

CAPÍTULO 4

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* E PODRIDÃO BRANCA DA HASTE DA SOJA

1 RESUMO

GARCIA, Riccely Ávila. **Eficiência de fungicidas sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e podridão branca da haste da soja**. UFU. 2008. 34 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

O controle químico da podridão branca da haste da soja vem sendo realizado com base em estudos já realizados sobre o mofo branco na cultura do feijoeiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar fungicidas de diferentes grupos químicos sobre *S. sclerotiorum* “*in vitro*” selecionando-os para ensaios “*in vivo*”. Os fungicidas flutriafol, fluazinam, propiconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, ciproconazol, fluquinconazol, tetraconazol, procimidone, iprodione, ciproconazol + trifloxistrobina, epoxiconazol, vinclozolin, protioconazol, azoxistrobina + ciproconazol, clorothalonil + tiofanato metílico, flutriafol + tiofanato metílico, miclobutanil, difenoconazol, carbendazim, benomyl, carboxin + thiram, tiofanato metílico, quintozeno, pencicuron, clorothalonil e azoxistrobina foram avaliados sobre o crescimento micelial de dois isolados de *S. sclerotiorum*, originados de Jataí-GO e Indianópolis-MG, em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. Após a solidificação do meio contendo a concentração de 100 ppm do ingrediente ativo, discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram depositados no centro das placas de Petri. As placas foram incubadas a temperatura de $22 \pm 3^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram iniciadas 24 horas após a incubação, perdurando até 48 horas para o isolado de Jataí e 72 horas para o isolado de Indianópolis. Através dos dados, calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial. O ensaio “*in vivo*” foi realizado apenas com o isolado de Jataí em inoculações na cultivar FMT Tabarana no estádio V₃. Os fungicidas utilizados em aplicações preventivas e curativas foram fluazinam, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, procymidone, iprodione, vinclozolin, protioconazol, azoxistrobina + ciproconazol e tiofanato metílico. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições. As avaliações foram realizadas 72 horas após a incubação a temperatura de $22 \pm 3^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, através de escala diagramática elaborada com a utilização do programa Quant. Os resultados “*in vitro*” demonstraram que os fungicidas flutriafol, fluazinam, propiconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, ciproconazol, fluquinconazol, tetraconazol, procymidone, iprodione, ciproconazol + trifloxistrobina, epoxiconazol, vinclozolin, protioconazol, azoxistrobina + ciproconazol, clorothalonil + tiofanato metílico, flutriafol + tiofanato metílico, miclobutanil e difenoconazol inibiram acima de 98% o crescimento micelial para os dois isolados. Quanto ao ensaio “*in vivo*” houve diferença no efeito dos fungicidas, quando aplicados preventiva e curativamente. O fungicida iprodione comportou-se melhor sobre a doença nos dois modos de ação.

Palavras-chave: *S. sclerotiorum*, fungicidas, crescimento micelial, podridão branca da haste.

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

2 ABSTRACT

GARCIA, Riccely Ávila. **Fungicide efficacy on *Sclerotinia sclerotiorum* mycelial growth and soybean stem white rot.** UFU. 2008. 34 p. Dissertation (Master's degree in Agriculture/Phytopathology) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia¹.

