo teste de Tukey.

6.2 Influência de concentrações de fubá de milho, trigo e farinha de mandioca associadas ao meio de cultura feijão na produção de escleródios

Houve efeito significativo tanto para rendimento de escleródios como para número de escleródios a 1% de probabilidade (Anexos 3A e 4A). O rendimento e o número de escleródios, em função das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”, foram melhores ajustados ao modelo quadrático. A exceção foi para farinha de mandioca em relação ao número de escleródios, em que o melhor modelo foi o linear (FIGURAS 8 e 9). O rendimento e o número de escleródios diminuíram com o incremento das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo.

O meio feijão, complementado com fubá de milho ($Y = 14,874 + 0,2825x - 0,0042x^2$, $R^2 = 0,89$) e trigo ($Y = 12,923 + 0,3862x - 0,0052x^2$, $R^2 = 0,92$) foi o mais promissor no rendimento de escleródios, quando comparado a farinha de mandioca ($Y = 11,946 + 0,0147x - 0,0016x^2$, $R^2 = 0,85$) (FIGURA 8). Estes resultados contrastam com os obtidos por Rios et al. (1996) em que trigo e fubá de milho responderam por menor quantidade de escleródios, quando comparados aos meios à base de sorgo, arroz, milho. Nas concentrações estudadas de 85 e 100% de farinha de mandioca, não houve formação de escleródios. Isto provavelmente pode ser explicado pelo fato da quantidade de água não ter sido suficiente para umedecer o meio de cultura, uma vez que o potencial osmótico interfere na formação de escleródios (LETORNEAU, 1979).

As concentrações de 20 e 35% de farinha de mandioca e fubá de milho proporcionaram 14,3 e 13% e 20,1 e 22,6% de rendimento de escleródios, respectivamente. Em relação ao trigo, as concentrações de 20 e 65% renderam 20,2 e 19,4% de escleródios, respectivamente. O complemento trigo resultou em maior número de escleródios do que fubá de milho, quando as concentrações estudadas foram 20, 35, 50 e 65%. Em geral, tanto para fubá de milho ($Y = 415,41 + 0,0358x - 0,0326x^2$, $R^2 = 0,94$), farinha de mandioca ($Y = 429,59 - 4,4668x$ ($R^2 = 0,94$) e trigo ($Y = 395,74 + 12,893x - 0,1709x^2$, $R^2 = 0,9361$), o efeito da concentração de 20% proporcionou maior rendimento e número de escleródios (FIGURA 9).

Ferraz; Café Filho (1998) e Budge; Whipps (1991) relataram que o aumento de carboidratos nos meios de cultura favorece a maior formação de escleródios. Isto explica o fato do meio de cultura feijão complementado com fubá de milho e trigo ter sido superior na formação de escleródios, quando comparado ao meio contendo apenas

feijão, uma vez que o alimento feijão é pobre em carboidratos, em relação ao fubá de milho e trigo (Anexo 7A). Entretanto, o mesmo não foi verificado quando se estudou o meio de cultura feijão combinado com farinha de mandioca, sendo que farinha de mandioca apresenta maior conteúdo de carboidrato em relação ao fubá de milho e trigo, parecendo existir a influência de outros elementos na formação de escleródios.

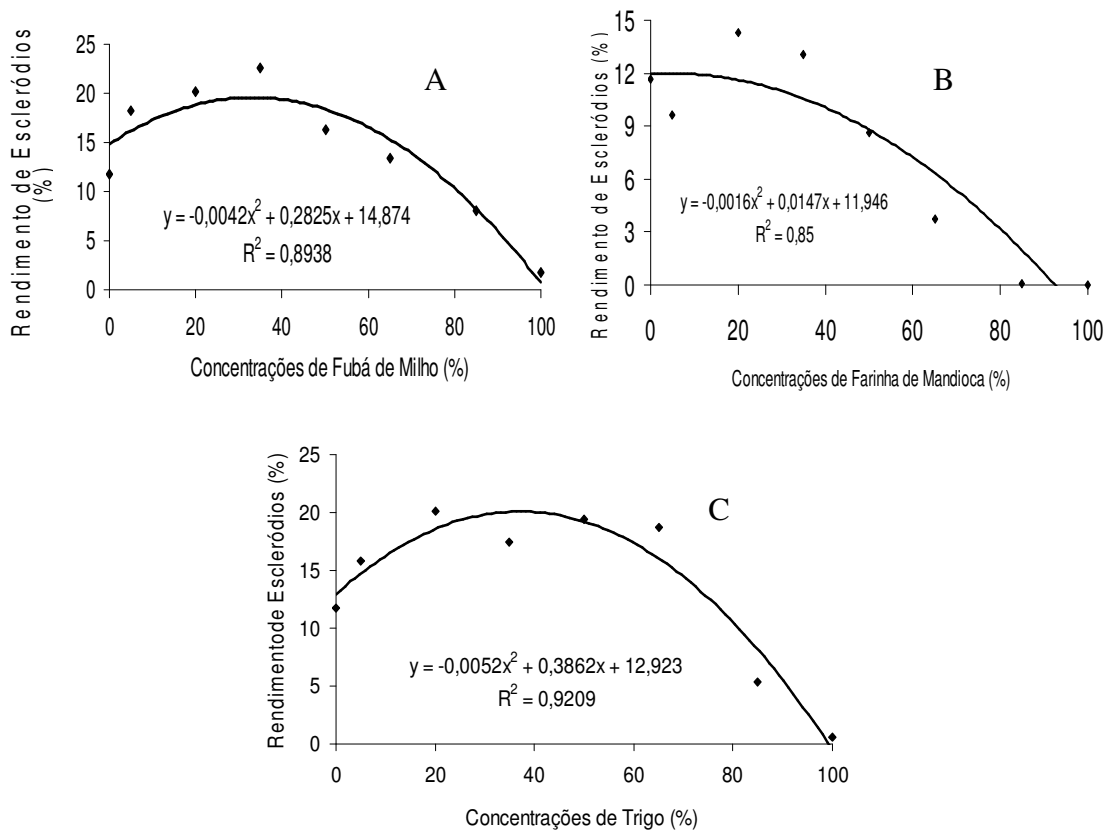


FIGURA 8 – Efeito das concentrações (%) de fubá de milho (A), farinha de mandioca (B) e trigo para “kibe” (C) associadas ao meio de cultura feijão no rendimento (%) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

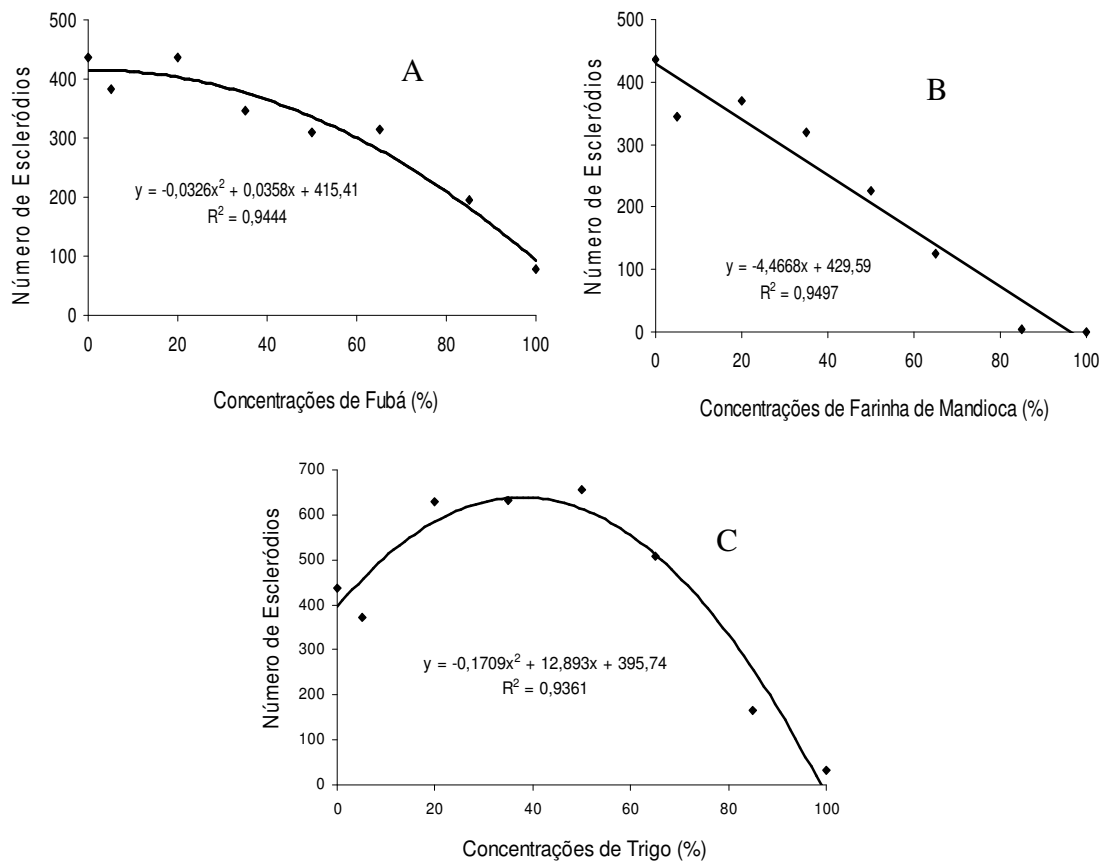


FIGURA 9 – Efeito das concentrações (%) de fubá de milho (A), farinha de mandioca (B) e trigo para “kibe” (C) associadas ao meio de cultura feijão no número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

7 CONCLUSÕES

Conclui-se que a obtenção de escleródios pode ocorrer através de vários meios de cultura. O que determina a escolha do meio a ser utilizado é a disponibilidade dos componentes no preparo do meio, a quantidade e praticidade de obtenção de partículas infectivas necessárias para estudo e o custo econômico.

