# UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA

THALES CASSEMIRO ALVES

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE Sclerotinia sclerotiorum

#### THALES CASSEMIRO ALVES

# AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE Sclerotinia sclerotiorum

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Fernando César Juliatti

#### THALES CASSEMIRO ALVES

# AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS DE Sclerotinia sclerotiorum

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 17 de junho de 2008

Eng.Agr<sup>a</sup>. Junia Vianna Corrêa da Silva Membro da Banca Eng.Agr<sup>a</sup>. Fernanda Carvalho Barros Membro da Banca

Prof. Dr. Fernando César Juliatti Orientador

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo o Dom da vida, pela confiança que depositou em mim, quando me deu o livre arbítrio para que pudesse escolher o melhor caminho para mim e poder estar realizando um dos meus maiores sonhos, o qual irei concretizar. Agradeço aos meus pais José Carlos e Divina, almas nobres e companheiros inseparáveis, tanto na alegria quanto na tristeza, não mediram esforços para que meu sonho se tornasse realidade. A minha irmã Thaliane, a qual doou parte de sua vida, para um bem maior, acreditando que quando despertamos para um grande sonho e lançamos todas as nossas forças de nossa alma com coragem e dedicação, o universo conspira a favor. Ao meu cunhado Thyago, que se demonstrou ser uma pessoa nobre e fiel aos seus princípios, além de um grande companheiro. À Fabiana pelo carinho, palavras de conforto, dedicação, humildade, nunca medindo esforços para me ajudar. Agradeço também ao Ricelly, que contribuiu com a montagem até a conclusão do ensaio. Agradeço ao doutor Fernando César Juliatti, pela sua dedicação ao ensino e por me acolher em seu laboratório, ensinando e passando seus conhecimentos. Aos meus Avós, tios, tias, padrinhos, madrinhas, primos e primas, fica aqui o meu muito obrigado por tudo o que vocês representam em minha vida. Aos meus amigos: Thiago, Raphael, Thaísa, Jader, Felipe, Hugo Leonardo, Davi, Daniel, Danilo, Diogo, vocês foram para mim um exemplo de humildade, dedicação e amor ao próximo por isso, quero por toda a vida carregar em meus pensamentos tudo aquilo que no decorrer de nossas amizades contribuímos juntos. Enfim, gostaria de finalizar agradecendo a todos os professores que contribuíram para a minha formação; as secretárias Joana e Jose; aos companheiros do Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas, em especial ao Roberto e a todos os colegas da 36ª Turma do Curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia.

#### **RESUMO**

Para a realização de estudos envolvendo S. sclerotiorum, é necessária a obtenção de inóculo. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar meios de cultura vegetal na presença e ausência de fubá, quanto ao seu rendimento e produção de escleródios. O experimento foi conduzido no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas-LAMIP da Universidade Federal de Uberlândia-MG. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados em esquema fatorial de 11 (meios) x 2 (fubá) e quatro repetições. Os meios avaliados no experimento foram: Cenoura (Daus carota L.); Tomate (Lycopersicon esculentum L.); Abóbora (Curcubita pepo L.); Repolho (Brassica oleracea variedade capitata); Soja (Glycine max); Feijão (Phaseolus vulgaris L.); Girassol (Helianthus annuus); Batata (Solanim tuberosum L.); Batata-doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.); Vagem (Phaseolus vulgaris); e Couve-flor (Brassica oleracea variedade botrytis), complementados ou não com fubá. Os frascos de Erlenmeyer de 500 ml contendo os meios foram autoclavados a 120°C por 20 minutos. Os meios foram inoculados com cinco discos de micélio de 6 mm de diâmetro com 7 dias de idade. Decorrida a inoculação os frascos foram incubados à temperatura de 22 a 25°C com fotoperíodo de 12 horas durante 32 dias consecutivos de acordo com Ferraz; Café Filho (1998), para a colonização dos meios. Após este período, os escleródios foram separados do meio original através de lavagem sobre peneiras de 2 mm de diâmetro, secos em papel toalha em temperatura ambiente e posteriormente pesados e contabilizados. O rendimento foi calculado com base na fórmula proposta por Juliatti, F.C. (1985). Rendimento (%) = Peso Total de Escleródios Beneficiados (gramas) x 100 /Peso do Meio (gramas). O maior rendimento de escleródios de Sclerotinia sclerotiorum foi obtido no meio "feijão", complementado com fubá. O melhor meio para produção de escleródios foi "girassol", enriquecido com fubá. Segundo Fernandes et al. (1993) e Ferraz; Café Filho (1998), meios complementados com fubá favorece a formação de escleródios.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Obtenção do isolado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.)	10
3.2 Produção de escleródios em meios de cultura à base de vegetais	10
3.3 Avaliações	12
3.4 Determinação do rendimento de escleródios	
3.5 Delineamento experimental	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1 Influência dos meios de cultura na produção de escleródios	14
5 CONCLUSÕES	18
REFERÊNCIAS	19

