



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

DAIANE CRISTINA MARTINS BARROS

**FUNGOS SAPRÓBIOS NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA*  
*SCLEROTIORUM* EM SOJA**

---

Londrina  
2014

DAIANE CRISTINA MARTINS BARROS

**FUNGOS SAPRÓBIOS NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA*  
*SCLEROTIORUM* EM SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de mestre.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca

**Co-Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Isabel Balbi-Peña

Londrina  
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

|       |   |
|-------|---|
| B277f | <p>Barros, Daiane Cristina Martins.<br/>Telenovela e leitura: reflexões sobre uma prática de análise semiótica no ensino médio/ Ana Paula Ferreira de Mendonça. – Londrina, 2013.<br/>57 f.: il.</p> <p>Orientador: Loredana Limoli.<br/>Tese (Doutorado em Estudos da Linguagem) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Letras e Ciências Humanas, Programa de Pós-Graduação em Estudos da Linguagem, 2013.<br/>Inclui bibliografia</p> <p>1. Fungos – Controle biológico – Teses. 2. Sclerotinia sclerotiorum – Teses. 3. Soja – Doenças e pragas – Controle – Teses. I. Fonseca, Inês Cristina Batista. II. Balbi-Peña, Maria Isabel. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.</p> |
|-------|---|

CDU 632.937:633.34

DAIANE CRISTINA MARTINS BARROS

**FUNGOS SAPRÓBIOS NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA*  
*SCLEROTIORUM* EM SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca  
UEL – Londrina – PR

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Isabel Balbi-Peña  
UEL – Londrina – PR

---

Pesquisadora. Dra. Cláudia Vieira Godoy  
Embrapa-Soja – Londrina – PR

---

Pesquisador. Dr. Marco Antonio Nogueira  
Embrapa-Soja – Londrina – PR

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Luzia Doretto Paccola Meirelles  
UEL – Londrina – PR

---

Pesquisadora. Dra. Claudine Dinali Santos  
Seixas  
Embrapa-Soja – Londrina – PR

Londrina, 18 de fevereiro de 2014.

À minha filha Julia, meu maior tesouro e o melhor presente recebido de Deus, minha motivação para ser melhor a cada dia e meu maior sonho realizado....

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde e fé para acreditar nos sonhos.

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Londrina e todos os professores pela oportunidade de cumprir esta importante etapa da minha vida e carreira.

A minha orientadora, professora Inês Cristina de Batista Fonseca, pela orientação, amizade e confiança. Por ter sido mais que orientadora... Irmã, mãe, amiga e exemplo profissional. Obrigada pelos conselhos, paciência e amizade.

A minha co-orientadora Maria Isabel Balbi Pena, por toda a ajuda, pela dedicação, excelentes correções e sugestões e disponibilidade para ajudar.

Ao laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja – Londrina, pela disponibilização de materiais indispensáveis para a realização do ensaio *in vivo*, especialmente ao funcionário e amigo Allan Misael Flausino e a Dra. Cláudia Vieira Godoy, por terem acreditado no meu trabalho e estarem sempre dispostos a ajudar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Ao meu amado esposo Eduardo, pelo apoio e pelo amor a mim sempre ofertados. Quanta coisa se passou e ainda estamos juntos aqui. Amo você!

A minha filha Julia, maior presente de Deus para mim. Motivo real da minha alegria, determinação e coragem. Filha, você faz meu mundo bem melhor, agradeço muito a Deus por ter me dado você... Te Amo incondicionalmente!!!!

Aos meus pais, Divino e Ivonete, pelo amor incondicional, amizade, força e compreensão. E por acreditarem sempre no meu melhor. Vocês são exemplos de vida pra mim.

Aos meus irmãos, Anderson, Deise e Alisson, mais que irmãos... Amigos e anjos na minha vida.

A minha avó Elvira (*in memorian*) pelo amor a mim ofertado e por ter sido mãe e amiga durante muitos anos. Sempre terá meu amor!!!!

As amigas Sheila e Amanda, sempre dispostas a me acolher e ajudar no que quer que seja. Obrigada pelo carinho, dedicação e confiança. Amo vocês demais.

A amiga Aline, que mesmo longe é sempre muito presente. Obrigada pelo amor, amizade e torcida. Sua sabedoria me inspira!

Aos colegas, Felipe, Gustavo, Arthur e Douglas, pela disposição para me ajudar sempre. Pelos conselhos, dicas e sugestões. Valeu mesmo!

A amiga Izabela Franzoni cuja ajuda, alegria e disposição foram cruciais nos últimos meses de trabalho. Valeu Bela! Um prazer imenso ter trabalhado com você!

Aos funcionários e amigos do departamento de agronomia da UEL, José Aparecido Rocha, Idael e seu Bié pela disponibilidade, colaboração e amizade.

A todos os colegas e amigos do laboratório de Fitopatologia da UEL, pelo companheirismo e por tornarem essa caminhada mais alegre. Valeu pela força.

A todos que não mencionei, mas que sabem da importância que representam em minha vida... MEU MUITO OBRIGADO!

*“Tem gente que está do mesmo lado que você mas deveria estar do lado de lá. Tem gente que machuca os outros. Tem gente que não sabe amar... Se você quiser alguém em quem confiar: confie em si mesmo. Quem acredita sempre alcança”.*

*(Flávio Venturini/ Renato Russo)*

BARROS, Daiane Cristina Martins. **Fungos sapróbios no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**. 2014. 57 f. Dissertação de Mestrado em Agronomia– Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

## RESUMO

O trabalho objetivou a seleção de fungos sapróbios com potencial de controle do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) da soja. Foram realizados testes *in vitro* de antagonismo com o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum*, de antibiose com metabólitos voláteis e não voláteis provenientes de fungos sapróbios originários do semiárido brasileiro. Plantas de soja tratadas *in vivo* com fungos sapróbios foram inoculadas com *S. sclerotiorum* para determinar o efeito da utilização desses sobre o controle do mofo-branco e sobre o desenvolvimento vegetativo das plantas. Nos testes *in vitro* os tratamentos foram os fungos sapróbios *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL, exceto no ensaio de metabólitos não voláteis) e *Stachylidium bicolor* (STB) e a testemunha. Nos ensaios *in vivo*, além dos tratamentos citados, foram utilizados como controle o meio de cultura dos fungos (batata-dextrose-BD) e o indutor de resistência Acibenzolar-S-metílico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições para os ensaios *in vitro* e quatro repetições para os ensaios *in vivo*. A avaliação do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foi realizada aos quatro e sete dias após a repicagem no teste de antagonismo, sete dias após a repicagem no teste de metabólitos voláteis e diariamente pelo período de três dias após a repicagem no teste de metabólitos não voláteis. PIC, MY e CUI apresentaram maior efeito antagônico sobre *S. sclerotiorum* nos testes de antagonismo, sendo a média de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, para todas as avaliações realizadas, de 49,6%, 50,5% e 47,3% respectivamente. Não foi verificado efeito de metabólitos voláteis produzidos por fungos sapróbios sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Em pelo menos um dos ensaios de metabólitos não voláteis os tratamentos PIC, MY, CUI, CUE e MEE foram eficientes na redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. A avaliação do comprimento da lesão *in vivo* foi realizada aos 8, 14 e 21 dias após a inoculação com *S. sclerotiorum*. O comprimento da lesão provocada por *S. sclerotiorum* foi afetado pelo tratamento com fungos sapróbios. A maior porcentagem de redução foi observada para o tratamento MY (70%) enquanto o tratamento STB (18,4%) apresentou a menor porcentagem entre os tratamentos realizados com fungos sapróbios. A avaliação do comprimento e peso de parte aérea e raiz foi realizada aos 21 dias após a primeira aplicação dos fungos sapróbios. Não foi observado efeito dos fungos sapróbios sobre a massa de parte aérea e raízes nas plantas de soja. *Pithomyces chartarum*, *Myrothecium* sp., *Memnoniella echinata*, *Memnoniella levispora* e *Stachybotrys globosa* apresentam potencial de utilização como biocontroladores de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.

**Palavras-chave:** Controle biológico. *Glycine max*. Mofo-branco.

BARROS, DAIANE CRISTINA MARTINS. **Saprobe fungi controlling *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean.** 2014. 57 p. Master Thesis in Agronomy – State University of Londrina, Londrina, 2014.

## ABSTRACT

The objective of this work was select fungi saprobe with potential of control white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) in soybean. *In vitro*, was performed test antagonism with phytopathogen fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, antibiosis of volatile metabolites and non-volatiles from saprobe fungi originating from brazilian semi-arid. *In vivo*, soybean plants treated with saprobe fungi were inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* to determine the effect of use saprobe fungi on white mold control and on vegetative growth of plants. In the tests *in vitro* the treatments was saprobe fungi *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL, except in non-volatiles metabolites test) and *Stachylidium bicolor* (STB) and a control. In the tests *in vivo*, beyond cited treatments, were used as a control the culture medium of fungi (potato-dextrose-BD) and the incuctor resistance Acibenzolar-S-methyl. The experimental design was completely randomized with five replications to *in vitro* tests and four replications for *in vivo* tests. The mycelial growth measurements of *S. sclerotiorum* were performed at four and seven days post-transplant in the antagonism test, seven days post-transplant in the volatile metabolites test and daily per three days post-transplant in the non-volatiles metabolites test. PIC, MY e CUI showed higher antagonistic effect on *S. sclerotiorum* in antagonism tests, being average inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum*, for all evaluations realized, 49.6%, 50.5% e 47.3% respectively. There was no effect of volatile metabolites produced by saprobe fungi on mycelial growth of *S. sclerotiorum*. On at least one of the performed tests with the use of non-volatiles metabolites the treatments PIC, MY, CUI, CUE e MEE were effective in reducing mycelial growth of *S. sclerotiorum*. *In vivo*, the measurements of length lesion was performed at 8, 14 and 21 days post-inoculation of *S. sclerotiorum*. The lesion length caused by *S. sclerotiorum* was affected by treatment with saprobe fungi. The biggest reduction percentage was observed to treatment MY (70%) while the treatment STB (18.4%) had the less percentage among the treatments with saprobe fungi. The evaluation of length and weight of shoot and root was performed at 21 days after first application of saprobe fungi. No effect of saprobe fungi on the mass of shoots and roots on soybean plants was observed. *Pithomyces chartarum*, *Myrothecium* sp., *Memnoniella echinata*, *Memnoniella levispora* and *Stachybotrys globosa* showed potential use as a biocontrollers of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean.

**Key words:** Biological control. *Glycine max*. White mold.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Câmaras de crescimento (fitotron) onde as plantas de soja foram mantidas após inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* .....35
- Figura 2** – Desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum* (SS) em teste de antagonismo (confrontação direta) com fungos sapróbios: *Myrothecium* spp. (MY), *Stachybotrys globosa* (STG), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Memnoniella levispora* (MEL), *Memnoniella echinata* (MEE), *Pithomyces chartarum* (PIC) e *Stachylidium bicolor* (STB) quatro dias após a repicagem de *Sclerotinia sclerotiorum*.....37
- Figura 3** – Aspecto de folhas (A) e lesões provocadas pela inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja .....43
- Figura 4** – Escleródios desenvolvidos aos 8 dias após a inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja tratadas com *Memnoniella echinata* (A), *Curvularia inaequalis* (B) e Acibenzolar-S- metílico (C).....44
- Figura 5** – Lesões provocadas pela inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* aos 8 DAI (a), 14 DAI (b) e 21 DAI (c) em plantas tratadas com *Myrothecium* sp. (A) e plantas de soja não tratadas com fungos sapróbios (B) .....45

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> – Tratamentos utilizados para avaliação do controle de mofo-branco em plantas de soja. Londrina, PR, 2013.....  | 34 |
| <b>Tabela 2</b> – Halo (cm) de inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em cultivo pareado com isolados de fungos sapróbios <i>in vitro</i> . Londrina-PR, Ago- Out, 2013 .....  | 38 |
| <b>Tabela 3</b> – Crescimento micelial (cm) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultura adicionado de diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10%) de filtrado de culturas fúngicas Londrina-PR, Ago- Out, 2013 .....   | 40 |
| <b>Tabela 4</b> – Índice de velocidade do crescimento micelial (mm/dia) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em meio de cultura adicionado de diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10%) de filtrado de culturas fúngicas Londrina-PR, Ago- Out,2013 .....  | 41 |
| <b>Tabela 5</b> – Efeito de fungos sapróbios sobre o número de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> formados em ensaios de metabólitos voláteis e antagonismo. Londrina, PR, ago-out, 2013.....   | 42 |
| <b>Tabela 6</b> – Comprimento médio da lesão (cm), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e porcentagem de redução do comprimento da lesão em plantas de soja tratadas com fungos sapróbios, Acibenzolar-S-Metílico e meio líquido batata-dextrose e inoculadas com <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . Londrina-PR. Mar-Mai, 2013 ..... | 44 |
| <b>Tabela 7</b> – Efeito da utilização de fungos sapróbios, meio líquido batata-dextrose e Acibenzolar-S-Metílico (Bion), sobre o crescimento e massa da parte aérea de plantas de soja. Londrina, PR, Set-Nov, 2013 .....  | 47 |
| <b>Tabela 8</b> – Efeito da utilização de fungos sapróbios, meio líquido batata-dextrose e Acibenzolar-S-Metílico (Bion), sobre o crescimento e massa da parte aérea de plantas de soja. Londrina, PR, Set-Nov, 2013 .....  | 48 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |  |
|--------|--|
| AACPD  | Área abaixo da curva de progresso da doença            |
| Abiove | Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais |
| BD     | Meio líquido batata-dextrose                           |
| BDA    | Batata-dextrose-ágar                                   |
| Conab  | Companhia Nacional de Abastecimento                    |
| CUE    | <i>Curvularia eragrostidis</i>                         |
| CUI    | <i>Curvularia inaequalis</i>                           |
| DAI    | Dias após a inoculação                                 |
| FAEP   | Federação da Agricultura do Estado do Paraná           |
| IVCM   | Índice de velocidade do crescimento micelial           |
| MAPA   | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento    |
| MEE    | <i>Memnoniella echinata</i>                            |
| MEL    | <i>Memnoniella levispora</i>                           |
| MY     | <i>Myrothecium</i> sp.                                 |
| PIC    | <i>Pithomyces chartarum</i>                            |
| STB    | <i>Stachylidium bicolor</i>                            |
| STG    | <i>Stachybotrys globosa</i>                            |
| USDA   | Departamento de Agricultura dos Estados Unidos         |