Os meios feijão e girassol complementados com fubá foram os mais promissores no rendimento e número de escleródios.

A concentração de 20% de fubá de milho e trigo para “kibe” associada ao meio de cultura feijão proporcionou maior formação de escleródios.

Sugere-se estudos posteriores na tentativa de isolar o efeito de cada substância presente nos meios de cultura em estudo para caracterizar o efeito destas durante a formação de escleródios.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, P.B.; TATE, C.J. Mycelial germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 60, p. 515-518, 1976.

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

BUDGE, S.P.; WHIPPS, J.M. Effect of sucrose concentration on sclerotia production and subsequent apothecial formation by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 2, p.195-198, 1991.

CHARRON, C.S.; SAMS, C.E.; CANADY, C.H. Impact of glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* (Italica Group)) on growth of *Pseudomonas marginalis*, a causal agent of bacterial soft rot. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, n. 6, p.629-632, 2002.

CHAVES, G.M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Experientiae**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 64-133, 1964.

CHUNG, W.C.; HUANG, J.W.; HUANG, H.C.; JEN, J.F. Effect of ground Brassica seed meal on control of Rhizoctonia damping-off of cabbage. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Canadá, v. 24, p. 211-218, 2002.

DILLARD, H.R.; LUDWIG, J.W.; HUNTER, J.E. Conditioning sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* for carpogenic germination. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, n. 4, p. 411-415, 1995.

EMEDIX. **Valor nutricional dos alimentos**. Disponível em: <<http://www.emedix.com.br/dia/index.php>>. Acesso em: 20 maio 2008.

FAN, C. M.; XIONG, G.R.; QI, P.; JI, G.H.; HE, Y.Q. Potential biofumigation effects of *Brassica oleracea* var. *caulorapa* on growth of fungi. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 156, p.321-325, 2008.

FERRAZ, L.C.L. **Biologia de *Sclerotinia sclerotiorum* e aspectos de controle cultural de mofo branco em feijoeiro**. 1996, 202 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade de Brasília, Brasília, 1996.

FERRAZ, L.C.L.; CAFÉ FILHO, A.C. Meios de cultura e fatores culturais para produção de escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 364-365, 1998.

FERNANDES, N.T.; SANTOS, B.A. ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de meios de cultura naturais na produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracajú. **Resumos...** Aracajú: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1993. p. 323.

FERREIRA, F.A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2006.

GAMLIEL A; STAPLETON J.J. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, p. 899-905, 1993.

GEORGIU, C.D.; TAIRIS, N.; POLYCRATIS, A. Production of β -carotene by *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in sclerotium differentiation. **Mycological Research**, Cambridge, n.105, v.9, p.1110-1115, 2001.

HARAMOTO, E.R., GALLANDT, E.R. Brassica cover cropping for weed management: a review. **Renewable Agriculture and Food Systems**, Cambridge, v. 19, n. 4, p.187-198, 2004.

HUANG, H.C.; KOZUB, G.C. Longevity of normal and abnormal sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78, n. 12, p. 1164-1166,1994.

HUANG, H.C. Morphologically abnormal sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 28, p. 87-91, 1983.

JULIATTI, F.C. **Variabilidade de isolamentos de *Rhizoctonia solani* Kuhn (1858) em batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 1985, 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1985.

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

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

LIMA, A.O. **Uso da mostarda (*Brassica rapa*) como biofumigante de solo no controle de *Meloidogyne incognita***. 2006, 55 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

LIMA, M.L.R.C.; STOCCO, R.J.; TRENTO, S.M. Avaliação de diferentes substratos na produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO PAULISTA FITOPATOLOGIA, 20., 1997, São Paulo. **Resumos...** Botucatu: Sociedade Paulista Fitopatologia, 1997, p. 64.

LIMA, M.L.R.Z.; FRANCISCO, D.P.; POSSAMAI, J.C. Avaliação do crescimento de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes substratos. In: Congresso Paulista Fitopatologia, 21., 1998, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Sociedade Paulista Fitopatologia, 1998, p. 107.

MOJTAHEDI, H., SANTO, G.S., WILSON, J.H., HANG, A.N. Managing *Meloidogyne chitwoodi* on potato with rapessed as green manure. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 42-46, 1993.

NASSER, L.C.B.; BOLAND, G.J.; SUTTON, J.C. Novo método de produção massal de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., 1995, Ilhéus. **Resumos...** Ilhéus: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1995. p. 376.

NELSON, B.; DUVAL, L.; WU, H. An in vitro technique for large scale production of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 78, n. 11, p. 1470-1472, 1988.

Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113 p.

PRASAD, Y.; ITENDRA, D.; DEB, I. Growth and sclerotia development in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal Research Rajendra Agriculture University**, Samastipur, v. 6, n.1, p. 78-79. 1988.

PURDY, L.H.; GROGAN, R.C. Physiological studies of *Sclerotinia sclerotiorum* in liquid and agar culture. **Phytopathology**, Saint, Paul, v. 44, p. 36-38. 1954.

POTTER, M.J.; DAVIES, K.; RATHJEN, A.J. Supressive impact of glucosilonates in Brassica vegetable tissue on root lesion nematode *Pratylenchus neglectus*. *Journal Chemical Ecology*, New York, v. 24, p. 67-80, 1998.

RIOS, G.P.; NETTO, C.C.; GOMES, A.C.O. Utilização de meios de cultura para produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em laboratório. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5., 1996, Goiânia. **Anais...** Embrapa-CNPAF, 1996. p. 216-217.

STEADMAN, J.R. White mold- a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983.

SMOLINSKA, U.; MORRA, M.J.; KNUDSEN, G.R.; JAMES, R.L. Isothiocyanates produced by brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 4, p. 407-412, 2003.

VEGA, R.R.; LETOURNEAU, D. The effect of zine on growth and sclerotial formation in *Whetzelinia sclerotiorum*. **Mycologia**, New York, v. 66, p. 256-264. 1974.

WONG, A.L.; WILLETTS, H.J. Polyacrylamide-gel electrophoeresis of enzymes during morphogenesis of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of General Microbiology**, London, v, 81, p. 101-109, 1974.

YAMAGATA, C.M.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; MARTINEZ, C.V.O.; BATISTA, D.G. Efeitos de extratos de brássicas no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. **Resumos...** Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 166.

ANEXOS

Anexo 1A – Análise de variância dos dados referentes ao número de escleródios em função do efeito dos meios à base de vegetais com e sem adição de fubá. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meios	10	790096,84	790009,68	120,71	0,0001**
Fubá	1	187498,23	187498,23	286,45	0,0001**
Meios*Fubá	10	61739,52	6173,95	9,43	0,0001**
Repetição	3	889,00	296,33	0,45	0,7162 ^{NS}
Erro	63	41237,50	654,56		
CV (%)	10,05				

** Significativo a 1% de significância, pelo teste de F. ^{NS} Não significativo.

Anexo 2A – Análise de variância dos dados referentes ao rendimento de escleródios em função do efeito dos meios à base de vegetais com e sem adição de fubá. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meios	10	1329,46	132,95	218,98	0,0001**
Fubá	1	793,74	793,74	1307,37	0,0001**
Meios*Fubá	10	84,88	8,49	13,98	0,0001**
Repetições	3	2,38	0,8	1,31	0,2786 ^{NS}
Erro	63	38,25	0,61		
CV (%)	7,63				

** Significativo a 1% de significância, pelo teste de F. ^{NS} Não significativo.

Anexo 3A – Análise de variância dos dados referentes ao número de escleródios em função do efeito das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Concentrações	7	1609003,99	229857,71	73,83	0,0001**
Complementos	2	487175,69	243587,85	78,23	0,0001**
Conc.*Compl.	14	405914,97	28993,93	9,31	0,0001**
Erro	48	149451,33	3113,57		
VC (%)	17,25				

** Significativo a 1% de significância, pelo teste de F.

Anexo 4A – Análise de variância dos dados referentes ao rendimento de escleródios em função do efeito das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Doses	7	2394,87	342,13	79,56	0,0001**
Complementos	2	617,77	308,88	71,83	0,0001**
Doses*Compl.	14	342,81	24,49	5,70	0,0001**
Erro	48	206,40	4,30		
CV (%)	17,62				

** Significativo a 1% de significância, pelo teste de F.

Anexo 5A – Custo de produção de meios de cultura à base de vegetais referente à 100 gramas de meio. UFU, Uberlândia, 2008.

Meio de Cultura	Custo de Produção (R\$)
Feijão	0,50
Feijão + Fubá	0,53
Batata	0,15
Batata + Fubá	0,18
Cenoura	0,20
Cenoura + Fubá	0,23
Soja	0,05
Soja + Fubá	0,08
Vagem	0,60
Vagem + Fubá	0,63
Abóbora	0,10
Abóbora + Fubá	0,13
Tomate	0,35
Tomate + Fubá	0,38
Repolho	0,08
Repolho + Fubá	0,11
Girassol	0,05
Girassol + Fubá	0,08
Couve-flor	0,48
Couve-flor + Fubá	0,51
Batata Doce	0,13
Batata Doce + Fubá	0,16

Anexo 6A – Custo de produção de meios de cultura em função das concentrações de fubá de milho, farinha de mandioca e trigo para “kibe”, quantidade de 100 gramas de meio. UFU, Uberlândia, 2008.