# 1 INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) é causador da podridão branca em diversas plantas dicotiledôneas de importância econômica. Dentre as plantas hospedeiras, destacam-se o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e a soja (*Glycine max* (L.) Merr.) (BALARDIN, 1992; ECHANDI, 1976; FERREIRA et al.,1979; VIEIRA, 1988). *Sclerotinia sclerotiorum* é um patógeno que causa danos em muitas plantas de interesse econômico, sendo que Boland e Hall (1994) relacionaram 408 espécies como hospedeiras do patógeno. Este patógeno está disseminado por muitos países de todos os continentes (PURDY, 1979; LUMSDEN, 1979), e seus danos manifestam-se com maior severidade em áreas com clima úmido, associado à alta umidade relativa. No Brasil, perdas na produção de diversas culturas causadas por *S. sclerotiorum* vêm chamando a atenção de produtores e pesquisadores, como em lavouras de feijão e soja, irrigadas por pivô central em diversas regiões do país.

Este fitopatogêno que sobrevive por longos períodos no solo e afetam principalmente as raízes e as hastes das plantas das espécies cultivadas, porém, as partes mais altas das plantas podem eventualmente ser afetadas. A sua sobrevivência no solo se da através de estruturas de resistência conhecidas como esclerócio ou escleródio. Esse por sua vez é formado por uma massa compactada e melanizada de micélio e, após a sua germinação, é geralmente o responsável inicial pela infecção da planta cultivada. Os escleródios sobrevivem no solo de 6 a 8 anos, podendo germinar formando micélio ou apotécios (germinação carpogênica). Nesse caso o fungo *S. sclerotiorum* produz escleródio irregular preto (VIEIRA, 1988). Este organismo é um patógeno polífago, ou seja, não apresenta uma especificidade quanto ao organismo que o coloniza, além de apresentar uma alta agressividade podendo causar perdas significativas em culturas economicamente importantes, representando grande perigo nas áreas sob pivô central. O fungo *S. sclerotiorum* causa enfermidade conhecida como mofo branco ou podridão de esclerotinia.

Os escleródios são muito importantes no ciclo de vida de *Sclerotinia sclerotiorum*, seja na germinação miceliogênica ou na carpogência. Na miceliogênica o escleródio germina e produz micélio que penetra diretamente nos tecidos da base da planta, enquanto que na carpogênica ocorre a formação de apotécios onde são formados os ascósporos, que são responsáveis pela infecção de várias plantas principalmente na época da floração.

O cultivo *in vitro* deste fungo é de grande importância para a sua utilização em trabalhos que exijam inoculo puro e em quantidade pré-determinada. Para isto é necessário estabelecer as condições de cultivo que permitam o bom desenvolvimento deste organismo.

Dentre estas condições estão o meio de cultura, a temperatura e a luminosidade (NWUFO; FAJOLA, 1986). *S. sclerotiorum* desenvolvem-se bem em BDA (Batata, Dextrose, Ágar). Todavia, informações básicas sobre o crescimento e produção de esclerócios em outros meios de cultura são importantes, pois criam mais opções para o cultivo deste fitopatógeno em particular. Em face da importância do patógeno são necessários estudos envolvendo a epidemiologia da doença e formas de controle, isto dispõe da necessidade de inóculo.

Vários fatores influenciam a germinação dos escleródios desse fungo, tais como: os nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado, a idade dos escleródios, os fatores ambientais como umidade, temperatura, luz, pH do solo, aeração e a profundidade na qual o escleródio se encontra no solo (WILLETS; WONG 1980, PHILLIPS 1987).