## SUMÁRIO

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>15</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....  | <b>17</b> |
| 2.1      | SOJA: IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E PRODUÇÃO .....  | 17        |
| 2.2      | MOFO-BRANCO: AGENTE CAUSAL, OCORRÊNCIA E IMPORTÂNCIA .....  | 19        |
| 2.2.1    | Ciclo Biológico da Doença .....   | 20        |
| 2.2.2    | Condições Ambientais Favoráveis .....   | 21        |
| 2.2.3    | Sintomatologia .....  | 22        |
| 2.2.4    | Controle do Mofo-Branco .....   | 22        |
| 2.3      | CONTROLE BIOLÓGICO .....  | 23        |
| 2.4      | MÉTODOS DE SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS .....  | 24        |
| 2.5      | CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> .....   | 25        |
| <b>3</b> | <b>ARTIGO: FUNGOS SAPRÓBIOS DO SEMI-ÁRIDO NORDESTINO<br/>NO CONTROLE DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> EM SOJA</b> ..... | <b>27</b> |
| 3.1      | RESUMO .....  | 27        |
| 3.2      | ABSTRACT .....  | 28        |
| 3.3      | INTRODUÇÃO .....  | 28        |
| 3.4      | MATERIAL E MÉTODOS .....  | 30        |
| 3.4.1    | Efeito <i>In vitro</i> de Fungos Sapróbios sobre <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                                    | 30        |
| 3.4.1.1  | Teste de antagonismo .....  | 31        |
| 3.4.1.2  | Teste de antibiose de metabólitos voláteis .....  | 31        |
| 3.4.1.3  | Teste de antibiose com metabólitos não-voláteis .....   | 32        |
| 3.4.2    | Fungos Sapróbios no Controle do Mofo-Branco em Plantas de Soja .....  | 33        |
| 3.4.3    | Efeito de Fungos Sapróbios sobre o Desenvolvimento Vegetativo<br>de Plantas de Soja .....                                 | 35        |
| 3.5      | RESULTADOS .....  | 36        |
| 3.5.1    | Teste de Antagonismo .....  | 36        |
| 3.5.2    | Teste de Antibiose de Metabólitos Voláteis .....  | 39        |
| 3.5.3    | Teste de Antibiose com Metabólitos Não-Voláteis .....   | 39        |
| 3.5.4    | Formação de Escleródios nos Testes de Metabólitos Voláteis e<br>Antagonismo .....   | 42        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.5.5    | Fungos Sapróbios no Controle do Mofo-Branco em Plantas de Soja.....                       | 43        |
| 3.5.6    | Efeito de Fungos Sapróbios Sobre o Desenvolvimento Vegetativo<br>de Plantas de Soja ..... | 46        |
| 3.5.6.1  | Parte aérea.....  | 46        |
| 3.5.6.2  | Raízes .....  | 48        |
| <b>4</b> | <b>CONCLUSÕES .....</b>   | <b>49</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>50</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Originária do leste da China, a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma planta anual e figura entre as mais importantes leguminosas cultivadas no mundo (AZEVEDO, 1993; BORÉM, 1999).

A primeira referência de produção comercial de soja no Brasil data de 1941, mas o verdadeiro estímulo à produção em larga escala no país foi dado em meados dos anos 50, com a decisão oficial de prover incentivos fiscais à produção de trigo, os quais beneficiaram também a de soja. A partir da década de 1960, a soja estabeleceu-se como cultura economicamente importante para o Brasil (EMBRAPA, 2004).

Entre os principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos em soja estão as doenças. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil. Esse número continua aumentando com a expansão da soja para novas áreas e como consequência da monocultura. A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições climáticas de cada safra (EMBRAPA, 2011).

O mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, é uma das doenças mais antigas da soja e, recentemente, sua ocorrência e níveis de dano têm aumentado nas áreas de maior altitude do cerrado e no Paraná, causando reduções de produtividade de até 60% (MEYER; NUNES JUNIOR; PIMENTA, 2013).

Não há disponibilidade de cultivares de soja geneticamente resistentes a *S. sclerotiorum*, mas pode haver diferenças de suscetibilidade entre elas. O controle preventivo baseia-se no uso de sementes sadias; racionalização do volume de água na lavoura; fuga de épocas muito favoráveis como alta umidade e temperaturas mais baixas; incremento de microrganismos antagônicos no solo como *Trichoderma* spp.; cobertura do solo visando uma barreira física à germinação dos escleródios presentes no solo; rotação de culturas com gramíneas e uso de fungicidas em tratamento de sementes e em parte aérea (FURLAN, 2009).

Até o início do século XX, pouco se conhecia sobre a ação de microrganismos no controle de fitopatógenos. No começo da década de 1920 foram

realizados os primeiros estudos sobre a ação de antagonistas sobre fungos causadores de tombamento (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Fungos sapróbios têm recebido recentemente uma atenção especial como agentes de controle biológico e indutores potenciais de resistência (YEDIDIA et al., 2003), pois, de modo similar aos patógenos, são capazes de secretar pectatolases, induzir a liberação de oligogalacturonídeos e ativar a resposta de defesa de plantas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a seleção de fungos sapróbios com potencial de controle do mofo-branco da soja. A dissertação será apresentada na forma de artigo científico, a saber:

- Artigo: Fungos sapróbios do semi-árido nordestino no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 SOJA: IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E PRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo. As mais remotas evidências históricas e geográficas indicam que a cultura foi domesticada no século XI A.C. no norte da China. O Vale do Rio Amarelo, que é o berço da civilização chinesa é, provavelmente, o local de origem da soja (EMBRAPA, 2003).

O relatório mensal do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) divulgado em março de 2014 reajustou a produção mundial de soja na safra 2013/2014 para 285,43 milhões de toneladas, uma redução de 2,26 milhões de toneladas. O consumo mundial foi reavaliado para 269,70 milhões de toneladas e os estoques mundiais passaram de 73,01 para 70,64 milhões de toneladas. Para os Estados Unidos, o USDA manteve a produção em 89,51 milhões de toneladas e reduziu os estoques finais de 4,09 para 3,95 milhões de toneladas. As exportações norte-americanas foram reajustadas para cima, passando de 41,10 milhões para 41,64 milhões de toneladas (FAEP, 2014).

Para o Brasil o relatório reajustou para baixo a produção de soja na temporada 2013/2014, avaliada em 88,5 milhões de toneladas por conta da estiagem e do forte calor registrados no Brasil. Com o novo número o Brasil perde a posição de principal produtor e os Estados Unidos assume o lugar. As exportações brasileiras permaneceram em 45,00 milhões de toneladas, mantendo o país como principal exportador mundial de soja (FAEP, 2014).

O sexto levantamento da safra brasileira de soja na temporada 2013/14 estimou produção de 85.442,5 mil toneladas, representando um incremento de 4,8% em relação à safra 2012/13. Isto é resultado de um crescimento de 7,4% na área e uma redução prevista na produtividade de 2,4% (CONAB, 2014).

Na Região Centro-Oeste, aonde se observa a maior área de plantio – 13.811,9 mil hectares, o incremento observado sobre a safra anterior, até o presente momento, foi de 8,1%. A estimativa de produção para a Região Centro-Oeste é de que alcance 41.286,1 mil toneladas, representando um acréscimo de 8,4% em relação à safra anterior (CONAB, 2014). Na safra 2012/2013 o estado do

Mato Grosso, maior produtor brasileiro de soja, produziu 23,5 milhões de toneladas do grão (CONAB, 2013).

Na Região Sul, a área cultivada atingiu 10.439,8 mil hectares, apresentando um incremento de 5,6% em relação à safra anterior. Estima-se que aproximadamente 45% da lavoura, nessa região, esteja colhida (CONAB, 2014). Na última safra, o estado do Paraná, segundo maior produtor brasileiro de soja, produziu 15,9 milhões de toneladas (CONAB, 2013).

Para a Região Sudeste, o sexto levantamento da safra brasileira de soja na temporada 2013/2014 registrou o segundo maior aumento na área plantada nesta safra – 12,1%. A produção estimada para a região atingiu 5.204,2 mil toneladas, representando uma redução de 4,1%, quando comparada com a safra anterior (CONAB, 2014).

A estimativa de produção para a Região Centro-Sul é de 75.151,5 mil toneladas, representando, apesar dos efeitos negativos do clima, um acréscimo de 2,2% em relação ao ocorrido na safra 2012/13. Para as regiões Norte/Nordeste estima-se área plantada com acréscimo de 7,1% e produção com acréscimo de 29,3% em relação à safra anterior (CONAB, 2014).

A indústria nacional processa, por ano, cerca de 30,7 milhões de toneladas de soja, produzindo 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo proteico, contribuindo para a competitividade nacional na produção de carnes, ovos e leite. Além disso, a soja e o farelo de soja brasileiros possuem alto teor de proteína e padrão de qualidade Premium, o que permite sua entrada em mercados extremamente exigentes como os da União Europeia e do Japão (MAPA, 2013).

A soja, também se constitui em alternativa para a fabricação do biodiesel, combustível capaz de reduzir em 78% a emissão dos gases causadores do efeito estufa na atmosfera (MAPA, 2013). No ano de 2013, 74% do biodiesel brasileiro foi produzido a partir de óleo de soja, sendo o restante obtido através de sebo bovino, óleo de algodão e outras matérias-primas (ABIOVE, 2013).

O complexo de produção de soja (grão, farelo e óleo) é o principal gerador de divisas cambiais do Brasil, com negociações anuais que ultrapassam US\$ 20 bilhões. Em 2019, a produção nacional deve representar 40% do comércio mundial do grão e 73% do óleo de soja (MAPA, 2013).

## 2.2 MOFO-BRANCO: AGENTE CAUSAL, OCORRÊNCIA E IMPORTÂNCIA

O mofo-branco, também conhecido como podridão-branca-da-haste é uma das mais antigas doenças da soja, ocorrendo em diversas regiões produtoras. O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, agente causal da doença, pertence ao filo Ascomycota, classe Discomiceto, ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae (BOLAND; HALL, 1994).

O fungo é um dos mais bem sucedidos fitopatógenos do mundo, com uma gama de hospedeiros de mais de 400 espécies de plantas (BROAD, 2012). Aproximadamente 200 gêneros botânicos são atacados pelo fungo; entre as mais importantes culturas estão, além da soja, o feijão, o girassol, o algodão, o tomate, a batata e algumas outras hortaliças (FURLAN, 2009).

A sobrevivência do fungo no solo pode ocorrer na ausência do hospedeiro suscetível, por meio de estruturas de resistência denominadas de escleródios. No campo, os escleródios podem permanecer viáveis até terem acesso ao substrato preferencial. Adams e Ayers (1979) relatam que nos Estados Unidos os escleródios podem se manter viáveis no solo por até oito anos. Entretanto, a viabilidade dos escleródios foi de aproximadamente 14 meses em sistema de semeadura direta e de 36 meses em semeadura convencional para o sul do Brasil devido a condições climáticas diferenciadas (REIS; TOMAZINI, 2005).

No Brasil, a detecção da doença, ocorreu no ano de 1921, na cultura da batata. Tem sido reportada no país principalmente nas culturas do feijão, soja, girassol, algodão, canola, batata, tomate e alface. Nessas culturas, a doença tem ocasionado perdas crescentes nas mais importantes regiões produtoras agrícolas do país (Sul, Sudeste e Centro-Oeste) (JACCOUD-FILHO et al., 2011).

Até a década de 90, o mofo-branco era restrito ao sul do Brasil, ocorrendo esporadicamente em áreas de pivô central em Minas Gerais e Goiás. Porém, a falta de cuidados com a sanidade das sementes de soja, oriundas de áreas infectadas pelo mofo-branco (utilização de semente caseira ou pirata) sem o devido cuidado com o beneficiamento, e a sucessão com culturas suscetíveis (algodão, feijão) tornou essa doença um dos maiores problemas para a cultura da soja (HENNING, 2011). No cerrado, os primeiros relatos de mofo-branco em soja foram feitos há 20 anos, ocorrendo desde então de forma endêmica (MACHADO; CASSETARI NETO, 2010).

### 2.2.1 Ciclo Biológico da Doença

*Sclerotinia sclerotiorum* sobrevive a maior parte de seu ciclo em forma de estruturas de resistência formadas por uma massa de hifas de consistência firme, arredondada ou com outro formato, que desempenha importante papel na sobrevivência de fungos veiculados pelo solo e são denominadas escleródios (MASSOLA JR.; KRUGNER, 2011). Estas estruturas servem como veículo de disseminação e inóculo primário, desempenhando função primordial no ciclo da doença. O fungo sobrevive também no endosperma de sementes de plantas hospedeiras (TU, 1988; HALL; STEADMAN, 1991).

A germinação de escleródios pode ocorrer com a emissão de hifas (miceliogênica), com a formação de esporos (esporogênica) ou com a formação de corpos de frutificação (carpogênica). A germinação com emissão de hifas pode ser encontrada nas espécies *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Stromatina cepivora* (*Sclerotium cepivorum*) e *Sclerotinia gladioli*. Germinação do tipo esporogênica tem sido relatada para *Botrytis convoluta*, *B. tulipae* e *Verticillium dahliae*, enquanto que a do tipo carpogênica ocorre em *Claviceps purpurea* e *Sclerotinia sclerotiorum* (AMORIM; PASCHOLATI, 2011).