Meios/Concentrações	Custo de Produção (R\$)
0% de Farinha de mandioca + 100% de feijão	0,50
5% Farinha de mandioca + 95% de feijão	0,50
20% de Farinha de mandioca + 80% de feijão	0,49
35% Farinha de mandioca + 65% de feijão	0,51
50% de Farinha de mandioca + 50% de feijão	0,47
65% de Farinha de mandioca + 35% de feijão	0,47
85% de Farinha de mandioca + 15% de feijão	0,45
100% de Farinha de mandioca + 0% de feijão	0,44
0% de Trigo para “kibe” + 100% de feijão	0,50
5% de Trigo para “kibe” + 95% de feijão	0,50
20% de Trigo para “kibe” + 80% de feijão	0,50
35% de Trigo para “kibe” + 65% de feijão	0,49
50% de Trigo para “kibe” + 50% de feijão	0,49
65% de Trigo para “kibe” + 35% de feijão	0,49
85% de Trigo para “kibe” + 15% de feijão	0,48
100% de Trigo para “kibe” + 0% de feijão	0,48
0% de Fubá de milho + 100% de feijão	0,50
5% de Fubá de milho + 95% de feijão	0,49
20% de Fubá de milho + 80% de feijão	0,43
35% de Fubá de milho + 65% de feijão	0,48
50% de Fubá de milho + 50% de feijão	0,33
65% de Fubá de milho + 35% de feijão	0,28
85% de Fubá de milho + 15% de feijão	0,21
100% de Fubá de milho + 0% de feijão	0,15

Anexo 7A – Composição de alimentos utilizados na preparação de meios de cultura referente a uma porção de 100 g.

Alimentos	Proteína (g)	Carboidrato (g)	Cinzas (g)	Cálcio (mg)	Magnésio (mg)	Manganês (mg)	Fósforo (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)
Tomate Cru ¹	1,1	3,1	0,5	7	11	0,07	20	0,2	1
Cenoura Crua ¹	1,3	7,7	0,9	23	11	0,05	28	0,2	3
Abóbora Cabotiá Crua ¹	1,7	8,4	0,8	18	9	0,11	26	0,4	Tr
Batata Doce Crua ¹	1,3	28,2	0,9	21	17	0,18	36	0,4	9
Soja Cozida ²	20,0	19,0	*	131	*	*	322	4,9	4
Girassol ²	21,43	17,86	*	117,86	*	*	714,29	6,79	3,57
Feijão Carioca Cru ¹	20,0	61,2	3,5	123	210	*	385	8,0	Tr
Repolho Cru ¹	0,9	3,9	0,4	35	9	0,13	14	0,2	4
Couve-flor Crua ¹	1,9	4,5	0,6	18	12	0,16	57	0,5	3
Vagem Crua ¹	1,8	5,3	0,5	41	18	0,5	28	0,4	Tr
Batata Inglesa Crua ¹	1,8	14,7	0,6	4	15	0,10	39	0,4	Tr
Fubá de milho Cru ¹	7,2	78,9	0,6	3	41		108	0,9	Tr
Farinha de Mandioca Torrada ¹	1,2	89,2	1	76	40	0,37	39	1,2	10
Trigo para “Kibe” ²	16,0	85,0	*	49	*	*	446	5,2	4

“...Continua...”

“TABELA 4, Cont.”

Alimentos	Potássio (mg)	Cobre (mg)	Zinco (mg)	Retinol (mcg)	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Piridoxina (mg)	Niacina (mg)	Vitamina C (mg)
Tomate Cru ¹	222	0,04	0,1	NA	0,12	Tr	0,02	*	21,2
Cenoura Crua ¹	315	0,05	0,2	NA	Tr	Tr	0,05	*	5,1
Abóbora Cabotiá Crua ¹	351	0,06	0,3	NA	Tr	Tr	0,10	*	5,1
Batata Doce Crua ¹	340	0,11	0,2	NA	0,06	Tr	0,10	*	*
Soja Cozida ²	972	*	*	*	0,38	0,16	*	1,1	*
Girassol ²	696,43	*	*	*	2,32	0,25	*	4,64	*
Feijão Carioca Cru ¹	1352	0,79	2,9	NA	0,17	Tr	0,65	4,02	*
Repolho Cru ¹	150	0,02	0,2	NA	Tr	0,03	0,06	*	*
Couve-flor Crua ¹	256	0,03	0,3	NA	0,03	0,09	0,10	*	*
Vagem Crua ¹	208	0,06	0,3	NA	Tr	0,08	Tr	*	*
Batata Inglesa Crua ¹	302	0,09	0,2	NA	0,10	Tr	0,15	*	31,1
Fubá de milho Cru ¹	168	0,08	1,1	NA	0,25	Tr	Tr	0,75	*
Farinha de Mandioca Torrada ¹	328	Tr	0,4	NA	Tr	Tr	0,81	Tr	Tr
Trigo para “Kibe” ²	444	*	*	*	0,66	0,14	*	5,2	*

Fonte: NEPA-UNICAMP, 2006; ² EMEDIX, 2008.

Tr = traço

* = sem informação

CAPÍTULO 3

INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* ATRAVÉS DE ÓLEO E EXTRATOS VEGETAIS

1 RESUMO

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* através de óleo e extratos vegetais**. UFU. 2008. 28 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

O uso constante de defensivos agrícolas na agricultura tem despertado a busca por produtos naturais e sistemas de produção que causem menos impacto ao homem e ao meio ambiente. As plantas, por apresentarem uma diversidade de substâncias em sua composição, muitas vezes com potencial fungicida ou fungistático, vêm sendo estudadas para síntese de novos fungicidas no futuro como também na indução de resistência as plantas, ou ainda, serem utilizadas diretamente pelo produtor com a aplicação do extrato da planta cultivada. Considerando a importância do patógeno *S. sclerotiorum* para cultura da soja e demais culturas, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de óleo e extratos vegetais sobre o crescimento micelial do fungo. Concentrações de 25, 50, 75 e 100 ppm do ingrediente ativo azadiractina do óleo de *Azadirachta indica* foram estudadas em associação as doses de 0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 do óleo de *Pongamia glabra*. As doses de *P. glabra* foram obtidas sobre o volume do óleo de *A. indica* utilizado para obter as concentrações de 25, 50, 75 e 100 ppm de *A. indica*. No ensaio de extratos vegetais, as plantas estudadas foram: aroeirinha (*Schinus molle* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), alfafaca (*Ocimum* spp. L.), losna (*Artemisia absinthium* L.), jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), arruda (*Ruta graveolens* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e pimenta longa (*Piper aduncum* L.) Os extratos vegetais foram incorporados ao meio BDA na concentração de 30%. As partes botânicas estudadas foram as folhas, com exceção de pimenta longa que, além da folha, estudou-se o fruto. Para os dois ensaios, o tratamento testemunha foi utilizado como controle negativo e o fungicida procimidone a 10 ppm do ingrediente ativo como controle positivo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 3 repetições (ensaio – óleos vegetais) e 5 repetições (ensaio – extratos vegetais). Os tratamentos foram adicionados após a autoclavagem do meio BDA, com a temperatura baixa. Após a solidificação do meio, discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram depositados no centro das placas de Petri, e estas foram incubadas a temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas por 48 horas. As avaliações foram iniciadas 24 horas após a incubação, perdurando até 48 horas após, momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram toda a superfície do meio. Através dos dados, calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial. Os resultados demonstraram que a maior inibição do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações de *A. indica* e *P. glabra*. A interação entre *A. indica* e *P. glabra* foi significativa, sendo a dosagem de 1/3 de *P. glabra* a mais eficiente com 65% de inibição. Nenhuma dosagem inibiu o crescimento em 100% igual ao fungicida procimidone. Quanto aos extratos vegetais, o fruto de *Piper aduncum* foi o mais promissor sobre a redução do crescimento micelial, com 43% de inibição.

Palavras-chave: *S. sclerotiorum*, extratos aquosos e óleos vegetais, crescimento micelial.

¹ Comitê Orientador: Prof. Dr. Fernando César Juliatti – UFU

2 ABSTRACT

GARCIA, RICCELY ÁVILA. *Sclerotinia sclerotiorum* mycelial growth inhibition with vegetable essential oils and extracts. UFU. 2008. 28 p. Dissertation (Master's degree in Agriculture/Phytopathology) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia¹.

The constant use of pesticides in agriculture has brought an interest for the search of natural products and production systems that cause less impact on man and the environment. Plants present a great diversity of substances in their composition and, oftentimes, these can present fungicide or fungistatic potential, and are being studied for the synthesis of new fungicides as well as for the induction of plant resistance, or, still, to be used directly by the farmer in the form of plant extracts on the crops. Considering that *S. sclerotiorum* is one of the most important pathogens in soybeans and other crops, this study analyzed the effect of vegetable oils and water extracts on the fungus mycelial growth. Concentrations of 25, 50, 75 and 100 ppm of the active ingredient azadiractine of *Azadirachta indica* oil were studied in association with the doses of 0, 1/3, 1/6, 1/8 and 1/10 of *Pongamia glabra* oil. The doses of *P. glabra* were obtained in relation to the volume of *A. indica* oil used to obtain the concentrations 25, 50, 75 and 100 ppm of *A. indica*. The trial with vegetable water extracts used the following plants: Peruvian pepper tree (*Schinus molle* L.), goatweed (*Ageratum conyzoides* L.), holy basil (*Ocimum* spp. L.), absinth wormwood (*Artemisia absinthium* L.), jamun (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), common rue (*Ruta graveolens* L.), cassava (*Manihot esculenta* Crantz), white cedar (*Melia azedarach* L.) e matico (*Piper aduncum* L.). The vegetable extracts were incorporated to PDA at the concentration of 30%. The plant parts analyzed were the leaves, with the exception of the pepper, which, besides the leaves, the fruit was also tested. The control treatments were non amended PDA as a negative control and the fungicide procimidone at 10 ppm active ingredient as a positive control. The experimental design was completely randomized, with three repetitions (test of vegetable oils) and 5 repetitions (test of vegetable water extracts). The treatments were added after autoclaving the medium PDA, at low temperature. Subsequent to media solidification 6-mm diameter mycelial disks were inoculated on the center of the Petri plates and incubated at $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ and 12 hours lighting for 48 hours. Evaluations started 24 hours after inoculation and lasted for 48 hours, when the negative control treatment had taken the whole plate surface. Mycelial growth inhibition percentage was calculated. The results indicated that greater mycelial growth inhibition was directly proportional to increasing concentration of *A. indica* and *P. glabra*. The interaction between *A. indica* and *P. glabra* was significant and the dose of 1/3 *P. glabra* was the most effective, with 65% inhibition. No dosage inhibited 100% of the mycelial growth as the fungicide. The water extract of the fruit of *Piper aduncum* was the most promising for the reduction of mycelial growth, with 43% inhibition.