Para realização de estudos envolvendo *Sclerotinia sclerotiorum* é necessária a obtenção de inóculo puro e de qualidade. Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar os diferentes meios de cultura vegetal: (Cenoura, Tomate, Abóbora, Repolho, Soja, Feijão, Girassol, Batata, Batata-doce, Vagem e Couve-flor complementada ou não com fubá), na formação de escleródios, visando à quantificação (número de escleródios) e o rendimento final (produção).

#### 2 REVISÃO DE LITERATURA

Para a avaliação do rendimento de diferentes meios Fernandes et al. (1993), estudaram meios à base de vegetais, como: cenoura, mandioquinha-salsa, repolho, alface, vagem de feijão e BD (batata-dextrose) misturados ou não com fubá de milho. Estes autores observaram que os melhores meios foram aqueles compostos de repolho e cenoura. Todos os meios contendo fubá promoveram maior produção de escleródios que os seus correspondentes sem fubá.

Patterson e Grogan (1989) também testaram à germinação miceliogênica de escleródios produzidos em diferentes meios de cultura. Eles obtiveram alta germinação de escleródios quando estes foram produzidos em meios contendo batata ou cenoura e, pequena ou nenhuma germinação, quando produzidos em meio contendo aveia, sorgo ou meio de ágar.

Meios de cultura à base de aveia, sorgo, feijão, cenoura, batata, cenoura + batata, com adição ou não de fubá, foram estudados por Ferraz e Café Filho (1998) para produção de escleródios e posterior formação de apotécios de *S. sclerotiorum*. Esses autores concluíram que nem todos os meios que favoreceram a formação de escleródios foram bons para produção de apotécios. Escleródios produzidos em meios ricos em carboidratos desfavoreceram a formação posterior de apotécios. Menor número de escleródios foi obtido usando-se o meio de cenoura e, geralmente, os meios sem adição de fubá resultaram em boa produção de apotécios.

Lima et al. (1998) verificaram que o substrato batata foi o mais promissor na produção de escleródios quando comparado com os substratos cenoura, chuchu e abóbora.

Rios et al. (1996) estudaram os meios à base de sorgo, arroz, milho, trigo e fubá de milho para produção de escleródios de *S. sclerotiorum*. Verificaram que os meios à base de grãos de sorgo e arroz promoveram maior número de escleródios. As menores quantidades de escleródios ocorreram nos meios à base de grãos de trigo e fubá de milho, enquanto que as maiores produções de escleródios ocorreram nos meios à base de sorgo, seguidos dos de arroz e milho.

Os substratos abóbora-moranga, batata, beterraba e cenoura foram avaliados quanto à produção de escleródios aos 15, 30 e 45 dias após a incubação. O peso total de escleródios para cada substrato testado foi de 115,89 g (15 dias), 103,72 g (30 dias) e 126,82 g (45 dias). Os substratos batata (15, 30 e 45 dias), cenoura (15, 30 e 45 dias) e abóbora (45 dias) foram os melhores (LIMA et al., 1997).

Prasad et al. (1988) cultivaram escleródios de *S. sclerotiorum* em meios de ágar com extratos de coentro, feijão rajma e feijão-de-corda e verificaram que o meio contendo feijão-de-corda, promoveu maior produção de escleródios e, nenhum escleródio foi observado no meio contendo extrato de coentro.

Nasser et al. (1995) testaram um novo método para produção massal de escleródios de *S. sclerotiorum* à base de cenoura e conseguiram produzir 112 g de escleródios em 1,9 kg de cenoura.

Nelson et al. (1988) obtiveram produção em larga escala de escleródios de 12 isolados de *S. sclerotiorum* usando meio à base de farinha de milho, vermiculita, casanino e extrato de levedura.

Juliatti (1985) avaliou os substratos vermiculita e areia contendo fubá de milho e solução de Czapeck, utilizando três isolados, para produção de escleródios de *Rhizoctonia solani* e verificou que vermiculita e o isolado designado MF-3 apresentaram maior rendimento e número de escleródios viáveis.

Dillard et al (1995) verificaram que o maior número de apotécios está diretamente proporcional ao aumento do tamanho dos escleródios. De acordo com Ferraz e Café Filho (1998) escleródios com diâmetros entre 2,4 e 6,3 mm não diferiram quanto à habilidade de formar apotécios *in vitro*.

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

#### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas – LAMIP da Universidade Federal de Uberlândia, MG.