As infecções do mofo-branco são iniciadas após a germinação dos escleródios no solo úmido. Os escleródios germinam dando origem a pequenas estruturas em forma de taça, chamados de apotécios, que liberam ascósporos no ar, para inicialmente colonizar flores em senescência (LOBO JUNIOR, 2010). Os apotécios são constituídos das ascas que produzem cerca de  $3 \times 10^7$  ascósporos, os quais são expelidos e são depositados nas folhas e inflorescências da planta durante um período de 5 a 10 dias (SCHWARTZ; STEADMAN, 1978). Os ascósporos, quando depositados sobre tecidos senescentes das plantas hospedeiras, germinam e desenvolvem o micélio que, em seguida, invade o tecido sadio. Ascósporos também podem penetrar diretamente em tecidos sadios de plantas hospedeiras e estabelecer a infecção (LU, 2003). A partir da penetração dos ascósporos na planta, o processo evolui dentro das hastes das mesmas ou externamente, dando origem a uma massa esbranquiçada que contém em fases mais avançadas escleródios amórficos de tamanhos variados (MACHADO, 2011).

Na cultura da soja, a fase mais vulnerável à infecção vai da floração plena (R2) ao início da formação dos grãos (R5) (DANIELSON et al., 2004). Em

condições de alta umidade, o fungo pode colonizar os tecidos sadios entre 16 e 24 horas após a infecção do tecido floral senescente. Em tempo seco, o progresso da doença pode ser retardado ou paralisado, mas é retomado quando as condições de alta umidade retornam. O micélio pode permanecer viável em flores infectadas por até 144 horas em condições desfavoráveis e retomar o desenvolvimento em condições favoráveis (HARIKRISHNAN; DEL RÍO, 2006).

Nos tecidos infectados da planta, ocorre o desenvolvimento de hifas em vesículas localizadas entre a cutícula e a camada de células da epiderme e, intercelularmente no córtex da planta (LUMSDEN, 1979). Após a colonização do tecido, a massa de hifas começa a emergir dos estômatos ou das aberturas da cutícula, formando uma rede micelial semelhante a floco de algodão, originando os escleródios (PURDY, 1979). Escleródio é uma massa de hifas de consistência firme, arredondada ou com outro formato, que desempenha importante papel na sobrevivência de fungos veiculados pelo solo (MASSOLA JR.; KRUGNER, 2011).

Ao final do ciclo da cultura, os novos escleródios ficam no solo onde podem permanecer viáveis por vários anos (LEITE, 2005).

### 2.2.2 Condições Ambientais Favoráveis

Os escleródios que germinam de forma miceliogênica acabam infectando diretamente o caule das plantas, causando tombamento em pré e pós emergência. A temperatura ótima para esse processo situa-se entre 18°C e 25°C. (AGRIOS, 2005).

O escleródio que se encontra na superfície do solo ou até uma profundidade de 5 cm pode germinar carpogenicamente originando o apotécio, que é uma estrutura em forma de taça pedicelada, carnosa e de cor rosada, cujo diâmetro varia de 5 a 15 milímetros. As condições ótimas para a produção do apotécio são 10 a 14 dias com potencial matricial de água no solo de 250 kPa e temperaturas entre 15°C e 18°C, podendo ser inibido por temperaturas superiores a 20°C. O tempo de vida pode variar de 5 a 10 dias (ABAWI; GROGAN, 1975).

A espécie hospedeira também pode estimular a germinação de escleródios, por meio de exsudatos radiculares e pelo microclima formado sob o seu dossel. Em zonas de clima temperado, as condições ideais partem de uma combinação de eventos úmidos e secos e de baixas temperaturas (BARDIN;

HUANG, 2001). Em contraste, isolados oriundos dos trópicos não requerem frio no processo de germinação carpogênica. Portanto, a origem geográfica dos isolados é de fundamental importância em estudos com *S. sclerotiorum* (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006).

Após a liberação dos ascósporos e deposição destes sobre as plantas, são necessárias temperaturas em torno de 20 °C para que germinem, sendo limitantes temperaturas superiores a 30°C e inferiores a 5°C (AGRIOS, 2005).

### 2.2.3 Sintomatologia

O primeiro indício da presença da doença é o aspecto de murcha na planta. Nos órgãos infectados são encontradas lesões encharcadas, de coloração parda e consistência mole, com presença de micélio branco de aspecto cotonoso (DEL PONTE; ALVES; SCHNEIDER, 2012).

As lesões encharcadas são produzidas devido à destruição da lamela média da planta, ocasionadas por enzimas pécticas (ou pectinolíticas) produzidas pelo fungo. Posteriormente ocorre crescimento micelial esbranquiçado que adquire uma coloração de chocolate a marrom. Com o progresso da doença, as folhas murcham e amarelecem, tornando-se secas, leves e quebradiças. As sementes infectadas ficam sem brilho, enrugadas e mais leves que as normais (CARDOSO, 1994).

Na soja, os sintomas ocorrem geralmente no terço médio das plantas, atingindo a haste principal, pecíolos, folhas e vagens. No final do ciclo, as lesões apresentam coloração avermelhada ou arroxeadas. Os sintomas são acompanhados, frequentemente, da formação de escleródios que caracterizam a doença (HENNENBERG et al., 2011).

### 2.2.4 Controle do Mofo-Branco

Não existem cultivares de soja resistentes a *S. sclerotiorum*, e o controle químico por meio de fungicidas têm sido o mais eficaz, entretanto pode ser inviável em alguns casos, em razão dos custos e das dificuldades de se obter a cobertura total da planta durante a pulverização (GÖRGEN et al., 2009). Também existem dificuldades de ajuste do momento da aplicação do fungicida com a

liberação de ascósporos. Além disso, a qualidade de aplicação do produto químico é tão importante quanto a época, pois precisa alcançar as partes inferiores da planta e a superfície do solo, além de proteger as flores (OLIVEIRA, 2005).

A primeira pulverização deve ser feita preventivamente na abertura das primeiras flores (estádio R1) para as áreas que apresentem histórico da doença e se as condições climáticas forem favoráveis. É neste estágio que normalmente surgem os primeiros apotécios (FURLAN, 2009).

Outra dificuldade no controle da doença é a permanência de escleródios viáveis por um longo tempo no solo, aliado ao fato de que os ascósporos que produzem a infecção aérea podem ser provenientes de escleródios situados a longas distâncias (OLIVEIRA et al., 2011).

A redução do inóculo inicial do patógeno é essencial para o controle efetivo do mofo-branco, pois a severidade da doença nos hospedeiros é, em geral, proporcional à densidade de inóculo no solo. Além disso, deve-se impedir, também, a formação de apotécios e a ejeção de ascósporos e minimizar a produção de novos escleródios pelo controle preventivo da doença na parte aérea das plantas (GÖRGEN et al., 2010).

Entre as recomendações para o controle do mofo-branco, podem ser destacadas também, práticas como o controle cultural com formação da palhada no sistema de plantio direto (SPD) e o controle biológico com antagonistas (GÖRGEN et al., 2009).

### 2.3 CONTROLE BIOLÓGICO

O biocontrole ou controle biológico é uma técnica há muito tempo aplicada. Porém, nas últimas décadas esta técnica tem ganhado destaque na área agrária frente ao fato de que os agroquímicos utilizados representam riscos ao ambiente e à saúde humana, além do desenvolvimento de resistência dos organismos alvo às substâncias aplicadas (GERHARDSON, 2002).

Os organismos que exercem o controle biológico são denominados antagonistas. A busca por antagonistas eficientes e o desenvolvimento de produtos para veiculá-los são propósitos de muitas pesquisas (MIZUBUTI; MAFFIA, 2006).

No mercado mundial estão disponíveis mais de 40 espécies de antagonistas utilizados para o controle de doenças de plantas, sendo o gênero

*Trichoderma* responsável por quase metade dos antagonistas comercializados, seguido do *Bacillus*, *Paecilomyces*, *Pseudomonas* e *Streptomyces*. Muitos produtos biológicos não especificam qual espécie do antagonista é utilizada (BETTIOL et al., 2012).

O gênero anamorfo *Myrothecium*, pertence à ordem Hypocreales, mesma ordem do fungo *Trichoderma* spp., e tem sido utilizado no controle de nematóides como produto comercial Ditera®, que é produzido à base de *Myrothecium* e, tem como princípio ativo uma mistura de *Myrothecium verrucaria* inativado e do líquido em que o fungo foi cultivado. O produto é comercializado na Costa Rica, EUA, Honduras, México, Guatemala, Panamá e Chile, entre outros países (BETTIOL et al., 2012).

Embora *Curvularia eragrostidis* seja relatado como patógeno de muitas plantas, incluindo milho, inhame, maracujá, dendezeiro, fruteiras da Amazônia dentre outras e a maioria dos estudos englobe características biológicas e de patogenicidade, o fungo foi relatado pela primeira vez como agente de biocontrole de capim-colchão (*Digitaria sanguinalis* L. Scop.) por Zhu e Qiang (2003; 2004). Nos últimos anos, *C. eragrostidis* tem sido explorado de forma intensiva para o potencial biocontrole de gramíneas. O fungo é altamente virulento e mata a planta daninha rapidamente, sem causar impactos negativos sobre muitas culturas importantes, entre elas milho, soja, arroz, algodão, amendoim e melancia. Além disso, os conídios do fungo podem ser facilmente produzidos em massa, com potencial para atender aos padrões da indústria tecnológica atual (ZHU; QIANG, 2011).

Dentre os indutores de resistência utilizados no controle biológico, o mais empregado é o acibenzolar-S-metil (ASM). Ele foi também o primeiro indutor de resistência registrado para uso comercial (LYON; NEWTON, 1997).

## 2.4 MÉTODOS DE SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS

Os testes de seleção de microrganismos com potencial antagonista podem ser realizados *in vitro* e *in vivo*, neste caso em condições controladas ou em condições naturais. Ambos métodos são complementares (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

Os métodos *in vitro*, além de serem práticos, servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista e também indicam o comportamento do microrganismo, com relação à sua capacidade de adaptação, crescimento, reprodução, *in vitro* (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000). Os principais métodos de seleção de microrganismos *in vitro* descritos são: pareamento de culturas, papel celofane, placa sobreposta, líquido metabólico, etc. (MARIANO, 1993).

A seleção de microrganismo *in vivo* é realizada pela aplicação do antagonista, seguida da inoculação do patógeno no hospedeiro por meio de pulverização de suspensão de células, imersão de raízes, ferimentos, dentre outros (GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000).

Após o isolamento e seleção de um antagonista, o emprego de microrganismo como agente de controle biológico de fitopatógenos ocorre principalmente por meio do tratamento das sementes, do solo, das partes aéreas das plantas e pós-colheita (SAVI, 2011).

## 2.5 CONTROLE BIOLÓGICO DE *SCLEROTINIA SCLEROTIURUM*

Estudos relacionados ao biocontrole de *S. sclerotiorum* têm focado principalmente a degradação dos escleródios, sem um direcionamento à moléstia causada pelo patógeno (ETHUR et al., 2005).

Alguns fungos foram relatados como importantes agentes de biocontrole de *S. sclerotiorum* tais como: *Coniothyrium minitans* Campbell (HUANG et al., 2000), *Gliocladium roseum* Bainier (HANNUSCH; BOLAND, 1996), *Trichoderma harzianum* Rifai (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993; MENENDEZ; GODEAS, 1998); *Trichoderma hamatum* (Bon.) Bainer (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993); *Ulocladium atrum* Preuss (LI; HUANG; ACHARYA, 2003) *Penicillium* spp. (RAI; SAXENA, 1975; ZAZZERINI; TOSI, 1985); *Fusarium solani* (Mart) Sacc. (ILLIPRONTI; MACHADO, 1993) e *Fusarium* spp. (ZAZZERINI; TOSI, 1985).

Bettiol et al. (2012) organizaram informações técnicas de 135 produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas, sendo 39 destes recomendados para utilização no controle de *S. sclerotiorum*, o que representa aproximadamente 28,9% do total de produtos. Destes apenas nove

possuem registro e comercialização no Brasil, dois possuem registro especial temporário e um encontra-se em processo de registro.

Diante da escassez de informações em relação a formulações de bioprodutos para viabilizar o uso comercial, há a necessidade da intensificação no desenvolvimento de trabalhos de pesquisas direcionados às diversas etapas para a obtenção dos produtos (MACHADO et al., 2012). Mais do que uma simples interação entre antagonista e patógeno, níveis crescentes de controle podem ser obtidos com a seleção de antagonistas mais eficientes em termos de parasitismo e/ou produção de metabólitos como antibióticos e enzimas que afetam negativamente o desenvolvimento de *S. sclerotiorum* (LOBO JÚNIOR, 2011).