Keywords: *S. sclerotiorum*, water extracts and vegetable oils, mycelial growth.

¹ Supervisor: Prof. Dr. Fernando César Juliatti – UFU

3 INTRODUÇÃO

A agricultura orgânica vem aumentando consideravelmente nos últimos anos, isto se deve ao crescimento da consciência ecológica e a busca por alimentos mais saudáveis. O Brasil possui área cultivada estimada de 800.000 ha com agropecuária orgânica e cerca de 15.000 produtores. A região centro-oeste detém 65% da área total com agropecuária orgânica, exceto área com extrativismo, seguida da região sul (15%), sudeste (10%), nordeste (9%) e norte (1%) (DIAS, 2008).

Os principais alimentos orgânicos produzidos no Brasil são representados pela soja que desponta com 31%, seguida de hortaliças (27%) e café (25%). A maior área plantada é com frutas (26%), depois cana (23%) e palmito (18%) (AMBIENTE BRASIL, 2008). A grande expansão da área de soja orgânica se deve à crescente demanda por esse produto, principalmente pelo mercado japonês e europeu. (ORMOND et al. 2002).

O controle das doenças que afetam a cultura da soja é freqüentemente realizado com o uso de fungicidas. O uso de fungicidas é proibido nos processos orgânicos de produção e devem ser substituídos por produtos alternativos, conforme as instituições certificadoras preconizam. Os defensivos agrícolas podem causar sérios riscos à saúde humana e contaminação do meio ambiente, além dos problemas de resistência a fitopatógenos.

Nesse sentido, é necessária a busca por métodos alternativos de controle de doenças que causem menos impacto ao meio ambiente e seja eficiente no manejo de doenças. Muitas plantas, por apresentarem uma diversidade de substâncias em sua composição com potencial fungicida ou fungistático, devem ser estudadas para síntese de novos fungicidas, como também na indução de resistência às plantas, ou ainda, serem utilizadas diretamente pelo produtor com a aplicação do extrato da planta cultivada.

A podridão branca da soja, a qual está preocupando os sojicultores, apresenta escassos estudos de métodos alternativos de controle, tanto “*in vitro*” quanto “*in vivo*”. Desta forma, este trabalho objetivou estudar o efeito dos óleos de *Azadirachta indica* e *Pongamia glabra* e extratos de plantas sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

O nim (*Azadirachta indica* A. Juss) é uma planta pertencente à família Meliaceae, originária da Índia. Do ponto de vista químico, uma característica comum às espécies desta família é a presença de triterpenos oxigenados, conhecidos como meliacinas. A azadiractina é o principal composto da planta, entretanto, outros compostos como triterpenóides, geduninas, ninbinm e liminóides estão presentes (NEVES et al., 2003).

Pongamia glabra pertencente à família Papilionaceae, é uma árvore conhecida comumente como karanja na Índia. A planta é usada na medicina em várias finalidades, entre elas, como ação anti-helmíntica, em tumores, úlcera e reumatismo (NIRMAL et al., 2006). De acordo com Neves (informação pessoal), *Pongamia glabra* associada à *Azadirachta indica* atua como sinergismo, aumentando a eficiência do nim. Como revisado por NIRMAL et al. (2006), *Pongamia glabra* apresenta vários componentes na sua composição química, entre eles estão: pongamol, pongaglabrone, pongapin, β -sisterol, pongaglabol, pongachromene, além de flavonóides e taninos (MANDAL et al., 1984).

Segundo Neves et al. (2003), *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum* spp. demonstraram sensibilidade aos extratos de *A. indica*. Pasini et al. (1997) controlaram o oídio da roseira utilizando extrato de nim FU-3, a 0,5%, com pulverizações semanais a partir do aparecimento dos primeiros sintomas da doença. O resultado foi semelhante ao obtido com o fungicida utilizado. Mello et al. (2005) verificaram que o óleo de nim nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2% reduziram o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, quando comparado a testemunha.

Sindhan et al. (1999) testaram o extrato de folhas de nim, produzido com folhas frescas moídas em água na proporção de 1:1 (p/v), para o controle do oídio da ervilha em casa de vegetação. O controle mostrou-se eficiente, quando aplicado nas concentrações de 10, 20 e 30% no início do surgimento dos sintomas. Carneiro (2003) avaliou o efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. Os extratos de folhas de nim não foram eficientes no controle do oídio do tomateiro, enquanto que o óleo emulsionável de nim controlou a doença, mesmo nas concentrações menores, e foi similar ao fungicida utilizado como controle.

Extratos aquosos de *Azadirachta indica* e *Eucalyptus citriodora* foram estudados sobre os fungos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. A inibição máxima para *M. phaseolina* foi de 72,7%, na concentração de 50% do extrato de *A. indica*, e 54,4% para *E. citriodora*. Para *S. rolfsii*, a concentração de 40% de *A. indica* inibiu em 83%, enquanto que de *E. citriodora* inibiu 39,4% (Barbosa et al., 2007).

Pignoni; Carneiro (2005) avaliaram a severidade da antracnose do feijoeiro e da pinta preta do tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação, em aplicações preventivas e curativas. A severidade da antracnose no feijoeiro não foi afetada pelo óleo de nim, mas a da pinta preta no tomateiro foi menor, quando aspergido a 1% 2 horas antes da inoculação. Almeida et al. (2004) estudaram *in vitro* extratos de folhas e óleos essenciais contra o fungo *Diaporthe citri* e verificaram que o óleo de nim foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo.

Pontes et al. (2006) estudaram o efeito da incorporação de folhas secas e frescas de *A. indica* ao solo sobre a murcha bacteriana do tomateiro. Os resultados demonstraram efeito positivo no controle da murcha bacteriana, destacando-se as dosagens de 60, 80 e 100 g.l⁻¹, e o período de incorporação de 30 dias.

O óleo de sementes de nim tem sido testado com sucesso por alguns autores para o controle de fitopatógenos (Carneiro, 2002), e sua não eficiência, em relação ao extrato de folhas, deve-se provavelmente à presença da azadiractina nas sementes (MARTINEZ, 2002). Segundo Martinez (2002), alguns fatores podem dificultar a comparação de resultados obtidos por diferentes autores, como o uso de folhas frescas ou secas na produção dos extratos, o solvente utilizado e a concentração dos extratos, além de possíveis diferenças no conteúdo dos compostos biologicamente ativos encontrados nas folhas, em função da variação genética entre árvores ou da região geográfica de coleta do material, fato este já comprovado no caso da azadiractina. Segundo Castro et al. (2001), fatores fisiológicos, genéticos e ecológicos influenciam na produção de metabólitos secundários das plantas medicinais.

Fagan et al. (1998) observaram que o controle do patógeno *S. rolfsii*, em condições “*in vivo*”, é eficaz com a utilização de *Cymbopogon citratus*. A utilização de cobertura do solo com folhas da planta mostrou-se eficiente no controle do patógeno em plantas de feijão cultivadas em casa de vegetação, sendo que, aos 30 dias da semeadura, não foram constatadas lesões no colo das plantas, ao contrário da testemunha. Lopes et al. (2003) avaliaram extratos aquosos de folhas e sementes de mucuna preta sobre o crescimento micelial de *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*

e *Sclerotium rolfsii*. Os resultados demonstraram que os fungos tiveram o seu crescimento micelial significativamente inibido.

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), a 10%, resultou em inibição total do crescimento micelial de *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, enquanto que *Sclerotium rolfsii* apresentou-se menos sensível. Em condições de campo, foi observado uma redução na incidência de *F. solani* e *R. solani* nas parcelas tratadas com suspensão aquosa do óleo, a 1 e 5%, no sulco de plantio e em tratamento de sementes, a 0,5% (VALARINI et al. 1995). Cruz et al. (2007) avaliaram *in vivo* os extratos aquosos de *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita* e *Origanum vulgare* sobre o fungo *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. Os extratos brutos aquosos das plantas *O. basilicum*, *M. piperita* e *O. vulgare* foram mais efetivos no controle de *S. rolfsii*.

Piper aduncum, conhecida vulgarmente como pimenta longa é uma planta aromática da família Piperaceae, nativa da região Amazônica (SILVA, 2004). Como revisado por Navickiene et al. (2006), *Piper aduncum* apresenta na sua composição monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e fenilpropanóides. O óleo desta piperácea é rico em dilapiol, com comprovada ação inibitória contra fitopatógenos (BASTOS, 1997; BASTOS; SILVA, 2002), com a vantagem de ser um produto biodegradável (SILVA, 2004).