Chemical control of soybean stem white rot is done based on previous studies about white rot on common beans. This study evaluated fungicides of different chemical groups on *S. sclerotiorum* “*in vitro*”, selecting them for “*in vivo*” trials. The fungicides flutriafol, fluazinam, propiconazole, epoxiconazole + piraclostrobin, tebuconazole + trifloxistrobin, tebuconazole, cyproconazole + propiconazole, cyproconazole, fluquinconazole, tetraconazole, procymidone, iprodione, cyproconazole + trifloxistrobin, epoxiconazole, vinclozolin, prothioconazole, azoxistrobin + cyproconazole, chlorothalonil + thiophanate-methyl, flutriafol + thiophanate-methyl, myclobutanil, difenoconazole, carbendazim, benomyl, carboxin + thiram, methyl thiophanate, quintozone, pencycuron, chlorothalonil and azoxistrobin were evaluated for controlling mycelial growth of two *S. sclerotiorum* isolates, from Jataí-GO and Indianópolis-MG, in a completely randomized design, with three repetitions. After the media containing 100 ppm active ingredient solidified, 6-mm diameter mycelial plugs were inoculated in the center of the Petri plates. The plates were incubated at $22 \pm 3^\circ\text{C}$ and 12 hours lighting. Growth evaluations started 24 hours after inoculation and lasted for 48 hours for the isolate from Jataí and 72 for the one from Indianópolis. Mycelial growth percent inhibition was calculated. The “*in vivo*” trial was done only with the isolate from Jataí with inoculation on cultivar FMT Tabarana at the stage V₃. The fungicides used in preventive and curative applications were fluazinam, epoxiconazole + piraclostrobin, tebuconazole + trifloxistrobin, tebuconazole, cyproconazole + propiconazole, procymidone, iprodione, vinclozolin, prothioconazole, azoxistrobin + cyproconazole and thiophanate methyl. The experimental design was completely randomized, with 4 repetitions. Evaluations were done 72 hours after inoculation at $22 \pm 3^\circ\text{C}$ and 12 hours lighting, using a diagrammatic scale made with the program Quant. “*In vitro*” results demonstrated that the fungicides flutriafol, fluazinam, propiconazole, epoxiconazole + piraclostrobin, tebuconazole + trifloxistrobin, tebuconazole, cyproconazole + propiconazole, cyproconazole, fluquinconazole, tetraconazole, procymidone, iprodione, cyproconazole + trifloxistrobin, epoxiconazole, vinclozolin, prothioconazole, azoxistrobin + cyproconazole, chlorothalonil + thiophanate methyl, flutriafol + thiophanate methyl, myclobutanil and difenoconazole inhibited more than 98% of the mycelial growth of both isolates. There were significant differences on the fungicide effects in the “*in vivo*” trial, applied both preventively and curatively. The fungicide iprodione had the best performance on disease control for both modes of action.

Keywords: *S. sclerotiorum*, fungicides, mycelial growth, stem white rot.

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

3 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das mais importantes atividades agrícolas dentro do contexto do agronegócio brasileiro. A produção na safra 2007/08 foi de 59,8 milhões de toneladas, distribuídas em 21,2 milhões de hectares, com um rendimento médio de 2,819 kg.ha⁻¹ (IBGE, 2008). Em relação à safra 2006/07, a produção foi de 58,4 milhões de toneladas, distribuídas em 20,7 milhões de hectares, com rendimento médio de 2,823 kg.ha⁻¹, demonstrando o aumento da área plantada.

Juntamente com o aumento da área plantada nos últimos anos, doenças que até então não eram consideradas importantes, em termos de danos econômicos, estão ocorrendo e podem ser responsáveis pela redução significativa da produtividade. Entre estas doenças, está a podridão branca da haste da soja causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, que vem tornando-se importante nos campos de cultivo desta leguminosa no Brasil, devido ao cultivo de espécies altamente suscetíveis na safrinha e sementes contaminadas produzidas pelos próprios produtores (YORINORI, 1997).

O controle químico de doenças de plantas é talvez uma das medidas mais empregadas na agricultura, por poder prevenir infecções de patógenos que podem se instalar na cultura e/ou controlar infecções já instaladas nos tecidos da planta hospedeira (ZAMBOLIM et al., 2007). O controle químico da podridão branca da haste torna-se difícil devido o patógeno *S. sclerotiorum* sobreviver no solo por vários anos, possuir ampla gama de hospedeiros, ser disseminado por meio do micélio dormente internamente ou aderido às sementes e pelo vento através dos ascósporos. Isto exige que o controle do patógeno seja baseado em uma série de medidas integradas, entre as quais está o controle químico.

O controle químico da podridão branca da haste da soja tem sido recomendado com base nas informações referentes à cultura do feijoeiro comum. Desta forma, pouco se sabe sobre a eficiência de fungicidas no controle da doença dentro do patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* x *Glycine max* L. Merrill. Diante disso, este trabalho teve como objetivo selecionar fungicidas de diferentes grupos químicos “*in vitro*” e testá-los preventivamente e curativamente “*in vivo*”, para que se possa recomendá-los no controle da doença.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

O conhecimento da importância das flores na epidemiologia da podridão branca da haste auxilia no seu controle químico. Os ascósporos de *S. sclerotiorum* requerem uma fonte exógena de energia para infectar plantas saudáveis. No campo, as flores maduras de soja normalmente servem como fonte de energia (VIEIRA, 1994), por isso que a fase mais vulnerável da soja é nos estágios da floração plena (R_2) ao início da formação das vagens (R_3/R_4) (YORINORI, 1997).