### 3 ARTIGO: FUNGOS SAPRÓBIOS DO SEMI-ÁRIDO NORDESTINO NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIUM* EM SOJA

#### 3.1 RESUMO

O trabalho objetivou a seleção de fungos sapróbios com potencial de controle do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) da soja. Foram realizados testes *in vitro* de antagonismo com o fungo fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, de antibiose com metabólitos voláteis e não voláteis provenientes de fungos sapróbios originários do semiárido brasileiro. Plantas de soja tratadas *in vivo* com fungos sapróbios foram inoculadas com *S. sclerotiorum* para determinar o efeito da utilização desses sobre o controle do mofo-branco e sobre o desenvolvimento vegetativo das plantas. Nos testes *in vitro* os tratamentos foram os fungos sapróbios *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL, exceto no ensaio de metabólitos não voláteis) e *Stachylidium bicolor* (STB) e a testemunha. Nos ensaios *in vivo*, além dos tratamentos citados, foram utilizados como controle o meio de cultura dos fungos (batata-dextrose-BD) e o indutor de resistência Acibenzolar-S-metílico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições para os ensaios *in vitro* e quatro repetições para os ensaios *in vivo*. A avaliação do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foi realizada aos quatro e sete dias após a repicagem no teste de antagonismo, sete dias após a repicagem no teste de metabólitos voláteis e diariamente pelo período de três dias após a repicagem no teste de metabólitos não voláteis. PIC, MY e CUI apresentaram maior efeito antagônico sobre *S. sclerotiorum* nos testes de antagonismo, sendo a média de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, para todas as avaliações realizadas, de 49,6%, 50,5% e 47,3% respectivamente. Não foi verificado efeito de metabólitos voláteis produzidos por fungos sapróbios sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Em pelo menos um dos ensaios de metabólitos não voláteis os tratamentos PIC, MY, CUI, CUE e MEE foram eficientes na redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. A avaliação do comprimento da lesão *in vivo* foi realizada aos 8, 14 e 21 dias após a inoculação com *S. sclerotiorum*. O comprimento da lesão provocada por *S. sclerotiorum* foi afetado pelo tratamento com fungos sapróbios. A maior porcentagem de redução foi observada para o tratamento MY (70%) enquanto o tratamento STB (18,4%) apresentou a menor porcentagem entre os tratamentos realizados com fungos sapróbios. A avaliação do comprimento e peso de parte aérea e raiz foi realizada aos 21 dias após a primeira aplicação dos fungos sapróbios. Não foi observado efeito dos fungos sapróbios sobre a massa de parte aérea e raízes nas plantas de soja. *Pithomyces chartarum*, *Myrothecium* sp., *Memnoniella echinata*, *Memnoniella levispora* e *Stachybotrys globosa* apresentam potencial de utilização como biocontroladores de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja.

**Palavras-chave:** Controle biológico. *Glycine max*. Mofo-branco.

### 3.2 ABSTRACT

The objective of this work was select fungi saprobe with potential of control white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) in soybean. *In vitro*, was performed test antagonism with phytopathogen fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, antibiotics of volatile metabolites and non-volatiles from saprobe fungi originating from brazilian semi-arid. *In vivo*, soybean plants treated with saprobe fungi were inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* to determine the effect of use saprobe fungi on white mold control and on vegetative growth of plants. In the tests *in vitro* the treatments was saprobe fungi *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL, except in non-volatiles metabolites test) and *Stachybotrys bicolor* (STB) and a control. In the tests *in vivo*, beyond cited treatments, were used as a control the culture medium of fungi (potato-dextrose-BD) and the inductor resistance Acibenzolar-S-methyl. The experimental design was completely randomized with five replications to *in vitro* tests and four replications for *in vivo* tests. The mycelial growth measurements of *S. sclerotiorum* were performed at four and seven days post-transplant in the antagonism test, seven days post-transplant in the volatile metabolites test and daily per three days post-transplant in the non-volatiles metabolites test. PIC, MY e CUI showed higher antagonistic effect on *S. sclerotiorum* in antagonism tests, being average inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum*, for all evaluations realized, 49.6%, 50.5% e 47.3% respectively. There was no effect of volatile metabolites produced by saprobe fungi on mycelial growth of *S. sclerotiorum*. On at least one of the performed tests with the use of non-volatiles metabolites the treatments PIC, MY, CUI, CUE e MEE were effective in reducing mycelial growth of *S. sclerotiorum*. *In vivo*, the measurements of length lesion was performed at 8, 14 and 21 days post-inoculation of *S. sclerotiorum*. The lesion length caused by *S. sclerotiorum* was affected by treatment with saprobe fungi. The biggest reduction percentage was observed to treatment MY (70%) while the treatment STB (18.4%) had the less percentage among the treatments with saprobe fungi. The evaluation of length and weight of shoot and root was performed at 21 days after first application of saprobe fungi. No effect of saprobe fungi on the mass of shoots and roots on soybean plants was observed. *Pithomyces chartarum*, *Myrothecium* sp., *Memnoniella echinata*, *Memnoniella levispora* and *Stachybotrys globosa* showed potential use as a biocontrollers of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean.

**Key words:** Biological control. *Glycine max*. White mold.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O mofo-branco, doença causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, está disseminado por todas as regiões brasileiras de condições climáticas amenas (Região Sul e chapadas dos cerrados acima de 800 m de altitude). Além da soja (*Glycine max* L.), o fungo afeta uma vasta gama de plantas cultivadas e daninhas, com exceção das gramíneas (ALMEIDA et al., 2005).

Recentemente, a ocorrência do mofo-branco e os níveis de dano têm aumentado nas áreas mais altas do cerrado e no Paraná, causando reduções de produtividade de até 60%. Estima-se que cerca de 25% da área de produção de soja brasileira esteja infestada pelo patógeno (MEYER; NUNES JUNIOR; PIMENTA, 2013).

Os primeiros sintomas da doença são manchas de anasarca que evoluem para coloração castanho-clara e logo desenvolvem abundante formação de micélio branco e denso. Em poucos dias o micélio transforma-se em massa negra, rígida, o escleródio, que é a forma de resistência do fungo (ALMEIDA et al., 2005).

Uma vez estabelecido em uma área, *S. sclerotiorum* é de difícil erradicação. O controle se dá pela utilização de sementes certificadas, rotação/sucessão de soja com espécies como milho, aveia branca ou trigo; eliminação de plantas daninhas que na sua maioria são hospedeiras do fungo, entre outras (ALMEIDA et al., 2005). Atualmente, não há disponibilidade de cultivares de soja geneticamente resistentes a *S. sclerotiorum*, mas pode haver diferenças de suscetibilidade entre elas (FURLAN, 2009).

Os controles químico e biológico têm sido empregados para o manejo do mofo-branco em diversas culturas, reduzindo com isso os danos na qualidade e produtividade de grãos (ZANCAN et al., 2012).

Fungos sapróbios têm recebido recentemente uma atenção especial como agentes de controle biológico e indutores potenciais de resistência (YEDIDIA et al., 2003), pois, de modo similar aos patógenos, estes são capazes de secretar pectatolases, induzir a liberação de oligogalacturonídeos e ativar a resposta de defesa de plantas.

Os fungos sapróbios podem ser obtidos a partir da matéria orgânica em decomposição. Quanto mais hostil o ambiente de onde forem recuperados, maiores as chances de sobrevivência como agentes de biocontrole no agroecossistema. Trabalhos de prospecção da biodiversidade fúngica do semiárido têm sido conduzidos e vários fungos sapróbios da serapilheira de florestas da caatinga do Nordeste foram identificados (ALMEIDA; IZABEL; GUSMÃO, 2011; BARBOSA; GUSMÃO, 2011; IZABEL et al., 2011; LEÃO-FERREIRA; GUSMÃO; RUIZ, 2013). Estes fungos estão sendo agora testados no projeto SISBIOTA/FAPESP, para o controle de doenças em diversos patossistemas.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo a seleção de fungos sapróbios com potencial de controle do mofo-branco da soja.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 Efeito *In Vitro* dos Fungos Sapróbios Sobre *Sclerotinia sclerotiorum*

Os tratamentos utilizados nos três ensaios realizados *in vitro* (antagonismo, metabólitos voláteis e metabólitos não-voláteis) foram oito espécies de fungos sapróbios e a testemunha. Os fungos sapróbios utilizados são originários do semi-árido nordestino e foram fornecidos pelo Prof. Dr. Luis Fernando P. Gusmão, responsável pela coleção de fungos da Universidade Estadual de Feira de Santana (BA). A identificação desses fungos foi realizada mediante trabalhos de prospecção da biodiversidade fúngica do semiárido (ALMEIDA; IZABEL; GUSMÃO, 2011; BARBOSA; GUSMÃO, 2011; IZABEL et al., 2011; LEÃO-FERREIRA; GUSMÃO; RUIZ, 2013). Os fungos sapróbios foram: *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL, exceto no ensaio de metabólitos não voláteis) e *Stachylidium bicolor* (STB). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. Os ensaios realizados *in vitro* foram repetições três vezes, à exceção do teste de antibiose com metabólitos não voláteis (repetido duas vezes).

Os resultados obtidos para os ensaios de antagonismo e metabólitos não voláteis foram submetidos à análise de variância e os dados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Nos ensaios de metabólitos não voláteis calculou-se também o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), conforme fórmula de Maguire (1962) adaptada por Oliveira (1992):  $IVCM = \sum(D-Da) / N$ , onde: IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial; D = diâmetro médio atual da colônia; Da = diâmetro médio da colônia no dia anterior; N = número de dias de incubação. Os valores de IVCM foram comparados pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

#### 3.4.1.1 Teste de antagonismo

O ensaio foi realizado por meio da técnica da cultura pareada, de acordo com a metodologia descrita por Bell et al. (1982).

Os fungos sapróbios foram cultivados a  $25 \pm 2$  °C por 15 dias sob luz contínua e o fungo fitopatogênico *S. sclerotiorum* a  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h por sete dias, ambos em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA).

Uma semana antes do plaqueamento de *S. sclerotiorum*, um disco de micélio contendo inóculo dos fungos sapróbios foi repicado a aproximadamente 1 cm de distância de um dos bordos da placa, à exceção de *Curvularia eragrostidis* (CUE) e *Curvularia inaequalis* (CUI) repicados três dias antes do plaqueamento do fungo fitopatogênico, em função da velocidade de crescimento da colônia. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h. A repicagem de *S. sclerotiorum* foi realizada no bordo oposto da placa. A distância entre o disco contendo os sapróbios e *S. sclerotiorum* foi de aproximadamente seis centímetros. As placas foram incubadas em BOD a temperatura de  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h. Nas placas testemunhas foram repicados somente discos do patógeno.

Aos quatro dias após a repicagem de *S. sclerotiorum* realizou-se a primeira avaliação de crescimento micelial dos fungos sapróbios e do fungo fitopatogênico, sendo realizada uma segunda avaliação aos sete dias após a repicagem. O crescimento micelial foi determinado com o auxílio de régua milimetrada.

Posteriormente, determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em comparação à testemunha, pela fórmula:  $I = [(C1 - C2) / C1] * 100$ , onde I = % de inibição do patógeno; C1 = crescimento do patógeno na placa testemunha (cm) e C2 = crescimento do patógeno na placa tratamento. As placas foram mantidas em BOD até os 21 dias após a montagem do ensaio quando se realizou a avaliação do número de escleródios formados.

#### 3.4.1.2 Teste de antibiose de metabólitos voláteis

Para a realização do ensaio foram utilizadas placas de poliestireno (60 ml de volume) com uma divisória.

Uma semana antes do plaqueamento de *S. sclerotiorum*, um disco de micélio contendo inóculo dos fungos sapróbios, foi repicado em um dos lados da placa contendo aproximadamente 10 mL de BDA, visando a detecção de voláteis biologicamente ativos, a exceção de *Curvularia eragrostidis* (CUE) e *Curvularia inaequalis* (CUI) repicados três dias antes do plaqueamento do fungo fitopatogênico, em função da rápida velocidade de crescimento da colônia. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C sob fotoperíodo de 12h. A repicagem de *S. sclerotiorum* foi realizada na metade oposta da placa.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada aos sete dias após o plaqueamento de *S. sclerotiorum* com o auxílio de régua milimetrada. Aos 21 dias após a montagem do ensaio avaliou-se o número de escleródios formados.

#### 3.4.1.3 Teste de antibiose com metabólitos não-voláteis

Os filtrados de cultura dos fungos sapróbios foram obtidos após cultivo em meio líquido batata-dextrose (BD). Dois discos de micélio de 5 mm de diâmetro contendo fungos crescidos em meio BDA por aproximadamente 30 dias, foram transferidos para erlenmeyers com capacidade de 250 mL contendo 150 mL de BD e incubados a 25 °C sem agitação, por 10 dias sob luz contínua. Após esse período, a suspensão dos fungos sapróbios foi filtrada em papel filtro e posteriormente centrifugada em duas etapas de 15 min a 5000 rpm. Os filtrados puros, assim obtidos, foram armazenados em geladeira pelo período de 48 h.

O inóculo de *S. sclerotiorum* utilizado no ensaio foi derivado de colônias cultivadas a  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h por 30 dias em meio de cultura BDA.

Para testar o efeito dos filtrados da cultura dos fungos sapróbios sobre o crescimento micelial do fitopatógeno, cada um dos filtrados foi incorporado separadamente em BDA fundente, nas proporções de 0; 2; 4; 6; 8 e 10% (volume/volume), sendo o volume final de 150 mL e, vertidos em placas de petri. Um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio de *S. sclerotiorum* foi depositado no centro das placas, posteriormente mantidas a temperatura de  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12/12 h. Foram utilizadas cinco repetições para cada concentração.

O crescimento diametral das colônias de *S. sclerotiorum* foi avaliado diariamente por três dias, tempo no qual as colônias nas placas testemunhas

alcançaram o diâmetro máximo da placa de petri (9 cm). A avaliação foi realizada em dois eixos perpendiculares de crescimento com o auxílio de régua milimetrada.

Os dados obtidos foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme fórmula de Maguire (1962) adaptada por Oliveira (1992) sendo, portanto,  $IVCM = \sum(D-Da) / N$ , onde, IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial; D = diâmetro médio atual da colônia; Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a incubação. Os valores de IVCM foram comparados pelo teste Scott-Knott (5%).

#### 3.4.2 Fungos Sapróbios no Controle do Mofo-Branco em Plantas de Soja

O ensaio foi desenvolvido na Embrapa-Soja, durante o período de março a maio de 2013. A semeadura foi realizada no dia 11/03/2013 utilizando-se a cultivar de soja BMX Potência RR. Cinco sementes foram semeadas em vasos de 5 L contendo areia e solo (na proporção 3:1) e adubação de 15 g de NPK (4-14-08). O desbaste foi realizado aos quinze dias após a semeadura, com o auxílio de tesoura de poda, deixando-se duas plantas/vaso. Da semeadura até a inoculação (estádio R1) as plantas foram mantidas em casa de vegetação de vidro com temperatura média de 27,2 °C e iluminação solar natural. A irrigação das plantas foi realizada diariamente.