Barbosa et al. (2007) estudaram os extratos de *Piper aduncum* e *Cymbopogon citratus* sobre os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Dothiorella* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides* e concluíram que o extrato de *Piper aduncum* foi o mais promissor sobre a redução do crescimento micelial. O efeito do óleo essencial de *Piper aduncum* foi estudado em tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (LOBATO et al. 2007). Os autores observaram que o óleo, na concentração de 0,5%, apresentou melhor custo/benefício e não foi fitotóxico à germinação das sementes, além de reduzir os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn e *Macrophomina phaseolina* associados às sementes.

Extratos brutos das folhas de capim-cidreira e arruda, incorporadas na concentração de 25% em BDA e autoclavados, apresentaram inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* de 9,5 e 23,5%, respectivamente (SALVADORI et al. 2003).

O efeito do extrato bruto aquoso de raízes de gengibre (*Zingiber officinalis*), nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20 e 25%, foi estudado sobre o patógeno *S. sclerotiorum*

obtido de plantas de alface. Os resultados demonstraram que a concentração do extrato, a 25%, inibiu em 92,5% o crescimento micelial e 30% a inibição de escleródios. A massa de gengibre colocada na base de cada planta de alface proporcionou menor incidência da doença, quando comparada a pulverização do extrato bruto aquoso de gengibre, acibenzolar-S-metil e água. A ativação de mecanismos de defesa das plantas como indução de fitoalexinas por gengibre também foi verificada (Rodrigues et al. 2007). Singh; Singh (1984) avaliaram as plantas *Allium sativum*, *Allium cepae*, *Azadirachta indica*, *Ocimum sanctum*, *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* e *Cicer arietinum* sobre a germinação de ascósporos de *S. sclerotiorum* e verificaram que o extrato de folhas de *Azadirachta indica* proporcionou 18% de inibição, enquanto que o extrato do rizoma de *Zingiber officinale* inibiu 100%.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas, LAMIP, da Universidade Federal de Uberlândia, MG.

5.1 Obtenção do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*

O isolado foi obtido de escleródios formados no interior da haste de soja, provenientes de campos comerciais de Jataí-GO. Os escleródios foram previamente desinfestados em álcool 50% e hipoclorito de sódio a 0,5%, diluídos em água destilada estéril, nos tempos de 30 e 60 segundos, respectivamente. Em seguida, os escleródios foram enxaguados em água destilada estéril para serem transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. As placas de Petri foram incubadas a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica e formação de escleródios. Os reisolamentos para obtenção de discos de micélio para ensaios posteriores foram sempre realizados a partir de escleródios.

5.2 Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com óleo de *Azadirachta indica* associado ao óleo de *Pongamia glabra*

Para estudar o efeito de *A. indica* e *P. glabra* sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, concentrações de 25, 50, 75 e 100 ppm de *Azadirachta indica*, foram associadas as concentrações de 0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 de *P. glabra*, que foram obtidas sobre o volume do óleo de *A. indica* utilizado para obter as concentrações de 25, 50, 75 e 100 ppm de *A. indica*. Desta forma, as doses de *P. glabra* associadas a *A. indica* foram: 0 (ausência de *P. glabra* para todas as concentrações de *A. indica*), 1/3 (25 ppm de *A. indica* - 67 μl de *P. glabra*, 50 ppm de *A. indica* - 133 μl de *P. glabra*, 75 ppm de *A. indica* - 200 μl de *P. glabra* e 100 ppm de *A. indica* - 267 μl de *P. glabra*), 1/6 (25 ppm de *A. indica* - 33 μl de *P. glabra*, 50 ppm de *A. indica* - 67 μl de *P. glabra*, 75 ppm de *A. indica* - 100 μl de *P. glabra* e 100 ppm de *A. indica* - 133 μl de *P. glabra*), 1/8 (25 ppm de *A. indica* - 25 μl de *P. glabra*, 50 ppm de *A. indica* - 50 μl de *P. glabra*, 75 ppm de *A. indica* - 75 μl de *P. glabra* e 100 ppm de *A. indica* - 100 μl de *P. glabra*) e 1/10 (25 ppm de *A. indica* - 20 μl de *P. glabra*, 50 ppm de *A. indica* - 40 μl de *P. glabra*, 75 ppm de *A. indica* - 60 μl de *P. glabra* e 100 ppm de *A. indica* - 80 μl de *P.*

glabra). As concentrações de *P. glabra* foram calculadas sobre o volume do óleo utilizado para obter as concentrações de *A. indica*. Como controle negativo, utilizou-se a testemunha (ausência de *A. indica* e *P. glabra*) e fungicida procimidone, na concentração de 10 ppm do ingrediente ativo como controle positivo.

Decorrida a esterilização do meio BDA, as concentrações de *A. indica* e *P. glabra* foram adicionadas ao meio de cultura, o qual a temperatura estava em torno de 45°C, como adjuvante utilizou-se Tween 20, a 0,5 %, para melhor homogeneização dos óleos. Após a solidificação do meio, discos de micélio de 6 mm de diâmetro com 7 dias de idade foram depositados no centro das placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram incubadas a temperatura de 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas durante 2 dias.

5.3 Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com extratos aquosos de plantas

As dez plantas estudadas foram coletadas nas cidades de Uberlândia-MG e Goiatuba-GO, sendo elas: aroeirinha (*Schinus molle* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), alfafaca (*Ocimum* spp. L.), losna (*Artemisia absinthium* L.), jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), arruda (*Ruta graveolens* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e pimenta longa (*Piper aduncum* L.) (FIGURA 1). As partes das plantas estudadas foram as folhas, com exceção de pimenta longa, que além da folha estudou-se o fruto. Após a coleta, as folhas e frutos foram lavados em água corrente e desinfestados em hipoclorito de sódio, a 0,5%, durante 30 minutos, a fim de eliminar microrganismos presentes na superfície das mesmas. Decorrido este período, as folhas e frutos foram lavados com tríplice lavagem em água corrente, para retirada do excesso de hipoclorito, e secos em papel toalha por 24 horas. (FIGURA 2). Em seguida, os materiais foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa, com circulação de ar, a 45°C, por 96 horas para folhas e 120 horas para frutos. Após a secagem, o material foi moído em moinho de facas.

O extrato aquoso foi obtido deixando-se o material moído imerso em água destilada e esterilizada por 12 horas, na dosagem de 100 g.l⁻¹, para liberação das substâncias para a água. Em seguida, procedeu-se a filtração dos extratos em gaze estéril.

Discos de micélio de 6 mm de diâmetro e com 8 dias de idade foram depositados no centro das placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA e os extratos na

concentração de 30%, além dos tratamentos testemunha e fungicida procimidone na concentração de 10 ppm do ingrediente ativo. As placas foram incubadas, a temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas durante 2 dias.

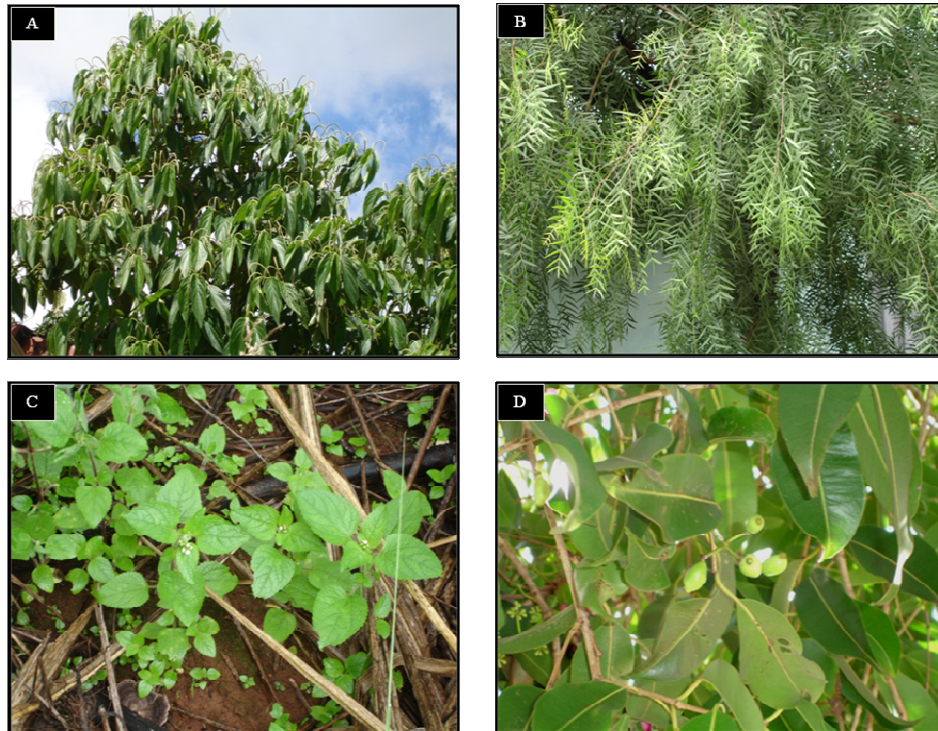


FIGURA 1 – Algumas plantas utilizadas na obtenção de extratos: (A) pimenta longa, (B) aroeirinha, (C) mentrasto e (D) jambolão. UFU, Uberlândia, 2008.