Pesquisa realizada por Hunter et al. (1978), em Nova York, demonstra que a pulverização da planta inteira ou somente das flores de feijão com benomyl controlou o mofo branco, quando as plantas foram, em seguida, inoculadas com ascósporos. Entretanto, quando todas as partes da planta, com exceção das flores, foram pulverizadas, nenhum controle da doença foi obtido. Os mesmos autores verificaram que pulverização com benomyl, três a cinco dias antes do estágio de florescimento completo, assegurando a cobertura das flores, resultou em melhor controle da doença. Segundo Vieira (1994), o insucesso no controle da doença é provavelmente devido a uma cobertura inadequada das flores.

Entre as alternativas viáveis de manejo estão: o tratamento químico de sementes com fungicidas do grupo dos benzimidazóis associados a produtos de contato; aumento do espaçamento entre linhas e redução da densidade de plantas, para permitir uma adequada aeração das plantas e evitar o contato de plantas doentes com plantas saudáveis; rotação de cultura por pelo menos quatro anos com gramíneas, para dar tempo para degradação dos escleródios por meio de inimigos naturais; irrigações equilibradas, principalmente durante a floração (LEITE, 2005). O uso de cultivares resistentes é uma alternativa viável, entretanto até o momento não existem informações ou publicações quanto à resistência de cultivares ou linhagens de soja resistentes à *S. sclerotiorum*. Uma das grandes dificuldades na avaliação do controle químico e da reação de resistência é a definição de métodos de inoculação corretos para interpretar os diferentes tipos de controle.

O controle químico do mofo branco no feijoeiro tem apresentado diferenças de eficiência em função do volume e equipamento de aplicação, tipo de bico (OLIVEIRA, 1998; VIEIRA, 1994), hábito de crescimento da cultivar (STEADMAN, 1983), espaçamento de plantas (TU, 1989), dose (HUNTER et al., 1978), estágio de desenvolvimento (NATTI, 1971) e incidência e severidade da doença (COYNE et al.,

1974). A densidade de inóculo no solo também pode influenciar a eficiência do controle químico para *S. sclerotiorum*. Costa (1997) avaliou o fungicida procimidone em campos de feijoeiro com diferentes densidades de escleródios e observou que o controle adequado da doença foi obtido somente em áreas com menos de 19 escleródios por m² e em solos com mais de 27 escleródios por m² o fungicida foi ineficiente.

Matheron e Matejka (1989) compararam “*in vitro*” e em campo a ação dos fungicidas bitertanol, chlozolate, diniconazol e terbutrazol com iprodione e vinclozolin no controle de *S. sclerotiorum* em alface e observaram que existe potencial do controle químico da doença estudada. O fungicida terbutrazol, por exemplo, apresentou ótimo efeito inibitório do crescimento “*in vitro*”, porém não reduziu satisfatoriamente a incidência da doença no campo.

Menten et al. (1995) avaliaram a eficiência “*in vitro*” de fungicidas sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* através da determinação do ED₅₀ e classificaram como altamente eficientes (ED₅₀ < 1 ppm) clorothalonil, tebuconazol, procymidone, iprodione, tiofanato metílico + clorothalonil, captan, vinclozolin, tiofanato metílico e benomyl. Fentin acetato de estanho (ED₅₀: 1-10 ppm) foi moderadamente eficiente, mancozeb (ED₅₀: 10-50 ppm) pouco eficiente e óxido cuproso (ED₅₀ > 50 ppm) ineficiente.

Oliveira et al. (1994), visando selecionar fungicidas potencialmente eficientes no controle de *S. sclerotiorum* do feijoeiro, verificaram que os fungicidas vinclozolin, procymidone, carbendazim, benomyl, procloraz apresentaram total inibição do crescimento micelial a partir de 1 ppm de ingrediente ativo. Fluazinam e tebuconazol tiveram o mesmo comportamento a 10 ppm. Trifenil hidróxido de estanho e pirimetanil somente proporcionaram 100% de inibição a 100 ppm. Fluquinconazol foi o único que apresentou crescimento micelial em todas as doses testadas, porém diferindo da testemunha.