Os tratamentos foram constituídos pelos mesmos fungos sapróbios utilizados nos ensaios *in vitro*, um indutor comercial de resistência em plantas (Acibenzolar-S-metilico, nome comercial Bion®), meio líquido batata-dextrose e uma testemunha sem tratar (Tabela 1).

**Tabela 1** – Tratamentos utilizados para avaliação do controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em plantas de soja. Londrina, PR, 2013.

| TRATAMENTOS                    | IDENTIFICAÇÃO |
|--------------------------------|---------------|
| <i>Stachylidium bicolor</i>    | STB           |
| <i>Pithomyces chartarum</i>    | PIC           |
| <i>Myrothecium</i> sp.         | MY            |
| <i>Stachybotrys globosa</i>    | STG           |
| <i>Memnoniella echinata</i>    | MEE           |
| <i>Memnoniella levispora</i>   | MEL           |
| <i>Curvularia eragrostidis</i> | CUE           |
| <i>Curvularia inaequalis</i>   | CUI           |
| Batata-dextrose                | BD            |
| Acibenzolar-S-Metilíco         | Bion          |
| Testemunha                     | Test          |

Para o cultivo dos fungos sapróbios, dois discos de micélio com 5 mm de diâmetro foram retirados da borda de colônias com um mês de desenvolvimento e transferidos para o interior de erlenmeyers contendo 100 mL de meio líquido batata-dextrose (BD). As culturas foram mantidas sobre bancada sem agitação em câmara climatizada a 25 °C por sete dias. Decorrido esse período, foram adicionados 100 mL de água destilada e esterilizada às culturas dos fungos. A suspensão foi homogeneizada com liquidificador e utilizada para aplicação nas plantas de soja. Para o tratamento com Bion, a dosagem utilizada foi equivalente a 7,5 g i.a/ha.

O inóculo de *S. sclerotiorum* foi obtido mediante cultura em meio BDA (dez placas) por três dias a temperatura de 20 °C e fotoperíodo 12/12 horas de luz e escuro.

A aplicação dos tratamentos foi realizada no dia 22/04/2013, utilizando-se um chumaço de algodão embebido na suspensão e delicadamente friccionado sobre as superfícies abaxial e adaxial das folhas das plantas. Em todos os tratamentos adicionou-se uma gota por L do espalhante Tween 20.

Três dias após a aplicação dos tratamentos, as plantas, em estágio R1, foram inoculadas com o fungo fitopatogênico *S. sclerotiorum*. Para a inoculação, a base de ponteiros de micropipetas (200 µL) foi utilizada para retirar o inóculo das colônias de *S. sclerotiorum* das placas de Petri. Essas ponteiros com o inóculo na

base foram colocadas nas hastes de soja cortadas 0,5 cm acima da última inserção foliar totalmente expandida (5-6º trifólio) com uma tesoura estéril.

Após a inoculação com *S. sclerotiorum*, as plantas foram transferidas para câmara de crescimento tipo fitotron (Figura 1) com temperatura controlada a  $20\pm 1$  °C, fotoperíodo de 12 h e mantidas nessa condição por sete dias. Durante as primeiras 48 h, as plantas inoculadas e controle foram pulverizadas com água visando a manutenção da umidade e propiciar o desenvolvimento dos sintomas da doença.

**Figura 1** – Câmaras de crescimento (fitotron) onde as plantas de soja foram mantidas após inoculação com *S. sclerotiorum*.



Aos 8, 14 e 21 dias após a inoculação (DAI) foram realizadas medições do comprimento das lesões causadas por *S. sclerotiorum*. O comprimento da lesão (cm) foi medido a partir da extremidade da haste onde se encontrava a ponteira, com o auxílio de uma régua.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os dados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

### 3.4.3 Efeito de Fungos Sapróbios sobre o Desenvolvimento Vegetativo de Plantas de Soja

Dois ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições por

tratamento. Os tratamentos, o cultivo dos fungos sapróbios, o preparo das suspensões fúngicas e a aplicação dos tratamentos nas plantas de soja, foram realizados de acordo com a metodologia descrita no item 3.4.2.

Para ambos ensaios, cinco sementes de soja da cultivar BMX Potência RR foram semeadas em vasos de 5 L contendo areia e solo (na proporção 3:1) e, adubação de 30 g de NPK (4-14-08). A semeadura foi realizada em 24/07/13 e 04/09/13 para os ensaios 1 e 2 respectivamente. O desbaste foi realizado aos quinze dias após a semeadura, com o auxílio de tesoura de poda, deixando-se duas plantas/vaso.

A aplicação dos tratamentos foi realizada no dia 19/09/2013 (ensaio 1) e 24/10/13 (ensaio 2). A reaplicação dos tratamentos foi realizada uma semana após a primeira aplicação utilizando-se a mesma metodologia empregada anteriormente. Aos 21 dias após a primeira aplicação, quando as plantas se encontravam em estágio R1, realizou-se a coleta das plantas para determinação do comprimento e massa de raízes e parte aérea.

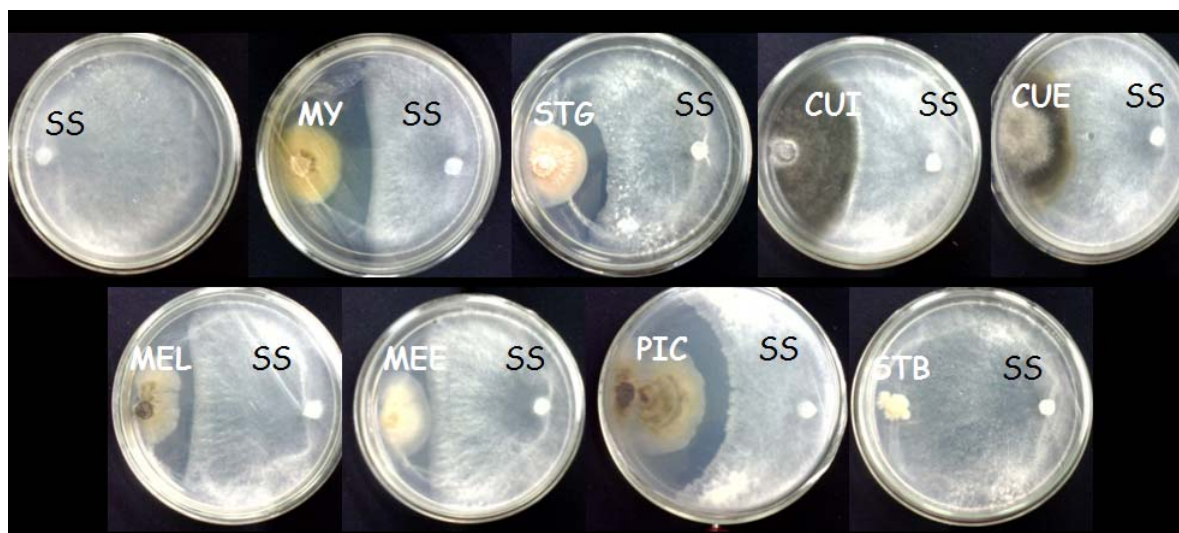
A determinação do comprimento (cm) foi realizada para a raiz principal e parte aérea separadamente com o auxílio de régua milimetrada. Para a determinação do peso fresco (g), as raízes foram lavadas em água corrente delicadamente para retirar o excesso de solo. Após a obtenção da massa fresca as plantas foram mantidas em estufa a 50 °C durante três dias para a obtenção da massa seca (g). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os dados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.5.1 Teste de Antagonismo

Os resultados indicaram que o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, em cultivo pareado, foi afetado pela presença dos isolados de fungos sapróbios avaliados (Figura 2, Tabela 2).

**Figura 2** – Desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum* (SS) em teste de antagonismo (confrontação direta) com fungos sapróbios: *Myrothecium* sp. (MY), *Stachybotrys globosa* (STG), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Memnoniella levispora* (MEL), *Memnoniella echinata* (MEE), *Pithomyces chartarum* (PIC) e *Stachylidium bicolor* (STB) quatro dias após a repicagem de *S. sclerotiorum*.



O isolado de maior efeito antagônico em todos os ensaios/avaliações foi MY, sendo que para o ensaio 1 os isolados PIC, STG e MEL também apresentaram maior efeito antagônico. Para o ensaio 2, além de MY, os isolados PIC, STG e MEE apresentaram maior efeito antagônico na primeira avaliação, entretanto, dentre eles, somente MEE manteve a inibição do crescimento micelial de *S. Sclerotiorum* na avaliação seguinte. No ensaio 3, além de MY, os tratamentos com isolados de PIC, STG, MEE, MEL e STB inibiram o crescimento micelial do fitopatógeno na primeira avaliação, sendo a inibição não duradoura para o isolado STB, uma vez que na avaliação seguinte este não diferiu da testemunha.

Segundo Ahmed et al (2003) metabólitos com efeito fungistático difundido no meio de cultura, são responsáveis pela inibição do crescimento do micélio além de promover a desorganização de células e a lise de hifas de alguns fungos.

**Tabela 2** – Halo (cm) de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em cultivo pareado com isolados de fungos sapróbios *in vitro*. Londrina-PR, Ago- Out,2013.

| Tratamento         | E1A1 <sup>(1)</sup>                           | E1A2  | E2A1  | E2A2   | E3A1   | E3A2   |
|--------------------|---|-------|-------|--------|--------|--------|
|                    | Halo de inibição do crescimento micelial (cm) |       |       |        |        |        |
| PIC <sup>(2)</sup> | 0,7 b <sup>(3)</sup>                          | 0,7 b | 0,7 b | 0,4 bc | 1,4 ab | 1,5 ab |
| MY                 | 1,4 a   | 1,4 a | 2,2 a | 1,9 a  | 2,6 a  | 2,2 a  |
| CUI                | 0,0 d   | 0,0 d | 0,0 c | 0,0 d  | 0,0 c  | 0,0 c  |
| CUE                | 0,0 d   | 0,0 c | 0,0 c | 0,2 cd | 0,3 c  | 0,2 c  |
| STG                | 0,5 bc  | 0,5 b | 0,8 b | 0,3 bc | 1,2 ab | 1,1 b  |
| MEE                | 0,0 d   | 0,0 c | 0,9 b | 0,6 b  | 2,1 ab | 1,2 b  |
| MEL                | 0,6 bc  | 0,6 b | 0,2 c | 0,0 d  | 2,0 ab | 1,1 b  |
| STB                | 0,3 c   | 0,0 c | 0,0 c | 0,0 d  | 1,1 b  | 0,0 c  |
| TEST               | 0,0 d   | 0,0 c | 0,0 c | 0,0 d  | 0,0 c  | 0,0 c  |
| CV (%)             | 31,4  | 26,3  | 34,5  | 37,7   | 27,8   | 21,1   |

(1) E refere-se ao ensaio e A a avaliação (A1- 4 dias após repicagem; A2 - 7dias após repicagem)

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragros Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL), *Stachydidium bico Testemunha* (TEST).

(3) Médias seguidas de mesma letra não diferem na coluna pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Balbi-Peña et al. (2012) realizaram teste de cultura pareada com fungos sapróbios e *Sclerotinia sclerotiorum* em três meios de cultura diferentes (batata-dextrose-ágar; cenoura-ágar e meio mínimo de Pontecorvo) e observaram que *Dictyochaeta simplex*, *Stachybotrys nephrosfora*, *Stachybotrys globosa*, *Memnoniella levispora* e *Memnoniella echinata* inibiram o crescimento micelial do patógeno em pelo menos 2 dos 3 meios testados. No presente ensaio, embora os tratamentos com *Stachybotrys globosa*, *Memnoniella levispora* e *Memnoniella echinata* tenham inibido o crescimento micelial em porcentagens variando de 27,3 a 43,2% (Tabela 2) estes não foram os tratamentos com maior efeito antagônico observado.

Silva et al. (2012) avaliaram o potencial antagônico dos fungos sapróbios *Curvularia inaequalis* (CUI), *Dictyochaeta simplex* (DIS), *Gonytrichum macrocladum* (GOM), *Memnoniella echinata* (MEE), *Pseudobotrytis terrestris* (PST), *Stachybotrys globosa* (STG) e *S. nephrosfora* (STN) contra *Elsinoe ampelina*, causador da antracnose da videira e, observaram que em meio BDA o sapróbio MEE produziu halo de 7,10mm, enquanto que o STG apenas 1,27mm.

Alencar et al (2012) avaliando o potencial antagônico de *Curvularia eragrostidis*, *C. inaequalis*, *Memnoniella echinata*, *M. levispora*, *Stachybotrys*

*globosa*, *S. nephosfera*, *Pithomyces chartarum* e *Pseudobotrytis terrestris* sobre *Septoria lycopersici* observaram que *C. eragrostidis* inibiu em 20,9% o crescimento micelial do fitopatógeno. Os fungos *M. levispora*, *S. nephrosfora* e *S. globosa* apresentaram halo de inibição quando confrontados com o fitopatógeno.

### 3.5.2 Teste de Antibiose de Metabólitos Voláteis

Não foi verificado efeito de metabólitos voláteis produzidos por fungos sapróbios sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em nenhum dos ensaios realizados (dados não mostrados). Todas as placas foram cobertas completamente pelas estruturas do fungo, demonstrando que os fungos sapróbios utilizados não produziram voláteis tóxicos a *S. sclerotiorum*.

Os resultados obtidos corroboram Mello et al. (2012) que avaliaram o potencial de antagonismo exercido por fungos sapróbios do semi-árido sobre *S. sclerotiorum* pela produção de compostos voláteis e verificaram que o crescimento micelial e a formação de escleródios de *S. sclerotiorum* não foram afetados pela utilização dos fungos sapróbios.