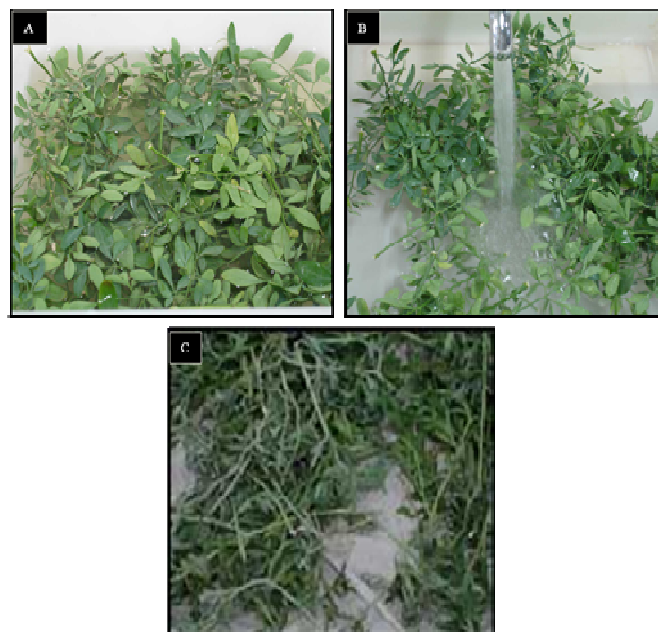


FIGURA 2 – Desinfestação (A) e lavagem (B) da planta arruda e secagem sobre papel toalha (C) da planta losna. UFU, Uberlândia, 2008.

5.4 Avaliações

As avaliações consistiram em medições diárias do diâmetro das colônias, através de régua, iniciadas 24 horas após a incubação e encerradas 48 horas após, quando as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram toda a superfície do meio. Através dos dados obtidos, determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) com base na fórmula abaixo:

$$\text{PICM} = \frac{\text{diâmetro do tratamento testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro do tratamento testemunha}} \times 100$$

5.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental referente ao ensaio 5.2 foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 (concentrações de *A. indica*) x 5 (concentrações de *P. glabra*) + 2 (controle negativo e positivo), com 3 repetições. No ensaio 5.3, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado constituído de 11 tratamentos, com 5 repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de F a 1% de significância, comparando-se as médias, pelo teste de Scoot-Knot para o ensaio 5.3 e aplicando-se regressão para o ensaio 5.2, por meio do software SISVAR (Ferreira, 2000).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Efeito do óleo de *Azadirachta indica* associado ao óleo de *Pongamia glabra* na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

O efeito da interação do óleo de *A. indica* e *P. glabra* foi significativo (Anexo 1A) sobre a inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, sendo a maior porcentagem de inibição proporcional ao aumento das concentrações de *A. indica* e *P. glabra* (FIGURA 3). O efeito dos tratamentos adicionais, testemunha “controle negativo” e fungicida procimidone “controle positivo”, foi significativo (Anexo 2A), diferenciando dos efeitos dos demais tratamentos, sendo que a inibição do crescimento micelial para o tratamento fungicida foi de 100%, enquanto que, para testemunha, não houve inibição micelial (TABELA 1 e FIGURA 4).

As inibições do crescimento micelial em função das concentrações do óleo de *A. indica* e a da interação *A. indica* e *P. glabra* foram melhores ajustadas ao modelo linear, com exceção da interação *A. indica* com 1/3 de *P. glabra* que o melhor modelo foi o quadrático (FIGURA 3). A concentração de 100 ppm de *A. indica* com 1/3 de *P. glabra* inibiu em 63% o crescimento micelial, concordando com a informação de Neves (informação pessoal) que há efeito sinérgico entre *A. indica* e *P. glabra*. Apesar de *A. indica* e *P. glabra* reduzirem o crescimento de *S. sclerotiorum*, o fungicida procimidone foi superior a todas as concentrações estudadas com 100% de inibição, enquanto que em relação a testemunha todas as interações foram superiores.

O óleo de *A. indica* possui em sua composição vários componentes, entre eles os terpenos e os flavonóides (NEVES et al, 2003). Os terpenos e os flavonóides são dotados de atividade antimicrobiana e atuam na defesa química das plantas contra fungos e bactérias (CASTRO et al., 2001). Segundo Silva (2001), a reunião de vários componentes na composição de óleos essenciais pode atuar de forma sinérgica e apresentar uma ampla gama de atuação fungicida ou fungistática.

Taninos e flavonóides também estão presentes na composição de *Pongamia glabra* (MANDAL; MAJUMDAR, 1984). Os taninos possuem ação antimicrobiana e são encontrados em folhas de espécies arbóreas e aumentam de concentração com a idade das plantas, esta é a razão por que as folhas mais novas possuem maior suscetibilidade às doenças (CASTRO et al. 2001).

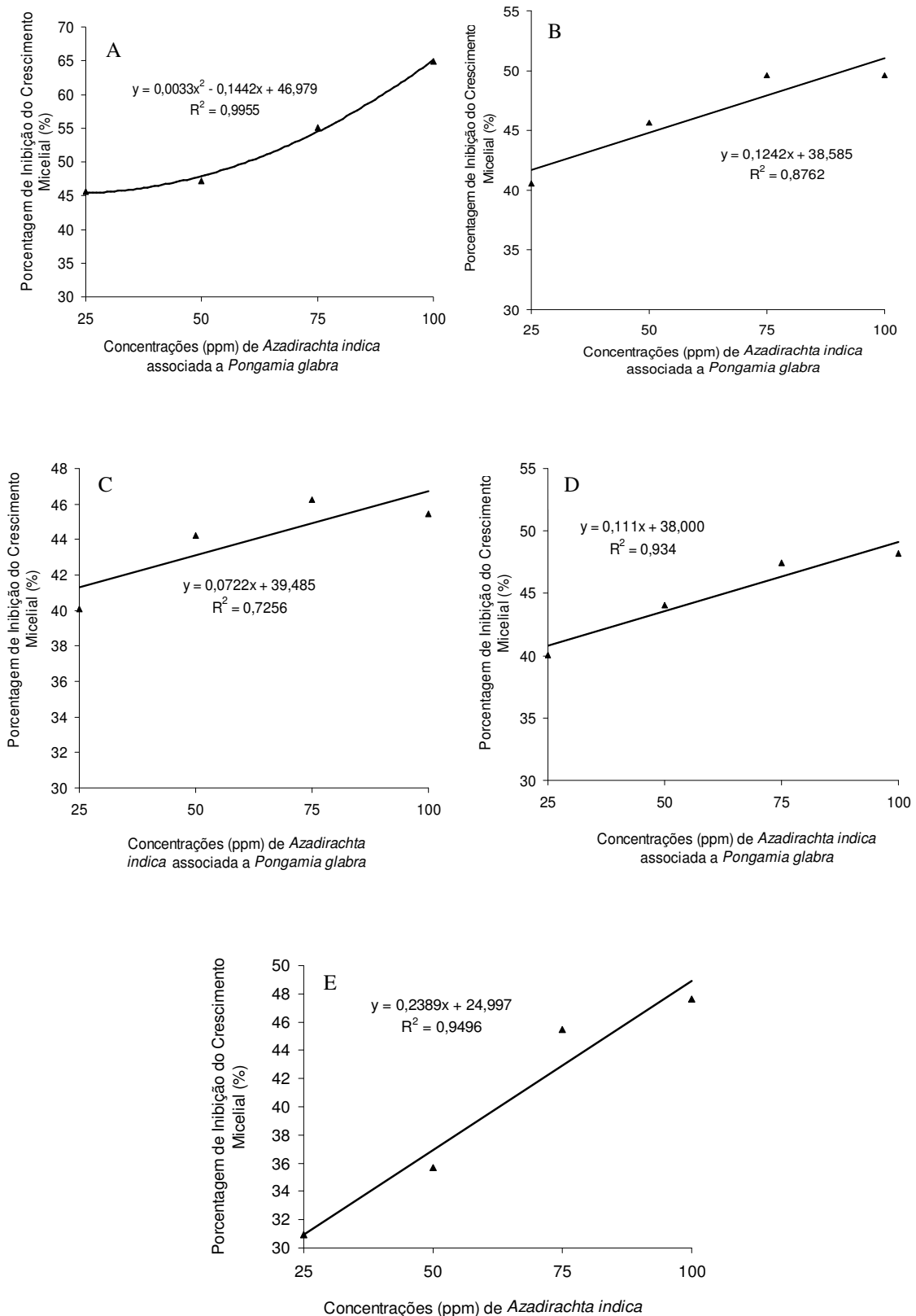


FIGURA 3 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em função das concentrações (ppm) de *Azadirachta indica* e *Pongamia glabra*. (A) 1/3 de *P. glabra*, (B) 1/6 de *P. glabra*, (C) 1/8 de *P. glabra*, (D) 1/10 de *P. glabra* e (E) *A. indica*. UFU, Uberlândia, 2008.

TABELA 1 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com óleo de *Azadirachta indica* e *Pongamia glabra*, em comparação aos tratamentos adicionais (testemunha e fungicida). UFU, Uberlândia, 2008.

Tratamentos	PICM
Testemunha	0,0 g
Procimidone	100,0 a
25 ppm <i>A. indica</i>	31,0 f
25 ppm <i>A. indica</i> com 1/3 <i>P. glabra</i>	45,6 d
25 ppm <i>A. indica</i> com 1/6 <i>P. glabra</i>	40,7 e
25 ppm <i>A. indica</i> com 1/8 <i>P. glabra</i>	40,1 e
25 ppm <i>A. indica</i> com 1/10 <i>P. glabra</i>	40,1 e
50 ppm <i>A. indica</i>	35,7 f
50 ppm <i>A. indica</i> com 1/3 <i>P. glabra</i>	47,2 d
50 ppm <i>A. indica</i> com 1/6 <i>P. glabra</i>	45,6 d
50 ppm <i>A. indica</i> com 1/8 <i>P. glabra</i>	44,2 d
50 ppm <i>A. indica</i> com 1/10 <i>P. glabra</i>	44,0 d
75 ppm <i>A. indica</i>	45,4 d
75 ppm <i>A. indica</i> com 1/3 <i>P. glabra</i>	55,2 c
75 ppm <i>A. indica</i> com 1/6 <i>P. glabra</i>	49,6 d
75 ppm <i>A. indica</i> com 1/8 <i>P. glabra</i>	46,2 d
75 ppm <i>A. indica</i> com 1/10 <i>P. glabra</i>	48,2 d
100 ppm <i>A. indica</i>	53,6 c
100 ppm <i>A. indica</i> com 1/3 <i>P. glabra</i>	63,1 b
100 ppm <i>A. indica</i> com 1/6 <i>P. glabra</i>	49,6 d
100 ppm <i>A. indica</i> com 1/8 <i>P. glabra</i>	45,4 d
100 ppm <i>A. indica</i> com 1/10 <i>P. glabra</i>	48,2 d
CV (%)	7,54

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 1% de probabilidade.