#### 3.1 Obtenção do isolado de Sclerotinia sclerotiorum

O isolado foi obtido de escleródios formados no interior da haste de soja, provenientes de campos comerciais de Jataí - GO. Esses foram previamente desinfestados em álcool 50% e água sanitária a 0,5% diluída em água destilada estéril nos tempos de 30 e 60 segundos, respectivamente. Em seguida, aqueles foram enxaguados em água destilada estéril para serem transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (Batata, Dextrose e Agar). Todo o procedimento mencionado logo acima foi realizado no fluxo de ar, mantendo dessa forma o micro ambiente local livres de patógeno em geral.

As placas de Petri foram incubadas na câmera fria a 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica e formação de escleródios.

Os reisolamentos para obtenção de discos de micélio para ensaios posteriores foram sempre realizados a partir de escleródios.

#### 3.2 Produção de escleródios em meios de cultura à base de vegetais

A produção de escleródios foi avaliada em 11 meios de cultura à base de vegetais, sendo eles: Cenoura (*Daus carota* L.); Tomate (*Lycopersicon esculentum* L.); Abóbora (*Curcubita pepo* L.); Repolho (*Brassica oleracea* variedade capitata); Soja (*Glycine max*); Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.); Girassol (*Helianthus annuus*); Batata (*Solanim tuberosum* L.); Batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.); Vagem (*Phaseolus vulgaris*); e Couve-flor (*Brassica oleracea* variedade botrytis), complementados ou não com fubá, totalizando 22 tratamentos.

Os grãos de feijão, soja e girassol foram umedecidos em água destilada previamente por 12 horas. Os meios complementados com fubá foram produzidos na proporção de 100 g do substrato + 20 g de fubá e 15 ml de água destilada, exceto para os meios à base de cenoura e tomate que não foi adicionado água. Os meios sem adição de fubá foram produzidos na mesma proporção dos meios complementados, exceto a quantidade de água que foi de 10 ml. Os frascos de Erlenmeyer foram autoclavados por 20 minutos à 120°C e após 12 horas de

resfriamento receberam cinco discos de micélio de sete dias de idade com seis mm de diâmetro (Figura 1). Posteriormente, os frascos foram incubados na câmera fria à temperatura de 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas, por 32 dias consecutivos de acordo com Ferraz; Café Filho (1998), para a colonização dos meios (Figura 2).

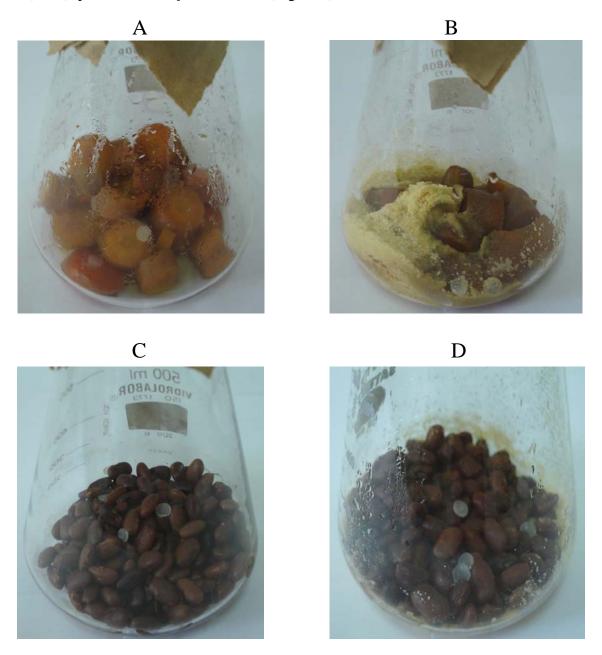


Figura 1 – Meios de cultura cenoura e feijão na ausência de fubá (A) e (C) e presença de fubá (B) e (D), respectivamente. Em detalhe, presença dos discos de micélio nos Erlenmeyers UFU, Uberlândia, 2008.



Figura 2 – Incubação em câmara durante 32 dias para colonização dos meios. UFU, Uberlândia, 2008.

## 3.3 Avaliações

Decorrido o período de incubação, os escleródios foram separados do meio original através de lavagem sobre peneiras de dois mm. Após a lavagem os escleródios foram secos em condições de laboratório sobre papel toalha por 48 horas para posterior contagem, pesagem e armazenagem (Figura 3).