Vale ressaltar que de acordo com Macedo et al. (2007), os metabólitos encontrados sob condições controladas podem se distinguir funcional e quantitativamente daqueles presentes em campo, devido a diversos fatores: variação das condições abióticas, como temperatura e umidade; condições nutricionais; e adsorção das moléculas por partículas do solo. Além disso, a ação antagonista pode resultar do efeito sinergista resultante de dois ou mais mecanismos agindo simultaneamente. Assim, faz-se necessário avaliar os isolados em casa-de-vegetação e campo para verificar a efetividade do controle verificado *in vitro*.

### 3.5.3 Teste de Antibiose com Metabólitos Não-Voláteis

Os ensaios mostraram que o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foi afetado pelos filtrados de culturas fúngicas utilizados. Para alguns fungos, observou-se diferença estatística entre as doses de filtrados acrescentadas no meio. Com exceção de STG e STB, houve diferença de crescimento entre os tratamentos com diferentes concentrações dos filtrados incorporados e entre estes e a testemunha (sem filtrado). No ensaio 1, não foram observadas diferenças entre os

isolados e entre as doses, uma vez que todos os tratamentos em todas as concentrações atingiram o diâmetro total da placa na última avaliação (dados não mostrados).

Para o ensaio 2, o efeito das concentrações utilizadas se manteve até a última avaliação, à exceção dos tratamentos STB e STG, para os quais não foi observada diferença significativa entre as doses. Os tratamentos com filtrados de PIC (concentrações 4 e 6% v/v), MY (6 e 10% v/v), CUI (8% v/v), CUE (8% v/v) e MEE (4% v/v) foram eficientes na redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (Tabela 3).

**Tabela 3** – Crescimento micelial (cm) de *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura adicionado de diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10%) de filtrado de culturas fúngicas. Londrina-PR, Ago- Out, 2013.

| Tratamento         | Concentração (% v/v)  |        |          |        |        |          |
|--------------------|-----------------------|--------|----------|--------|--------|----------|
|                    | 0                     | 2      | 4        | 6      | 8      | 10       |
|                    | E2A3 <sup>(1)</sup>   |        |          |        |        |          |
| PIC <sup>(2)</sup> | 9,0 Ab <sup>(3)</sup> | 9,0 Ab | 4,8 Aa   | 5,1 Aa | 9,0 Bb | 8,2 ABb  |
| MY                 | 9,0 Ac                | 9,0 Ac | 8,5 BCbc | 6,8 Ba | 9,0 Bc | 7,2 Aab  |
| CUI                | 9,0 Ab                | 9,0 Ab | 9,0 Cb   | 9,0 Cb | 6,7 Aa | 9,0 Bb   |
| CUE                | 9,0 Ab                | 9,0 Ab | 8,0 BCb  | 9,0 Cb | 5,5 Aa | 9,0 Bb   |
| STG                | 9,0 Aa                | 9,0 Aa | 9,0 Ca   | 9,0 Ca | 9,0 Ba | 9,0 Ba   |
| MEE                | 9,0 Ab                | 9,0 Ab | 7,3 Ba   | 9,0 Cb | 9,0 Bb | 8,2 ABab |
| STB                | 9,0 Aa                | 9,0 Aa | 9,0 Ca   | 9,0 Ca | 9,0 Ba | 9,0 Ba   |
| CV (%)             | 9,2                   |        |          |        |        |          |

(1) E refere-se ao ensaio e A a avaliação (avaliação realizada aos três dias após a repicagem)

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Stachylidium bicolor* (STB).

(3) Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem na linha e maiúscula na coluna pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Na concentração 2 % não houve diferença significativa entre os tratamentos com fungos sapróbios. O tratamento PIC diferiu significativamente dos demais nas concentrações 4% e 6%. CUI e CUE mostraram-se eficientes na redução do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* na concentração 8%. Na concentração 10%, MY diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 3).

Calvo et al. (2012), avaliando o efeito de metabólitos não voláteis produzidos por fungos sapróbios sobre *S. sclerotiorum*, observaram que o sapróbio *Phitomyces chartarum* inibiu o crescimento micelial do fitopatógeno em 70,4 e 61,8%

nas concentrações 2% e 0,2% respectivamente. *Curvularia eragrostidis* e *Memnoniella levispora* não apresentaram efeito inibitório na concentração de 0,2%.

A velocidade do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (IVCM) foi afetada pelos filtrados de culturas fúngicas utilizados. Houve diferença significativa entre os tratamentos e entre as doses (Tabela 4).

**Tabela 4** – Índice de velocidade do crescimento micelial (mm/dia) de *Sclerotinia sclerotiorum* em meio de cultura adicionado de diferentes concentrações (0, 2, 4, 6, 8 e 10%) de filtrado de culturas fúngicas. Londrina-PR, Ago-Out,2013.

| Tratamento | Concentração (% v/v) |          |           |           |           |           |
|------------|----------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|            | 0                    | 2        | 4         | 6         | 8         | 10        |
| PIC        | 4,72 BCa             | 5,34 Cb  | 2,54 Aa   | 2,78 Aa   | 5,24BC c  | 4,44 Bab  |
| MY         | 4,74 ABa             | 4,86 Ba  | 4,38 ABbc | 3,74 Ab   | 4,68 ABbc | 3,72 Aa   |
| CUI        | 4,74 Ba              | 4,86 Ba  | 4,58 Bbc  | 4,62 Bc   | 3,58 Aab  | 4,46 Bab  |
| CUE        | 4,74 Ba              | 5,02 Bab | 4,22 Bbc  | 4,40 Bbc  | 3,06 Aa   | 4,36 Bab  |
| STG        | 4,74 ABCa            | 5,02 Cab | 4,68 ABbc | 4,58 Ac   | 4,94 BCc  | 4,68 ABb  |
| MEE        | 4,74 BCa             | 5,14 Cab | 3,92 Ab   | 4,64 ABCc | 4,88 BCc  | 4,26 ABab |
| STB        | 4,74 Aa              | 5,18 Bab | 5,00 ABc  | 4,70 Ac   | 4,68 Abc  | 4,68 Ab   |
| C.V. (%)   | 2,82                 | 4,04     | 11,84     | 9,78      | 13,49     | 10,46     |

(1) E refere-se ao ensaio e A a avaliação (avaliação aos três dias após a repicagem de *S. sclerotiorum*)

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia e ragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE) e *Stachydidium bicolor* (STB)

(3) Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem na linha e minúscula na coluna pelo teste

Tukey a 5% de probabilidade

Em relação ao efeito das concentrações testadas, observou-se para o ensaio 2 que o tratamento PIC reduziu a velocidade do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em relação a testemunha nas concentrações 4 e 6%. Para os tratamentos CUI e CUE a redução foi verificada na concentração 8%. A concentração 4% foi eficiente na redução do crescimento micelial para o tratamento MEE. Para o tratamento STB a concentração 2% aumentou a velocidade do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em relação a testemunha (Tabela 4).

Os tratamentos MY e CUI diferiram significativamente do tratamento PIC na concentração 2%. PIC mostrou-se eficiente na redução da velocidade do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* nas concentrações 4% e 6% em relação aos demais tratamentos. Na concentração 8% CUE e CUI diferiram estatisticamente dos

demais tratamentos. Os tratamento MY e STB diferiram significativamente entre si na concentração 10% (Tabela 4).

### 3.5.4 Formação de Escleródios nos Testes de Metabólitos Voláteis e Antagonismo

Embora não tenha sido observado efeito de metabólitos voláteis no crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (dados não mostrados), o isolado MY reduziu a formação de escleródios em relação à testemunha para o segundo ensaio (Tabela 5).

**Tabela 5** – Efeito de fungos sapróbios sobre o número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* formados em ensaios de metabólitos voláteis e antagonismo. Londrina-PR, Ago- Out, 2013.

| Tratamento         | Número de escleródios formados |        |                   |                     |         |       |
|--------------------|--------------------------------|--------|-------------------|---------------------|---------|-------|
|                    | EV <sup>(1)</sup> 1            | EV2    | EV3               | EA <sup>(2)</sup> 1 | EA2     | EA3   |
| PIC <sup>(3)</sup> | 1,7 ab <sup>(4)</sup>          | 1,2 ab | 0,0 <sup>ns</sup> | 1,8 <sup>ns</sup>   | 2,6 abc | 0,6 a |
| MY                 | 1,0 a                          | 0,0 a  | 0,0               | 0,0                 | 0,2 a   | 0,2 a |
| CUI                | 1,0 a                          | 2,8 ab | 1,0               | 2,6                 | 5,8 c   | 0,0 a |
| CUE                | 1,0 a                          | 2,4 ab | 0,6               | 2,2                 | 6,6c    | 0,0 a |
| STG                | 1,0 a                          | 1,8 ab | 0,0               | 2,6                 | 5,4 bc  | 0,8 a |
| MEE                | 1,9 b                          | 1,2 ab | 0,8               | 0,2                 | 2,4 abc | 0,0 a |
| MEL                | 1,1 ab                         | 1,8 ab | 0,0               | 0,8                 | 1,0 ab  | 0,4 a |
| STB                | 1,1 ab                         | 1,2 ab | 0,0               | 4,0                 | 4,4 bc  | 0,6 a |
| TEST               | 1,5 ab                         | 3,8 b  | 0,0               | 2,2                 | 0,0 a   | 2,6 b |
| CV (%)             | 33,68                          | 34,97  | 29,64             | 38,14               | 28,99   | 19,62 |

Dados transformados: Raiz quadrada de  $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$

(1) EV: Ensaio Voláteis

(2) EA: Ensaio antagonismo

(3) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI),

*Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memmoniella echinata* (MEE),

*Memmoniella levispora* (MEL), *Stachylidium bicolor* (STB) e Testemunha (TEST).

(4) Médias seguidas de mesma letra não diferem na coluna pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Quando em cultivo pareado, os isolados de fungos sapróbios estudados não reduziram a formação de escleródios de *S. sclerotiorum* nos ensaios 1 e 2, sendo a redução observada apenas para o ensaio 3, quando todos os tratamentos utilizados reduziram a formação de escleródios em relação à testemunha (Tabela 5). Os tratamentos CUI, CUE e MEE reduziram a formação de escleródios em 100%. O tratamento MY apresentou redução de 92,3%, seguido dos

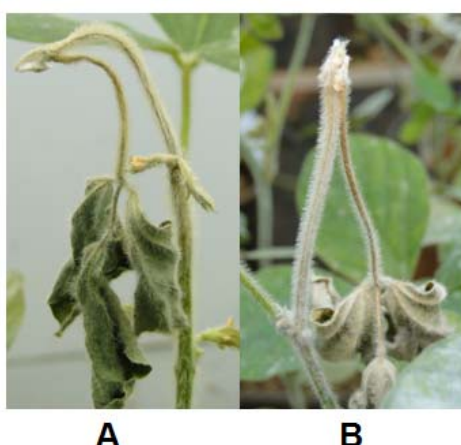
tratamentos MEL, PIC, STB e STG que reduziram a formação de escleródios em 84,6%, 76,9%, 76,9% e 69,2% respectivamente.

Balbi-Peña et al. (2012) também avaliaram a influência de fungos sapróbios sobre a formação de escleródios de *S. sclerotiorum* em teste de confrontação direta e observaram que *M. levispora* e *M. echinata* inibiram a formação de escleródios em 55,7% e 57% respectivamente, apresentando potencial de utilização como biocontroladores de *S. sclerotiorum* uma vez que, os escleródios constituem importantes estruturas que atuam como fonte de inóculo no ciclo da doença.

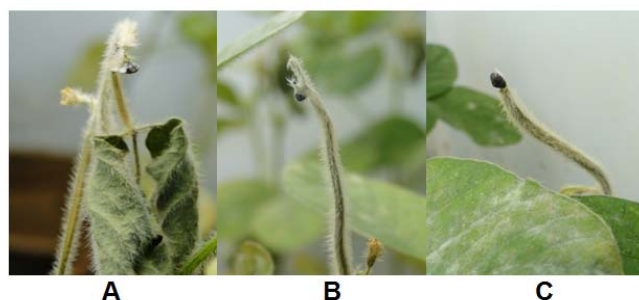
### 3.5.5 Fungos Sapróbios no Controle do Mofo-Branco em Plantas de Soja

No ensaio realizado *in vivo*, as lesões observadas nas hastes principais apresentaram coloração palha e o tecido do caule afetado mostrou-se oco e quebradiço. Na primeira avaliação, as folhas apresentaram-se murchas e na segunda avaliação muitas delas já estavam secas e quebradiças (Figura 3). Em algumas plantas já na primeira avaliação foi possível observar a formação de escleródios (Figura 4).

**Figura 3** – Aspecto de folhas (A) e lesões provocadas pela inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* (B) em plantas de soja.



**Figura 4** – Escleródios desenvolvidos aos 8 dias após a inoculação (DAI) de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja tratadas com *Memnoniella echinata* (A), *Curvularia inaequalis* (B) e Acibenzolar-S-Metilíco (C).



O comprimento da lesão provocada por *S. sclerotiorum* foi afetado pelo tratamento com fungos sapróbios, quando aplicados anteriormente à inoculação com *S. sclerotiorum* (Tabela 6).