Carneiro (2003) estudou o efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. Os resultados demonstraram que o controle da doença foi superior com óleo emulsionável do que com extratos de folhas, mesmo nas concentrações menores, e foi similar ao fungicida utilizado como controle. O óleo de nim tem sido testado com sucesso por alguns autores para o controle de fitopatógenos (Carneiro, 2002), e sua não eficiência em relação ao extrato de folhas deve-se provavelmente à presença da azadiractina nas sementes (MARTINEZ, 2002).

Sindhan et al. (1999) testaram o extrato de folhas de nim, produzido com folhas frescas moídas em água, na proporção de 1:1 (p/v), para o controle do oídio da ervilha em casa de vegetação. O controle mostrou-se eficiente, quando aplicado nas concentrações de 10, 20 e 30% no início do surgimento dos sintomas. Mello et al.

(2005) verificaram que o óleo de nim, nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2%, reduziu o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* quando comparado a testemunha.

Os resultados obtidos demonstraram que os óleos de *A. indica* e *P. glabra* apresentaram ação fungistática contra *S. sclerotiorum*. Isto sugere que novas pesquisas devem ser realizadas no controle de fitopatógenos em casa-de-vegetação e campo, para que se possa recomendar a utilização destes óleos em um sistema orgânico de produção ou ao manejo integrado da doença.

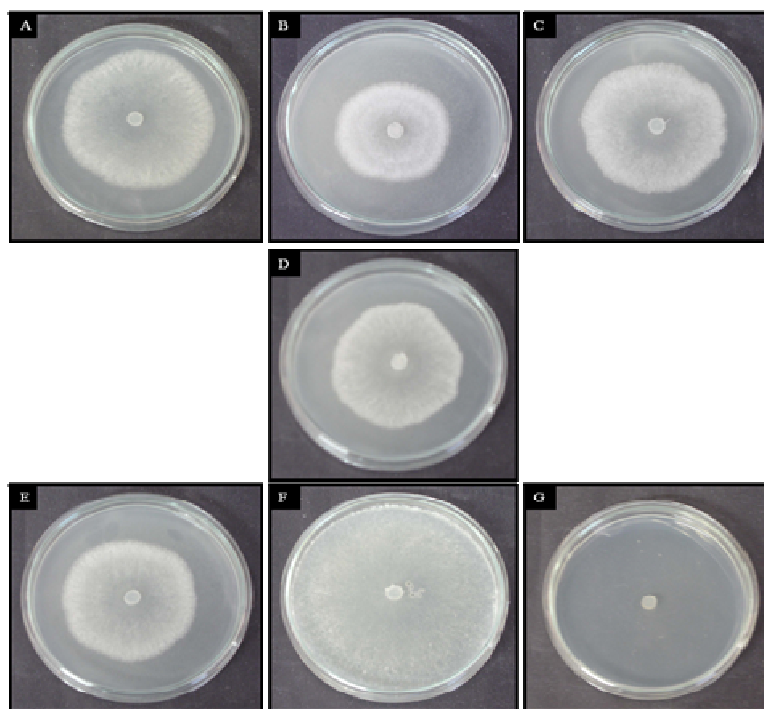


FIGURA 4 – Crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em placas de Petri contendo os tratamentos, (A) 100 ppm de *Azadirachta indica*, (B) 100 ppm de *A. indica* com 1/3 de *Pongamia glabra*, (C) 100 ppm de *A. indica* com 1/6 de *P. glabra*, (D) 100 ppm de *A. indica* com 1/8 de *P. glabra*, (E) 100 ppm de *A. indica* com 1/10 de *P. glabra*, (F) testemunha (sem tratamento) e (G) fungicida procimidone. UFU, Uberlândia, 2008.

Carneiro (2003) estudou o efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. Os resultados demonstraram que o controle da doença foi superior com óleo emulsionável do que com extratos de folhas, mesmo nas concentrações menores, e foi similar ao fungicida utilizado como controle. O óleo de nim tem sido testado com sucesso por alguns autores para o controle de fitopatógenos (Carneiro,

2002), e sua não eficiência em relação ao extrato de folhas deve-se provavelmente à presença da azadiractina nas sementes (MARTINEZ, 2002).

Sindhan et al. (1999) testaram o extrato de folhas de nim, produzido com folhas frescas moídas em água, na proporção de 1:1 (p/v), para o controle do oídio da ervilha em casa de vegetação. O controle mostrou-se eficiente, quando aplicado nas concentrações de 10, 20 e 30% no início do surgimento dos sintomas. Mello et al. (2005) verificaram que o óleo de nim, nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2%, reduziu o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* quando comparado a testemunha.

Os resultados obtidos demonstraram que os óleos de *A. indica* e *P. glabra* apresentaram ação fungistática contra *S. sclerotiorum*. Isto sugere que novas pesquisas devem ser realizadas no controle de fitopatógenos em casa-de-vegetação e campo, para que se possa recomendar a utilização destes óleos em um sistema orgânico de produção ou ao manejo integrado da doença.

6.2 Efeito dos extratos aquosos de plantas sobre a inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

Houve diferença significativa entre o efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (Anexo 3A). Dos 11 extratos aquosos avaliados, nenhum apresentou efeito inibitório igual ao fungicida procimidone, inibindo 100% do crescimento micelial (FIGURA 5).

De modo geral, todos os extratos aquosos apresentaram pouco efeito sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, que variou de 2,38 a 42,86% de inibição (FIGURA 5). O extrato aquoso proveniente de frutos de pimenta longa foi o que mais se destacou, com 42,86% de inibição. O fato do extrato aquoso do fruto de pimenta longa ter resultado em maior inibição do crescimento micelial, em comparação ao extrato da folha, pode ser explicado devido a maior predominância de monoterpenos nos frutos do que nas folhas (NAVICKIENE, 2006).

Barbosa et al. (2007) também obtiveram resultados satisfatórios com o extrato de *Piper aduncum* quando comparado a *Cymbopogon citratus*, sobre os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Dothiorella* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides*. Silva; Bastos (2007) também obtiveram ação inibitória com óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre o crescimento micelial dos fungos *Crinipellis perniciosus*, *Phytophthora*

palmivora e *Phytophthora capsici*. Os mesmos óleos também reduziram a germinação de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*.

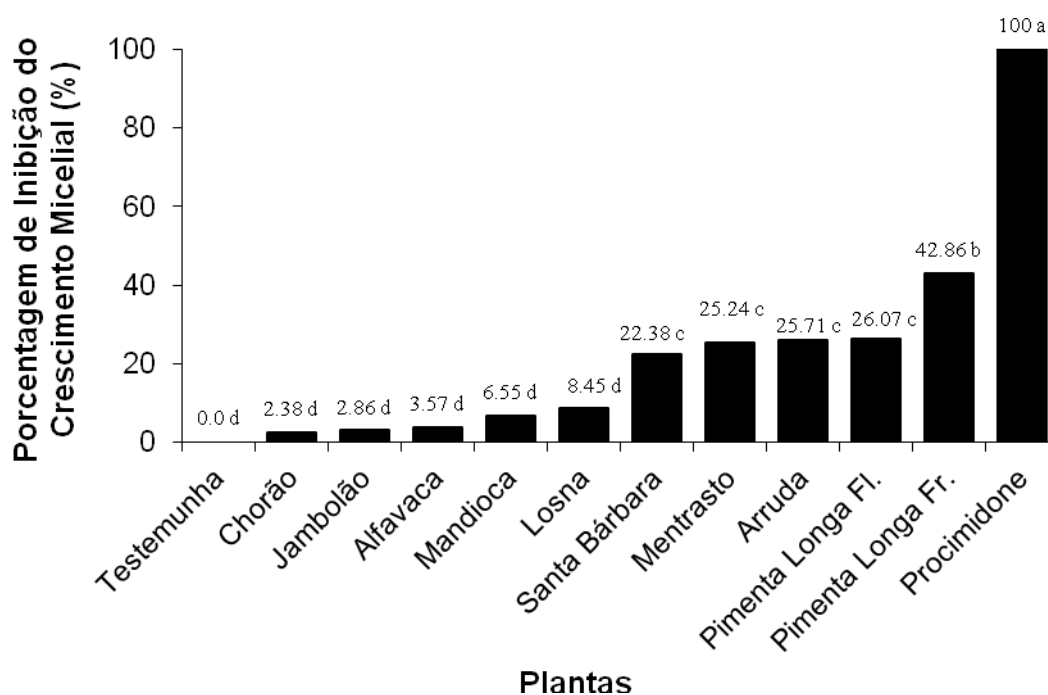


FIGURA 5 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em função dos extratos aquosos de plantas. Médias seguidas de letras distintas diferem o efeito dos extratos vegetais pelo teste de Tukey a 1% de significância. UFU, Uberlândia, 2008.