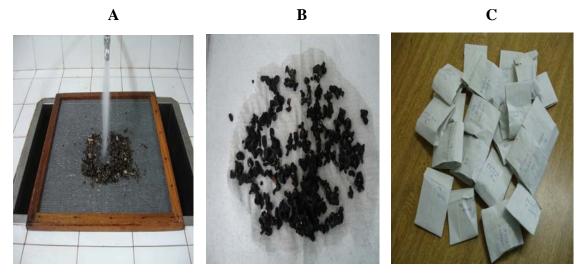


Figura 3 – Lavagem (A), secagem (B) e armazenagem (C) de escleródios. UFU, Uberlândia, 2008.

### 3.4 Determinação do rendimento de escleródios

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

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

## 3.5 Delineamento experimental

O ensaio foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial de 11 (meios) x 2 (adição de fubá) com quatro repetições.Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de F a 1.0% de significância e aplicou-se ao ensaio, teste de Scott-Knot para valores qualitativos, por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Influência dos meios de cultura na produção de escleródios:

Os resumos da análise de variância quanto ao rendimento se encontram na Tabela 1. Verificou-se que o teste de F, apresentou significância quanto à interação entre Meios e Fubá. Denotando a diferença entre as variáveis estudadas. Os coeficientes de variação evidenciaram a baixa variação entre as repetições (Blocos).

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

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meios	10	790096,84	790009,68	120,71	0,00**
Fubá	1	187498,23	187498,23	286,45	0,00**
Meios*Fubá	10	61739,52	6173,95	9,43	0,00**
Repetição	3	889,00	296,33	0,45	$0,72^{NS}$
Erro	63	41237,50	654,56		
Total corrigido	87	1081461,09			
VC (%)	10,05				
Média geral	254,68				

ns - Não significativo pelo teste de F

O início da formação de escleródios ocorreu no 3º dia após a incubação observando a formação de micélio do fungo nos meios selecionados, sendo que no 15º dia havia escleródios formados. A adição de fubá teve efeito significativo e positivo sobre a produção de escleródios, concordando com os resultados de Fernandes et al. (1993) e Ferraz e Café Filho (1998), que relataram que meios adicionados de fubá favoreceram a formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.).

Os melhores meios na presença de fubá quanto ao rendimento foram os meios "feijão" seguido de "girassol". Na ausência de fubá o meio "feijão" também foi o que mais se destacou, seguido do meio "abóbora" (Figura 4).

Em estudo avaliando diferentes meios na produção de escleródios, o meio "feijão" e "cenoura + batata" com adição de fubá foram os que mais se destacaram (FERRAZ; CAFÉ FILHO, 1998). Isso demonstra que o meio (*Phaseolus vulgaris* L.), apresenta em sua composição química nutrientes essenciais e fundamentais para a formação de escleródios de

<sup>\*\*-</sup> Significativo pelo teste de F ao nível de 1%

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.). Desta forma sendo um dos meios promissores para trabalhos envolvendo obtenção de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.).

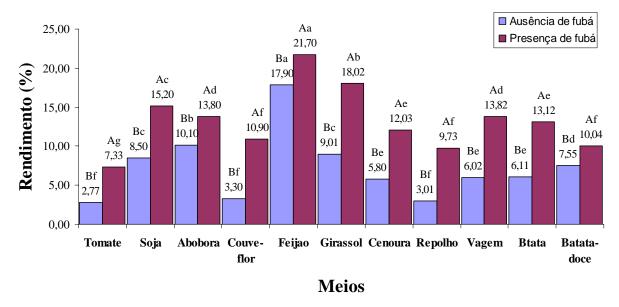


Figura 4 – Efeito do meio de cultura produção de escleródios de *S. sclerotiorum* no rendimento de escleródios. Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá, há 1% de significância.

Os resumos da análise de variância quanto à produção de escleródio se encontram na Tabela 2. Verificou-se que o teste de F, apresentou significância quanto à interação entre Meios e Fubá. Denotando a diferença entre as variáveis estudadas. Os coeficientes de variação evidenciaram a baixa variação entre as repetições (Blocos).