**Tabela 6** – Comprimento médio da lesão (cm), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e porcentagem de redução do comprimento da lesão em plantas de soja tratadas com fungos sapróbios, Acibenzolar-S-Metilíco e meio líquido batata-dextrose e inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*. Londrina-PR. Mar-Mai, 2013.

| Tratamento         | Comprimento da lesão (cm) |        |        | AACPD  | % Redução aos 21 DAI |
|--------------------|---------------------------|--------|--------|--------|----------------------|
|                    | 8 DAI <sup>(1)</sup>      | 14 DAI | 21 DAI |        |                      |
| PIC <sup>(2)</sup> | 2,5 ab <sup>(3)</sup>     | 3,5 a  | 3,8 a  | 3,1 ab | 61,6                 |
| MY                 | 0,7 a                     | 2,1 a  | 3,0 a  | 1,7 a  | 70,0                 |
| CUI                | 4,5 ab                    | 5,9 a  | 7,3 a  | 5,5 ab | 27,4                 |
| CUE                | 1,8 ab                    | 2,2 a  | 3,1 a  | 2,2 ab | 69,0                 |
| STG                | 4,6 ab                    | 6,6 a  | 8,1 a  | 4,1 ab | 19,1                 |
| MEE                | 2,9 ab                    | 3,7 a  | 5,0 a  | 3,6 ab | 50,2                 |
| MEL                | 5,0 ab                    | 6,5 a  | 7,9 a  | 6,1 ab | 21,0                 |
| STB                | 3,9 ab                    | 6,4 a  | 8,2 a  | 5,7 ab | 18,4                 |
| BD                 | 3,4 ab                    | 5,7 a  | 7,5 a  | 5,1 ab | 25,4                 |
| BION               | 5,4 ab                    | 6,9 a  | 8,5 a  | 6,5 ab | 14,9                 |
| TEST               | 5,8 b                     | 8,0 a  | 10,0 a | 7,4 b  | 0,0                  |
| CV (%)             | 29,8                      | 29,5   | 29,4   | 29,1   | -                    |

Dados transformados em "(x+k)<sup>1/2</sup>" com k = 0,1

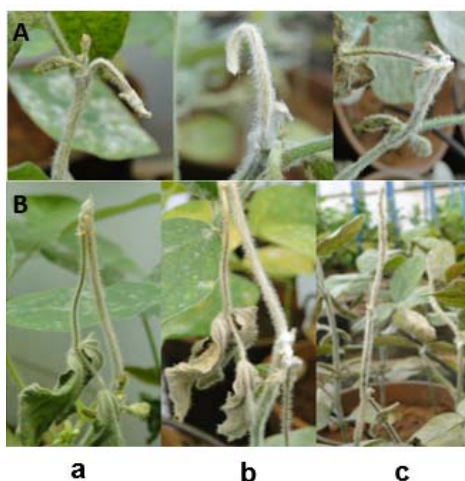
(1) DAI: dias após a inoculação

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL), *Stachylidium bicolor* (STB), meio líquido batata-dextrose (BD), Acibenzolar- S- Metilíco (BION) e Testemunha (TEST).

(3) Médias seguidas de mesma letra não diferem na coluna

O tratamento com MY foi o único que diferiu estatisticamente da testemunha na primeira avaliação. Nas avaliações seguintes, não houve diferença significativa. Contudo, embora o tratamento MY não tenha apresentado diferença significativa nas avaliações seguintes, foi o único tratamento que diferiu estatisticamente da testemunha quando analisada a AACPD (Tabela 6). O tratamento MY reduziu o comprimento da lesão em 70% em relação à testemunha (Figura 5).

**Figura 5** – Lesões provocadas pela inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* aos 8 DAI (a), 14 DAI (b) e 21 DAI (c) em plantas de soja tratadas com *Myrothecium* sp. (A) e plantas de soja não tratadas com fungos sapróbios (B).



Essa observação pode sugerir que o tratamento utilizado proporcionou o controle da doença em um momento inicial, mas, essa proteção não foi duradoura, tornando-se menos efetiva à medida que a doença se desenvolvia, sendo, entretanto, suficiente para retardar o seu progresso em relação à testemunha. A reaplicação do tratamento poderia proporcionar maior proteção, tal como se observa quando da utilização de produtos químicos, para os quais normalmente ocorre a necessidade de mais de uma aplicação durante o ciclo da doença.

Outros trabalhos com a utilização de fungos do gênero *Myrothecium* spp. contra fungos patogênicos tem sido realizados e, algumas dessas pesquisas têm obtido bons resultados. Como por exemplo o trabalho de Gees; Coffey (1989) que avaliaram o potencial de uma estirpe de *Myrothecium roridum* como agente de

biocontrole contra *Phytophthora cinnamomi* obtendo total inibição da germinação dos zoósporos.

Lian et al. (2008) demonstraram que dois tricotecenos antifúngicos, roridina A e roridina D, produzidos pelo fungo *Myrothecium* sp. isolado a partir da esponja marinha (*Axinella* sp) apresentaram potencial para utilização como inibidores contra o patógeno de plantas *S. sclerotiorum*.

Liu et al. (2006) estudaram o efeito de metabólitos produzidos por *Myrothecium* sp. sobre os fungos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton rubrum* e demonstraram que os metabólitos fúngicos roridina A e 8 $\beta$ -acetoxy-roridina H foram fortemente bioativos contra os três fungos, apresentando índices de controle próximos ao cetoconazol, usado como controle positivo. Considerando que *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton rubrum* são patógenos humanos oportunistas dos mais comuns, a importância dos metabólitos produzidos por fungos do gênero *Myrothecium* vai além do seu potencial na produção agrícola.

Marba et al. (2012), avaliando o efeito de *Stachybotrys globosa*, *Stachybotrys nephrospora* e *Memnoniella echinata* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, observaram que *M. echinata* apresentou efeito significativo no controle de *C. gloeosporioides* em uvas inoculadas e naturalmente infectadas.

### 3.5.6 Efeito de Fungos Sapróbios sobre o Desenvolvimento Vegetativo de Plantas de Soja

#### 3.5.6.1 Parte aérea

Não foi observado efeito da aplicação de fungos sapróbios sobre o comprimento e massa de parte aérea nas plantas de soja em nenhum dos ensaios realizados (Tabela 7). Entretanto, há relatos de fungos utilizados no controle de doenças que exercem promoção do crescimento de plantas.

Carvalho Filho et al. (2008), por exemplo, avaliando isolados de *Trichoderma* spp. quanto à promoção de crescimento, produção de ácido indolacético e capacidade de colonização de mudas de eucalipto, observaram que os incrementos médios em plantas tratadas com *Trichoderma* spp. chegaram a 136% da massa seca de raiz e parte aérea em relação à testemunha. *T. harzianum*

diferiu significativamente de todos os isolados resultando em um aumento médio de altura de 43% em relação à testemunha. As plantas tratadas com *Trichoderma asperellum*, *T. pseudokoningii* e *T. atroviride* mostraram-se em média, 22,7% maiores do que a testemunha.

**Tabela 7** – Efeito de fungos sapróbios, meio líquido batata-dextrose e Acibenzolar-S-Metílico (Bion), sobre o comprimento e massa da parte aérea de plantas de soja. Londrina-PR. Set-Nov, 2013.

| Tratamento         | Comprimento (cm)   |                    | Massa fresca (g)  |                   | Massa seca (g)    |                   |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                    | E <sup>(1)</sup> 1 | E2                 | E1                | E2                | E1                | E2                |
| PIC <sup>(2)</sup> | 17,3 <sup>ns</sup> | 32,6 <sup>ns</sup> | 3,0 <sup>ns</sup> | 8,6 <sup>ns</sup> | 0,8 <sup>ns</sup> | 2,2 <sup>ns</sup> |
| MY                 | 18,4               | 29,3               | 3                 | 6,5               | 0,9               | 1,6               |
| CUI                | 19,3               | 32,2               | 3,6               | 8,2               | 0,9               | 2,2               |
| CUE                | 17                 | 29,9               | 3,1               | 6,9               | 0,8               | 1,7               |
| STG                | 19,8               | 33,3               | 2,8               | 8,6               | 0,8               | 2,3               |
| MEE                | 19                 | 32,4               | 3,8               | 7,8               | 1                 | 2,2               |
| MEL                | 17,1               | 35,3               | 2,9               | 9,5               | 0,8               | 2,6               |
| STB                | 19,7               | 31,3               | 3                 | 7                 | 0,8               | 1,8               |
| BD                 | 18,5               | 29,8               | 3,1               | 6,6               | 0,9               | 1,7               |
| BION               | 18,6               | 33,3               | 3,2               | 8                 | 0,8               | 2,3               |
| TEST               | 18,9               | 33,6               | 2,9               | 8                 | 0,7               | 2,1               |
| CV (%)             | 14                 | 10,7               | 18,9              | 25,9              | 16,1              | 24,8              |

(1) E refere-se ao ensaio

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memmoniella echinata* (MEE), *Memmoniella levispora* (MEL), *Stachylidium bicolor* (STB), meio líquido batata-dextrose (BD), Acibenzolar-S-Metílico (BION) e Testemunha (TEST).

ns: Não significativo

Prates, Lavres Junior e Rossi (2007) observaram que a aplicação de *Trichoderma* spp. no substrato para produção de mudas cítricas propiciou maior massa seca de folhas das mudas de Pera/Limão-cravo. A parte aérea das mudas tratadas com o fungo antagonista mostrou-se mais vigorosa, apresentando maior enfolhamento e com coloração verde mais intensa.

Botrel (2013), observou que *M. levispora* e *M. echinata*, utilizados no tratamento curativo da mancha aureolada do cafeeiro, além de reduzir a AACPD em relação à testemunha, também aumentaram a massa seca das folhas das mudas (31 e 62% respectivamente). O tratamento curativo revelou que *Curvularia eragrostidis* e *Gonytrichum clamidosporium* aumentaram a AACPD e reduziram o tamanho das mudas, favorecendo a doença.

### 3.5.6.2 Raízes

Não houve efeito da utilização de fungos sapróbios sobre o comprimento das raízes de plantas de soja em nenhum dos ensaios realizados. No segundo ensaio, porém, observou-se diferença significativa entre os tratamentos MY e MEL para a massa de raízes, sendo que o tratamento MY resultou nos menores valores para massa fresca e seca das raízes, enquanto que os maiores valores foram observados para o tratamento MEL (Tabela 8).

**Tabela 8** – Efeito de fungos sapróbios, meio líquido batata-dextrose e Acibenzolar-S-Metílico (Bion), sobre o comprimento e massa de raízes de plantas de soja. Londrina-PR. Set-Nov, 2013.

| Tratamento         | Comprimento (cm)   |                    | Peso fresco (g)   |        | Peso seco (g)     |        |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------|-------------------|--------|
|                    | E <sup>(1)</sup> 1 | E2                 | E1                | E2     | E1                | E2     |
| PIC <sup>(2)</sup> | 38,6 <sup>ns</sup> | 45,4 <sup>ns</sup> | 3,5 <sup>ns</sup> | 4,0 ab | 0,5 <sup>ns</sup> | 0,7 ab |
| MY                 | 39,3               | 42,3               | 2,5               | 2,5 a  | 0,4               | 0,5 a  |
| CUI                | 47,4               | 48,3               | 2,9               | 4,2 ab | 0,4               | 0,7 ab |
| CUE                | 43,7               | 49,1               | 2,7               | 5,0 ab | 0,4               | 0,7 ab |
| STG                | 40,9               | 47,0               | 2,5               | 3,8 ab | 0,4               | 0,7 ab |
| MEE                | 42,0               | 44,4               | 3,5               | 4,0 ab | 0,4               | 0,7 ab |
| MEL                | 41,5               | 45,2               | 2,6               | 5,34 b | 0,4               | 0,8 b  |
| STB                | 43,5               | 41,0               | 2,8               | 2,7 ab | 0,3               | 0,6 ab |
| BD                 | 45,0               | 44,1               | 3,8               | 3,8 ab | 0,4               | 0,6 ab |
| BION               | 46,4               | 43,4               | 2,6               | 4,6 ab | 0,4               | 0,7 ab |
| TEST               | 40,1               | 44,9               | 2,6               | 3,4 ab | 0,4               | 0,6 ab |
| CV (%)             | 12,2               | 12,7               | 22,4              | 29,2   | 12,9              | 19,3   |

(1) E refere-se ao ensaio

(2) *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Curvularia inaequalis* (CUI), *Curvularia eragrostidis* (CUE), *Stachybotrys globosa* (STG), *Memmoniella echinata* (MEE), *Memmoniella levispora* (MEL), *Stachylidium bicolor* (STB), meio líquido batata-dextrose (BD), Acibenzolar-S-Metílico (BION) e Testemunha (TEST).

ns: Não significativo

Prates, Lavres Junior e Rossi (2007), avaliando a composição mineral de mudas cítricas com aplicações de *Trichoderma* spp., observaram que o tratamento do substrato com *Trichoderma* spp. proporcionou às mudas maior comprimento e superfície total de raízes, o que se refletiu em maior absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, maior vigor.

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados *in vitro* permitem concluir que *Pithomyces chartarum* (PIC), *Myrothecium* sp. (MY), *Memnoniella echinata* (MEE), *Memnoniella levispora* (MEL) e *Stachybotrys globosa* (STG) apresentam potencial de utilização como biocontroladores de *Sclerotinia sclerotiorum* tendo apresentando inibição sobre *Sclerotinia sclerotiorum* em pelo menos um dos ensaios realizados.

Embora no ensaio *in vivo* apenas *Myrothecium* sp. (MY) tenha apresentado potencial de inibição do avanço da doença, novos estudos são necessários para que fungos sapróbios mais eficientes em termos de parasitismo e/ou produção de metabólitos como antibióticos e enzimas que afetam o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*, possam ser selecionados.