De acordo com Dario et al. (1996), o fungicida iprodione foi eficiente no controle de *S. sclerotiorum* na cultura do feijoeiro, nas duas doses e formulações testadas, comparado com o fungicida vinclozolin. Kimura (1996), testando a eficiência dos fungicidas procimidone e tiofanato metílico no controle de *S. sclerotiorum* na cultura da ervilha, observou que o melhor controle foi obtido com o fungicida procimidone, na dosagem de 1,0 kg do i.a.ha⁻¹ aplicado via fungigação, seguido pelo mesmo fungicida, na mesma dosagem, aplicado via pulverização. Töfoli et al. (1996) observaram que o melhor controle químico do mofo branco do tomateiro foi obtido em

ordem decrescente com os fungicidas fluazinam, benomyl + mancozeb, procymidone, vinclozolin e benomyl. Fluazinam, benomyl + mancozeb e vinclozolin proporcionaram aumentos significativos da produtividade.

Botelho; Costa (1997) avaliaram os fungicidas procymidone e fluazinam em uma e duas aplicações (45 e 60 DAE), via pivô central e com lâmina de 6 mm, no controle do mofo branco em feijoeiro. Os melhores níveis de redução da doença foram obtidos com duas aplicações dos fungicidas. Todos os tratamentos melhoraram a qualidade sanitária das sementes e reduziram de duas a dez vezes o número de escleródios residuais.

A técnica da aplicação de fungicidas via água de irrigação - fungigação - pode ser uma alternativa eficiente no controle do mofo branco, por proporcionar boa cobertura e uniformidade de distribuição (FORSTER, 1983a e 1983b). Oliveira et al. (1995) estudando-se a fungigação com a técnica convencional de aplicação de fungicidas no controle do mofo branco em feijoeiro, obtiveram resultados de eficiência equivalentes ou superiores com a aplicação por pivô central.

A atividade de sete fungicidas (benomyl, carbendazim, fluazinam, fludioxanil + cymoxanil, iprodione, procymidone e vinclozolin) foi verificada contra o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (OLIVEIRA, 1998). A autora verificou que, para o isolado de Paracatu-MG, todos os fungicidas mostraram eficiência em relação à testemunha. Para a concentração de 100 ppm, não houve crescimento do fungo em nenhum dos tratamentos fungicidas, sendo que, para as concentrações inferiores, aos 16 dias após a incubação, todos os tratamentos mostraram crescimento micelial, sendo benomyl e iprodione os que tiveram os maiores valores. Quanto ao isolado de Holambra-SP, fluazinam e fludioxanil + cymoxanil promoveram melhor inibição do crescimento micelial, aos 16 dias após incubação, enquanto que vinclozolin e iprodione igualaram-se à testemunha. Os setes fungicidas também foram estudados contra a produção de escleródios, germinação miceliogênica e carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*. Quanto à produção de escleródios, fluazinam e fludioxanil + cymoxanil inibiram totalmente a formação de escleródios a partir de 1 ppm para os isolados de Paracatu-MG e Holambra-SP. Em relação à germinação miceliogênica e carpogênica, fluazinam destacou-se para os dois isolados. O conhecimento dos efeitos específicos dos fungicidas no ciclo de vida e do isolado de *S. sclerotiorum* pode levar à obtenção de um controle químico mais efetivo do mofo branco.

Hawthorne; Jarvis (1973) estudaram os fungicidas captan, thiram, dicofluanide, benomyl, dicloran, diclozolin, quintozene, tiofanato e tiofanato metílico quanto à eficiência no crescimento micelial, germinação de escleródios e ascosporos e formação de estipe e apotécio. Os resultados demonstraram que a baixas concentrações, somente captan, thiram e diclofluanid inibiram completamente a germinação de ascosporos, enquanto que benomyl, diclofluanid e thiram foram mais efetivos contra o crescimento micelial. Benomyl foi o único que foi bastante eficiente contra a germinação de escleródios e crescimento micelial das espécies *S. sclerotiorum* e *S. minor*. Costa; Costa (1998) observaram inibições equivalentes entre procymidone e benomyl na germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* através do tratamento químico do solo, ressaltando que estes fungicidas, quando aplicados via pivô central, podem estar reduzindo a fonte de inóculo inicial do solo.

Além de fungicidas, certos herbicidas também podem inibir o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*. Casale e Hart (1986) verificaram que metribuzin e diuron inibiram o crescimento micelial do fungo “*in vitro*” e reduziram a produção de estipes, quando aplicados no solo, enquanto que atrazina e simazina não afetaram a formação de estipes, porém os apotécios não se desenvolveram ou não produziram ascosporos na presença desses dois herbicidas. Entre vários herbicidas e fungicidas testados “*in vitro*”, por Fernandes et al. (1994) contra *S. sclerotiorum*, EPTC e fluazinan apresentaram inibição da germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios, quando imersos em suspensões dos produtos por 30 segundos.