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

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meios	10	1226166,11	122616,61	107,571	0,0000**
Fubá	1	196843,68	196843,68	172,690	0,0000**
Meios*Fubá	10	64974,56	6497,45	5,700	0,0000**
Repetição	3	1328,95	442,98	0,389	$0,7615^{Ns}$
Erro	63	71811,54	1139,86		
Total corrigido	87	1561124,86			
VC (%)	11,96				
Média geral	282,38	_		_	

ns- Não significativo pelo teste de F

<sup>\*\*-</sup> Significativo pelo teste de F ao nível de 1%

Quanto ao número de escleródios beneficiados o meio "girassol" foi o que mais se destacou com um total de 495 escleródios, seguido do meio "feijão" com 469 escleródios quando enriquecido com fubá, demonstrando um incremento no número de escleródios da ordem de 38 e 57 respectivamente, porém semelhante os resultados quando não ouve o enriquecimento com fubá. A adição de fubá não influenciou no número de escleródios para os meios "abóbora" e "batata-doce" demonstrando praticamente os mesmos resultados. Já nos meios "soja", "batata" e "vagem" houve um incremento da ordem de 169, 141 e 151 respectivamente em comparação com os meios sem a adição de fubá, sendo dessa forma interessante à utilização de fubá nesses meios. (Figura 5).

O meio girassol apresentou-se muito seco durante a evolução do experimento, mesmo com a adição de água destilada, mas mesmo assim favoreceu a formação de escleródios e demonstrando ser um dos meios promissores para a obtenção de escleródios. Por outro lado, os meios a base de "tomate", "cenoura", "vagem", "couve-flor" e "repolho" apresentaram-se bastante aquosos, desfavorecendo dessa forma a formação de escleródios. Para resolver tais situações o mais sensato a se fazer é adicionar um maior volume de água ao "girassol" e acrescentar fubá aos meios "tomate", "cenoura" "vagem", "couve-flor" e "repolho". Observou-se que nem sempre os meios que se destacaram no rendimento também sobressaíram no número de escleródios, evidenciando que existe diferença do meio de produção no tamanho do escleródio. Uma desvantagem do meio "girassol" é o trabalho árduo de separar os escleródios formados dos grãos, principalmente quando os escleródios se formam internamente.

Lima et al. (1998) verificaram que o substrato batata foi o mais promissor na produção de escleródios quando comparado com os substratos cenoura, chuchu e abóbora. Prasad et al. (1988) cultivaram escleródios de *S. sclerotiorum* em meios de ágar com extratos de coentro, feijão raja e feijão-de-corda, e verificaram que o meio contendo feijão-de-corda promoveu maior produção de escleródios e, nenhum escleródio, foi observado no meio contendo extrato de coentro.

O meio repolho proporcionou menor quantidade de escleródios, discordando dos resultados de Fernandes et al. (1993) que observaram que os meios repolho e cenoura foram os mais promissores na produção de escleródios quando comparados com mandioquinhasalsa, vagem, alface e BD (Batata – Dextrose) na ausência e presença de fubá de milho.

Juliatti (1985) obteve maior rendimento e número de escleródios de *Rhizoctonia solani* em meios de vermiculita contendo fubá de milho e solução de Czapeck.

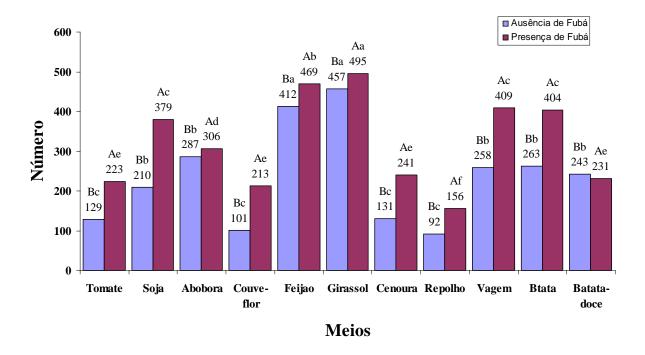


Figura 5 – Número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* beneficiados, em função do efeito dos meios vegetais com e sem a adição de fubá. Médias seguidas de letras minúsculas diferem os meios e médias maiúsculas diferem presença e ausência de fubá, há 1% de significância.

# **5 CONCLUSÕES**

- 1-A adição de fubá de milho (carboidratos) aos meios à base de vegetais influenciou significativamente no rendimento e produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.);
- 2-Quanto ao rendimento o meio feijão foi o que mais se destacou, seguido por girassol;
- 3- Para o número de escleródios beneficiados, o meio "girassol" foi o que mais se destacou, seguido por "feijão".