A capacidade do extrato da planta arruda em reduzir o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* está de acordo com os resultados de Salvadori et al. (2003) que obtiveram 23,5% de redução sobre o crescimento de *C. gloeosporioides*. A arruda apresenta ação antimicrobiana, devido a presença de terpenos e cumarinas em sua composição (CASTRO et al., 2001).

Os resultados obtidos com extrato de mentrasto discordam dos resultados obtidos por Fiori et al. (2000) que obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial e germinação de esporos do patógeno *Didymella bryoniae*. Isto pode ser explicado devido os patógenos estudados serem diferentes e aos vários fatores que influenciam nos princípios ativos das plantas, como fator genético, condições de cultivo, colheita e processamento do material (CASTRO, 2001). Portanto, sugere-se que cuidados durante a colheita como época do ano, hora do dia, estágio de desenvolvimento, parte botânica e no processamento do material sejam tomados.

Rodrigues et al. (2007) obtiveram bons resultados no controle do mofo branco causado por *S. sclerotiorum* em alface com rizoma de gengibre (*Zingiber officinalis*), tanto por atividade antimicrobiana direta, quanto pela ativação de mecanismos de defesa das plantas. O extrato do rizoma de *Zingiber officinale* inibiu 100% a germinação de ascospores de *S. sclerotiorum* (SINGH; SINGH, 1984). Soylu et al. (2007) verificaram redução no crescimento micelial de *S. sclerotiorum* com óleos essenciais de *Origanum syriacum* var. *bevanii* e *Foeniculum vulgare*, ressaltando a possibilidade de serem usados no controle alternativo de doenças.

Apesar da planta *Piper aduncum* ter apresentado efeito inibitório inferior a 50% do fitopatógeno *S. sclerotiorum*, carece que novos estudos sejam realizados utilizando outras formas de extração do extrato ou na indução de resistência de plantas a fitopatógenos, uma vez que o óleo de *Piper aduncum* apresenta a vantagem de ser um produto biodegradável.

7 CONCLUSÕES

A eficiência no controle de *S. sclerotiorum* foi diretamente proporcional ao aumento das doses de *A. indica* e *P. glabra*.

Concentrações de *P. glabra* associada a *A. indica* proporcionaram melhor efeito na inibição do crescimento micelial, demonstrando um efeito sinérgico.

A planta de *A. indica* e *P. glabra* apresentam potencial para demais pesquisas “*in vivo*” e, caso sejam satisfatórias, devem ser incorporadas em um sistema orgânico de produção para controle de *S. sclerotiorum*.

Novas pesquisas com a planta de *Piper aduncum* em casa-de-vegetação e campo devem ser estudadas no patossistema *Glycine max* e *S. sclerotiorum*, utilizando o óleo desta piperácea ou outras formas de extração do extrato aquoso para aumentar a eficiência de controle.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, T.F.; PEREIRA, C.F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R.C. Efeito do óleo de nim e extratos vegetais de *Azadirachta indica*, *Cymbopogon citratus* e *Zingiber officinale* no crescimento micelial in vitro de *Diaporthe citri*. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, 27., 2004, Campinas. **Resumos...** Campinas: Grupo Paulista de Fitopatologia, 2004. p. 116.

AMBIENTE BRASIL. **Produto orgânico.** Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?>>. Acesso em: 15 jun. 2008.

BARBOSA, A.G.; TERAPO, A.M.F.; CÂMARA, C.A.G. Ação dos extratos de *Piper aduncum* e *Cymbopogon citratus* sobre o crescimento micelial de fungos pós-colheita de manga. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. **Resumos...** Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 150.

BARBOSA, K.A.G; CORRADINI, H.T.; GARCIA, R.A. Efeito antifúngico de extratos obtidos a partir de *Azadirachta indica* e *Eucalyptus citriodora* em *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 2007, Campinas. **Resumos...** Campinas: Embrapa Meio Ambiente, 2007. p. 010.

BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciososa* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p.441-443, 1997.

BASTOS, C.N.; SILVA, D.M.H. Inibição micelial de fungos fitopatogênicos através de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *P. marginatum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 35., 2002, Recife. **Resumos...** Recife: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2002.

CARNEIRO, S.M. de T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio o tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S.M. de T.P.G. Ação do nim sobre fungos fitopatogênicos. In: MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção.** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. p. 59-64.

CASTRO, H.G. de; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H. da; MOSQUIM, P.R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários.** Viçosa, MG, 2001, 101 p.

CRUZ, M.E. da S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, E. da N.; SUZUKI, F.F.; ORITA, M.N. Avaliação “in vivo” de extratos aquosos de *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita* e *Origanum vulgare* sobre o fungo *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. Disponível em: <<http://www.cca.uem.br/anu6700.htm>>. Acesso em: 15 de out. 2007.

DIAS, R.P. **Pro-orgânico**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/portal/page?>>. Acesso em: 15 maio 2008.

FAGAN, C.; TAGAMI, O.K.; INOUE, M.H.; CRUZ, M.E.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Avaliação da atividade antifúngica de capim limão em *Sclerotium rolfsii* em casa de vegetação. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, CNPq, UEM, UEL, UEPG, UNIOESTE, 7., 1998, Maringá. **Anais...** Maringá: Encontro Anual de Iniciação Científica, CNPq, UEM, UEL, UEPG, UNIOESTE, 1998.

FERREIRA, F.A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2006.

FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 7-8, p. 483-487, 2000.

LOBATO, A.K.S. et al. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 915-917, 2007.

LOPES, E.A.; VIEIRA, B.S.; FERREIRA, P.A. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos através de extratos aquosos de folhas e sementes de mucuna preta. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2003. p. 353.

MANDAL, B.; MAJUMDAR, S.G.; MAITY, C.R. Chemical and nutritional evaluation of *Pongamia glabra* oil and *Acacia auriculaeformis*. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 61, n. 9, p. 1447-1449, 1084.

MARTINEZ, S.S. Composição do nim. In: MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. p. 23-30.

MELLO, A.F.S.; LOURENÇO, S.A. de; AMORIM, L. Alternative products in the “*in vitro*” inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Science Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 2, p. 179-183, 2005.

NAVICKIENE, H.M.D. et al. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 467-470, 2006.

NEVES, B.P. da; OLIVEIRA, I.P. de; MOHN, J.C. **Cultivo e Utilização do Nim Indiano**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003, 12 p. (Circular Técnica 62).

NIRMAL, S.A.; MALWADKAR, G.; LAWARE, R.B. Anthelmintic activity of *Pongamia glabra*. **Songklanakarín Journal of Science and Technology**, Hat Yai, v. 29, n. 3, p. 755-757, 2006.

ORMOND, J.G.P.; PAULA, S.R.L. de; FAVORET FILHO, P.; ROCHA, T.M. da. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n.15, p. 3-34, mar., 2002. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br/conhecimento/publicações/catalogo/setorial.asp>>. Acesso em: 05 abr. 2008.

PASINI, C.; D' AQUILA, F.; CURIR, P.; GULLINO, M.L. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. **Crop Protection**. Surrey, v. 16, n. 3, p. 251-256, 1997.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 68-72, 2005.

PONTES, N. de C.; MORAES, M.F.H.; BRINGEL, J.M.M.; KRONKA, A.Z.; CÂNDIDO, C.S. Efeito da incorporação de folhas secas e frescas de nim indiano (*Azadirachta indica*) ao solo sobre a murcha bacteriana em tomateiro. In: CONGRESSO PAULISTA FITOPATOLOGIA, 29., 2006, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2006. p. 9.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, Jaguaríuna, v. 33, n. 2, p. 124-128, 2007.

SALVADORI, R.K. et al. Atividade antifúngica dos extratos brutos de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Ruta graveolens* e *Curcuma longa*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2003. p. 360-361.

SILVA, A.R. **Tudo sobre aromaterapia: como usá-la para melhorar sua saúde física, emocional e financeira.** 2 ed. São Paulo: Editora Roca Ltda, 2001.

SILVA, D.M.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, M.H.L. **Tecnologias para o desenvolvimento agroindustrial de *Piper aduncum* L.** 2004. 78 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

SINDHAN, G.S.; HOODA, I.; PARASHAR, R.D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

SINGH, U.P.; SINGH, R.B. Differential responses of host and non-host substrata on germination of ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 110, p. 277-280, 1984.

SOYLU, S.; YIGITBAS, H.; SOYLY, E.M.; KURT, S. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 103, n. 4, p. 1021-1030, 2007.

VALARINI, P.J.; FRIGHETTO, R.T.S.; SPADOTTO, C.A. Potencial da erva medicinal *Cymbopogon citratus* no controle de fitopatógenos do feijoeiro e plantas daninhas em áreas irrigadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., 1995, Ilhéus. **Resumos...** Ilhéus: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 1995. p. 303.

ANEXOS

Anexo 1A – Análise de variância referente ao efeito das concentrações de *Azadirachta indica* e *Pongamia glabra* sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Concentrações	3	1247,60	415,87	74,15	0,0001**
Pongamia	4	1126,15	281,54	50,20	0,0001**
Concentrações *Pongamia	12	368,32	30,69	5,47	0,0001**
erro	40	224,34	5,61		
CV (%)	5,18				

**Significativo a 1% de significância, pelo teste de F.

Anexo 2A – Análise de variância referente ao efeito dos tratamentos adicionais testemunha e fungicida sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Concentrações	21	17535,93	835,04	69,12	0,0001**
Erro	44	531,60	12,082		
Total corrigido	65	18067,54			
CV (%)	7,54				

**Significativo a 1% de significância, pelo teste de F.

Anexo 3A – Análise de variância referentes ao efeito dos extratos aquosos de plantas sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Plantas	11	42785,60	3889,60	291,59	0,0001**
Erro	48	640,30	13,34		
CV (%)	16,47				

**Significativo a 1% de significância, pelo teste de F