## REFÊRENCIAS

- ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, n.3, p.300-309, mar, 1975.
- ABIOVE: Associação Brasileira das Indústrias de Óleos vegetais. **Biodiesel: Matérias primas para produção- Dezembro 2013**. 2013. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php>>. Acesso em: 02 jan 2014.
- ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of Sclerotinia species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, p.896-899, 1979.
- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In: **Plant pathology**, 5.ed. San Diego: Academic Press, 2005.
- AHMED, A.S.; EZZIYANI, C.; SÁNCHEZ, C.P.; CANDELA, M.E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. **European Journal of Plant Pathology**, v.109, p. 633-637.2003
- ALENCAR, M.S.R.; SOLINO, A.J.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.F.; PASCHOLATI, S. F. **Antagonismo *in vitro* de fungos sapróbios a *Septoria lycopersici***. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 45. Manaus, AM. Tropical Plant Pathology. 2012. n. 38, ago. 2012.
- ALMEIDA, A.A.C de.; IZABEL, T dos S.S.; GUSMÃO, L.F.P. Fungos conidiais do bioma Caatinga I. Novos registros para o continente americano, Neotrópico, América do Sul e Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro v.62, n. 2, p. 043-053, abr/jun. 2011.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; 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. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4a Ed., Vol. 2, São Paulo - SP: Editora Agronômica Ceres Ltda. 663p. 2005.p. 569-588.
- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S.F. Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4a Ed., Vol. 1, São Paulo SP: Editora Agronômica Ceres Ltda. 704p. 2011.p. 59-99.
- AZEVEDO, J. L. **A pesquisa agropecuária no Brasil**. Série Ciência e Tecnologia no Brasil, Escola de Administração de Empresas de São Paulo/FVG, p. 63, 1993.
- BALBI-PEÑA, M.I.; MELLO, F.E.; PEITL, D.C.; CALVO, N.S.; ARAUJO, F.A.; SUMIDA C.H. **Teste de confrontação direta entre fungos sapróbios e *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes meios de cultura**. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 45. Manaus, AM. Tropical Plant Pathology. 2012. n. 38, ago. 2012.

BARBOSA, F.R.; GUSMÃO, L.F.P. Conidial fungi from semi-arid Caatinga Biome of Brazil. Rare freshwater hyphomycetes and other new records. **Mycosphere**, v.2, n.4, p.475–485, 2011.

BARDIN, S.D.; HUANG, H.C. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.23, p.88 - 98, 2001.

BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHABELL, D.K.; WELLS, C.R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v.72, n.4, p.379-382, 1982.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; PAULA JÚNIOR, T.J de. CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Saint Paul, v.16, n. 2, p. 93-108, 1994.

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

BORÉM, A. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. **Biociência & Desenvolvimento**, v. 10, p. 101-107, 1999.

BOTREL, D.A. **Fungos sapróbios como agentes de biocontrole da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) no cafeeiro**. 2013. 58 fls. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia, controle biológico) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2013.

BRASIL. MAPA: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Soja**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em: 20 jul. 2013.

BROAD INSTITUTE. ***Sclerotinia sclerotiorum* Database**. Disponível em: <[http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/sclerotinia\\_sclerotiorum/MultiHome.html](http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/sclerotinia_sclerotiorum/MultiHome.html)>. Acesso em: 02 jul 2012.

CALVO, N.S.; SUMIDA, C.H.; PEITL, D.C.; MELLO, F.E.; ARAUJO, F.A.; BALBIPEÑA, M.I. **Efeito de metabólitos não voláteis de fungos sapróbios no crescimento in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum***. Tropical Plant Pathology 38 (Suplemento), agosto 2012 .45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM.

CARDOSO, J.E. **Mofa-branco**. In: Sartorato, A. & Rava, C.A. (Eds.) Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília. EMBRAPA-SPI. 1994. pp.111-122.

CARVALHO FILHO, M.R.; MELLO, S.C.M de.; SANTOS, R.P dos.; MENÊZES, J.E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto. Brasília, DF. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, n.226. 16 p. 2008.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Grãos. v. 1 - safra 2013/2014. n. 6 - Sexto levantamento, março/2014. 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php/premiodevideospaa/docS/conteudos.php?a=1253&t>>. Acesso em: 15 mar. 2014.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Grãos safra 2012/2013. 2013. Décimo levantamento, julho/2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t>>. Acesso em: 30 jul. 2013.

DANIELSON, G.A.; NELSON, B.D.; HELMS, T.C. Effect of Sclerotinia stem rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. **Plant Disease**, v.88, n.3, p.297-300, mar. 2004.

DEL PONTE, E.M.; ALVES, R.C.; SCHNEIDER, L. **Podridão branca da haste**. In: DEL PONTE, E.M. (Ed.) Fitopatologia.net - herbário virtual. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=255>>. Acesso em: 02 jul 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2004. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2003. 242p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2005. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2004. 239p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 261p.

ETHUR, L.Z., BLUME, E., MUNIZ, M., DA SILVA, A.C.F., STEFANELO, D.R. & DA ROCHA, E.K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, vol.30, p.127-133, mar-abr. 2005.

FAEP: FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA DO ESTADO DO PARANÁ. **Sistema FAEP – Mercado de commodities**. Commodities – 11/03/2014. Disponível em: <http://commodities.sistemafaep.org.br/>. Acesso em: 12 mar. 2014.

FURLAN, S.H. **Manejo do mofo-branco na cultura da soja**. Número 111, julho 2009. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=111](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=111)>. Acesso em: 30 jul. 2013.

GEES, R. COFFEY, M. D. 1989. Evaluation of a strain of *Myrothecium roridum* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora cinnamomi*. **Phytopathology**, v.79, p. 1079-1084, 1989.

GERHARDSON, B. Biological substitutes for pesticides. **Trends in Biotechnology**, London, v. 20, n.8, p. 338-343, 2002.

GÖRGEN, C. A.; NETO, A. N. S.; CARNEIRO, L.C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1583-1590, dez. 2009.

GÖRGEN, C.A.; CIVARDI, E. A.; RAGAGNIN, V.A; SILVEIRA NETO, A.N. da; CARNEIRO, L.C.; LOBO JÚNIOR, M. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.45, n.10, p.1102-1108, out. 2010.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30. 2000 p. 155-165.

HALL, R.; STEADMAN, J.R. White mold. In: HALL, R. (Ed.) Compendium of bean diseases. Saint Paul: APS Press. 73p. 1991

HANNUSCH, D.J.; BOLAND, G.J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of White mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Phytopathology**, v. 86, n.2, p. 156-162, feb. 1996.

HARIKRISHNAN, R.; DEL RIO, L.E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**, v.90, n.7, p.946-950, jul. 2006.

HENNEBERG, L.; JACCOUD-FILHO, D. S.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PANOBIANCO, M. Importância da detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 21, n. 3, 2011.

HENNING, A.A. Importância da colheita, beneficiamento e tratamento com fungicidas na sanidade de sementes e transmissão do mofo-branco. **Resumos de Palestras: XI Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes**. v. 21, n. 3, p. 16, 2011.

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

ILLIPRONTI JUNIOR, R.A.; MACHADO, J.C. Antagonismo de fungosa *Sclerotinia sclerotiorum* em soja e feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p.162-166. 1993.

IZABEL, T dos S.S.; SANTOS, D.S.; ALMEIDA, D.A.C de.; GUSMÃO, L.F.P. Fungos conidiais do bioma Caatinga II. Novos registros para o continente americano, Neotrópico, América do Sul e Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.62, n. 2, p. 229-240, abr/jun. 2011

JACCOUD-FILHO, D. S., HENNEBERG, L., GRABICOSKI, E. M. G., VRISMAN, C. M., PIERRE, M. L. C., SARTORI, F. F., CANTELE, M. Importância do mofo-branco para a agricultura brasileira. **Resumos de Palestras: XI Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes**. v. 21, n. 3, p. 13, 2011.

LEÃO-FERREIRA, S.M.; GUSMÃO, L.F.P.; RUIZ, R.F.C. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. Three new species and new records. **Nova Hedwigia** v. 96, p. 479–494, jan.2013.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005, p.1-3 (Comunicado Técnico, 76).

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

LIAN, W. X.; SHU, M.J.; HONG, H.Z.; WEI, S.; YONG, C.O.; SHI, K.D.; XIANG, L. Potential inhibitors against *Sclerotinia sclerotiorum*, produced by the fungus *Myrothecium* sp. associated with the marine sponge *Axinella* sp. **European Journal of Plant Pathology**, v.122, n.4, p. 571-578, dec. 2008.

LIU, C. H.; HUANG, L. L.; YE, Y. H.; ZOU, W.X.; GUO, Z. J.; TAN, R. X. Antifungal and new metabolites of *Myrothecium* sp. Z16, a fungus associated with white croaker *Argyrosomus argentatus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 1, p. 195-202, jan. 2006.

LOBO JÚNIOR, M. Mofo-branco. **Boletim Passarela da soja**. Março, 2010.

LOBO JÚNIOR, M. Tratamento biológico de sementes visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Resumos de Palestras: XI Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes**. Vol, 21, nº 3, p. 16, 2011.

LU, G. Engineering *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in oilseed crops. **African Journal of Biotechnology**. v. 2, p. 509-516, dec.2003.

LUMSDEN, R.D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* sp. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p. 890-896.1979.

LYON, G.D.; NEWTON, A.C. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? **Plant Pathology**, Honolulu, v. 46, n. 5, p. 636-641, Oct. 1997.

MACEDO, M.A.; MARTINS, I.; DELGADO, G.V.; MELLO, S.C.M.; MENÊZES, J.E. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento de *Sclerotium rolfsii*. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 213**. 1ª ed. Brasília - DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 11 p. Dez. 2007.

MACHADO, A.Q.; CASSETARI NETO, D. Epidemia branca. **Cultivar Grandes Culturas**. Ano 12 n. 130, marco. p.20-23. 2010.

- MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F da.; ANTONIOLLI, Z.I. *Trichoderma* no brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, jan/jun. 2012.
- MACHADO, J.C. **Papel do inóculo de sementes na ocorrência e severidade do mofo-branco**. Resumos de Palestras: *XI Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes*. Vol, 21, nº 3, p. 14, 2011.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-177, 1962
- MARBA, L.D.; BENATO, E.A.; VALENTINI, S.R.T.; CASTRO, M.F.P.M.; PASCHOLATI, S.F. **Bioprospecção de fungos sapróbios do semi-árido nordestino para controle de *Colletotrichum sp.* em uva pós-colheita**. In: Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 6. 2012. Jagariúna-SP. Ago. 2012.
- MARIANO, R. L. R. **Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas**. Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.1, pág. 369-409, 1993.
- MASSOLA JUNIOR, N.S.; KRUGNER, T.L. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4a Ed., Vol. 1, São Paulo SP: Editora Agronômica Ceres Ltda. 704p. 2011.p. 149-206.
- MELLO, F.E.; PEITL, D.C.; SUMIDA, C.H.; CALVO, N.S.; ARAUJO, F.A.; BALBIPEÑA, M.I. **Efeito dos compostos voláteis produzidos por fungos sapróbios no crescimento *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum***. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 45. 2012. Manaus-AM. Tropical Plant Pathology, n. 38, ago. 2012.
- MENENDEZ, A.B.; GODEAS, A. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). **Mycopathologia**, Holanda, v. 142, n.3, p. 153-160, jun. 1998.
- MEYER, M.C.; NUNES JUNIOR, J.; PIMENTA.C.B. Manejo de mofo-branco em soja. In: <<http://www.ctpa.com.br/artigo/manejo-de-mofo-branco-em-soja>>. 25/03/2013. Acesso em: 31 jul 2013.
- MIZUBUTI, E.S.G.; MAFFIA, L.A. **Controle biológico**. Introdução à Fitopatologia, caderno didático. Editora UFV. 2006. 106p.
- OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas L.*) e pimentão (*Capsicum annanum L.*). **Ciência e Prática**, Lavras-MG, v.16, p. 42-47, 1992.
- OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo-branco. **Revista DBO Agrotecnologia**, Ano 2 - no 4 - Mai/Jun. 2005.
- OLIVEIRA, V. M.; SANTOS, F. M.; BISINOTO, F. F.; HAMAWAKI, O. T. Eficiência de fungicidas no controle da incidência e severidade do mofo-branco (*Sclerotinia*

*sclerotium*), na cultura da soja. **Enciclopedia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.7, n.12; 7p. 2011

PRATES, H.S.; LAVRES JUNIOR, J.; ROSSI, M.L. Composição mineral de mudas cítricas com aplicações de *Trichoderma* spp. **Boletim Informações Agronômicas**, Piracicaba, SP. n. 118. Jun. 2007.

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

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

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

SAVI, D.C. **Biodiversidade e bioprospecção de actinomicetos da planta *Vochysia divergens* (CAMBARÁ)**. 2011. 106 fls. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia Básica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

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

SILVA, C.M.DA.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; RODRIGUES, M.S.; FARIA, C.M.D.R.; PASCHOLATI, S.F. **Potencial antagônico de fungos sapróbios do Semiárido Nordeste contra *Elsinoe ampelina***. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 45. 2012. Manaus-AM. Tropical Plant Pathology, n. 38, ago. 2012.

TU, J. C. The role of white mold-infected white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds in the dissemination of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Phytopathology**, Lancaster, v. 121, n.1, p. 40-50, jan. 1988

YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.12, p.7343-7353, dec. 2003.

ZANCAN, W.L.A.; MACHADO, J. da C.; SOUSA, B.F.M de.; MATOS, C. de S. M de. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 5, p.782-789, Sept. /Oct. 2012.

ZAZZERINI, A.; TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, v. 34, n. 3, p.415- 421, sept. 1985.

ZHU, Y.; QIANG, S. *Curvularia eragrostidis*, a Promising Mycoherbicide Agent for Grass Weeds. **Pest Technology**, v. 5, p. 61-66. 2011.

ZHU, Y.; QIANG, S. Isolation, pathogenicity and safety of *Curvularia eragrostidis* isolate QZ-2000 as a bioherbicide agent for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). **Biocontrol Science and Technology**, v. 14, n.8, p. 768-782, dec. 2004.

ZHU, Y.; QIANG, S. The biological characteristics of fungus strain QZ- 2000 of *Curvularia sp.* for controlling *Digitaria sanguinalis*. **Acta Phytopathologica Sinica**, n. 6, p. 524-529, 2003.