#### REFERÊNCIAS

- BALARDIN, R. S. Doenças do feijoeiro. In: EPAGRI. A cultura do feijão em Santa Catarina. Florianópolis: EPAGRI, 1992. p. 195-225.
- BOLAND, G.; HALL, R.. Index of plant hosts to *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian **Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.16, p.93-108, 1994.
- DILLARD, H. R.; LUDWIG, J. W.; HUNTER, J. E. Conditioning Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* for Carpogenic Germination. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, p. 411-415. 1995.
- ECHANDI, E. Principales enfermedades de hongo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en tropicos americanos en diferentes zonas ecológicas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF, v. 1, n. 3, p. 171-177, 1976.
- FERRAZ, L.C.L.; CAFÉ FILHO, A.C. Meios de cultura e fatores culturais para produção de escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF, v. 23, n. 3, p. 364-365, 1998.
- FERNANDES, N.T.; SANTOS, B.A. ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de meios de cultura naturais na produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, XXVI, 1993, Aracajú. **Resumos**... Aracajú: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1993. p. 323.
- FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. **Doenças da soja no Brasil.** Londrina, Paraná: EMBRAPA-CNPSoja. Londrina, 1979. 42p.
- FERREIRA, F.A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. Disponível em: <a href="http://www.dex.ufla.br/~danielff/softwares.htm">http://www.dex.ufla.br/~danielff/softwares.htm</a>. Acesso em: 20 jun. 2006.
- JULIATTI, F.C. Variabilidade de isolamentos de *Rhizoctonia solani* Kuhn (1858) em batata (*Solanum tuberosum* L.). 1985, 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1985.
- LETORNEAU, D. Morphology, cytology, and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p. 887-890, 1979.
- LIMA, M.L.R.C.; STOCCO, R.J.; TRENTO, S.M. Avaliação de diferentes substratos na produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO PAULISTA FITOPATOLOGIA, XX, 1997, São Paulo. **Resumos**... Botucatu: Sociedade Paulista Fitopatologia, 1997, p. 64.

- LIMA, M.L.R.Z.; FRANCISCO, D.P.; POSSAMAI, J.C. Avaliação do crescimento de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes substratos. In: CONGRESSO PAULISTA FITOPATOLOGIA, XXI, 1998, Botucatu. **Resumos**... Botucatu: Sociedade Paulista Fitopatologia, 1998, p. 107.
- LUMSDEN, R.D. Histology and physiology pathogenicis in plant difeases caused by Selerotinia species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p. 890-895, Aug. 1979.
- MELO, I.S.; CONUS, G. A. Influência de meios de cultura, temperatura e pH na produção de escleródios de *Sclerotinia minor* Jagger. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 65, n.3, p. 239-247, 1990.
- NASSER, L.C.B.; BOLAND, G.J.; SUTTON, J.C. Novo método de produção massal de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, XXVIII, 1995, Ilhéus. **Resumos**... Ilhéus: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1995. p. 376.
- NELSON, B.; DUVAL, L.; WU, H. An in vitro technique for large scale production of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n.11, p. 1470-1472, 1988.
- NWUFO, M. F.; FAJOLA, A. O. Cultural studies on Botryodiplodia theobromae and Sclerotium rolfsii causing storage rots of cocoyam (Colocasia esculenta). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF, v. 11, n.3, p. 443-454, 1986.
- PATTERSON, C. L.; R. G. GROGAN. Relationship of growth media and drying and of age of sclerotia to eruptive gemination and infection by *Sclerotinia minor*. **Plant Disease Reporter**, Washington, DC, v.72, n.12, p. 1046-1048, 1989.
- PURDY, L.H. S. History, diseases and simptomatology. Host range, geographic distribution and impact. **Phytopatology**, St Paul, v.69 n.8 p.875 880, Aug. 1979.
- PHILIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. A review. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, n.3, p. 279-283, 1987.
- PRASAD, Y.; ITENDRA, D.; DEB, I. Growth and sclerotia development in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal Reseatch Rajendra Agriculture University**, Bihar, v.6, n.1, p. 78-79. 1988.
- RIOS, G.P.; NETTO, C.C.; GOMES, A.C.O. Utilização de meios de cultura para produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em laboratório. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, V, 1996, Goiânia. **Anais**... Embrapa-CNPAF, 1996. p. 216-217.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro.** Viçosa: UFV/Imprensa Universitária, 1988. 231p.

WILLETS, H.J.; WONG, J.A.L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, St. Paul, v.46, n. 2, p. 102-165. 1980.