Gindrat (1993), estudando a sensibilidade de uma série de isolados de *S. sclerotiorum* a carbendazim e vinclozolin, observou que vários isolados produziram colônias com crescimento irregular a 1 ppm de vinclozolin, o que sugere potencial de resistência do fungo aos fungicidas dicarboximidas, provavelmente relacionado ao seu micélio heterocariótico.

Segundo Illipronti e Machado (1993), em estudo comparando o tratamento biológico de sementes de soja e feijão com tratamento químico visando o controle de *S. sclerotiorum*, os melhores resultados em ambas as culturas foram obtidos com benomyl, seguido de espécies de *Gliocladium viride* e *Trichoderma harzianum*.

Miranda e Lobo Júnior (2005) avaliaram o controle preventivo e curativo do mofo branco em feijoeiro comum com os fungicidas fluazinam e procymidone, isoladamente e combinados em diferentes dosagens. Verificaram que todas as combinações entre fluazinam e procymidone, e procymidone 1,0 kg.ha⁻¹ foram

equivalentes em termos de prevenção ao mofo branco, com excelente controle da doença. Fluazinam e procymidone, quando aplicados respectivamente nas doses de $1,0 \text{ l.ha}^{-1} + 0,25 \text{ kg.ha}^{-1}$; $0,75 \text{ l.ha}^{-1} + 0,5 \text{ kg.ha}^{-1}$ e $0,5 \text{ l.ha}^{-1} + 0,75 \text{ kg.ha}^{-1}$, resultaram em melhor controle curativo da doença.

Oliveira (1998) verificou que fluazinam, procymidone e vinclozolin apresentaram controle total, quando aplicados tanto preventiva como curativamente sobre o mofo branco do feijoeiro. O fungicida fludioxanil + cymoxanil e iprodione apresentaram resultados semelhantes na redução do controle da doença.

Secco et al. (2007) avaliaram os fungicidas tiofanato metílico em 300 e 500 g i.a.ha⁻¹ e fluazinam em 250 g i.a.ha⁻¹, em 1, 2 ou 3 aplicações, no controle do mofo branco da soja. A menor incidência da doença ocorreu no tratamento fluazinam em duas aplicações. Quanto à produtividade, destacaram os fungicidas fluazinam e tiofanato metílico, na dose de 500 g i.a.ha⁻¹, em 3 aplicações.

Os fungicidas benzimidazóis e dicarboximidas isoladamente ou em mistura foram avaliados no controle químico da podridão branca da haste da soja. As aplicações foram realizadas em R₃ e R_{5,3}, com volume de calda de 400 l.ha⁻¹. Tratamentos que continham dicarboximidas em sua constituição (procymidone ou iprodione na dose de 500 g i.a.ha⁻¹) resultaram em maior produtividade. A incidência da doença sob tratamentos químicos foi menor em relação ao tratamento testemunha (LUZ JÚNIOR, et al., 2005).

5 MATERIAL E MÉTODOS

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

5.1 Obtenção dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*

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

5.2 Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

A eficiência dos fungicidas pertencentes aos grupos químicos: benzimidazóis, triazóis, estrobilurinas, feniluréia, cloroaromático, isoftalonitrila, carboxinilida, ditiocarbamato, fenilpiridinilamida e dicarboximidas (TABELA 1) foi feita com base na inibição do crescimento micelial dos dois isolados, a fim de auxiliar na escolha de alguns produtos a serem avaliados posteriormente “*in vivo*”. Os fungicidas foram incorporados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar) após diluições em série. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro com 5 dias de idade foram transferidos para o centro das placas de Petri, com diâmetro de 9 cm, contendo a concentração de 100 ppm do ingrediente ativo dos fungicidas. Esta concentração foi padronizada com o objetivo de avaliar os diferentes ingredientes ativos “*in vitro*”, com uma dose próxima das condições de campo, independente de sua dose efetiva para inibir 50% do crescimento micelial (ED_{50}) (Menten et al., 1995). Posteriormente, as placas foram incubadas a temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Com o auxílio de régua, realizou-se medições diárias do diâmetro das colônias, iniciadas após 24 horas de incubação e encerradas no 2º dia (isolado Jataí) e 3º dia (Indianópolis), momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram toda a superfície da placa (FIGURA 1). A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi obtida através da fórmula abaixo com base no diâmetro da colônia:

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

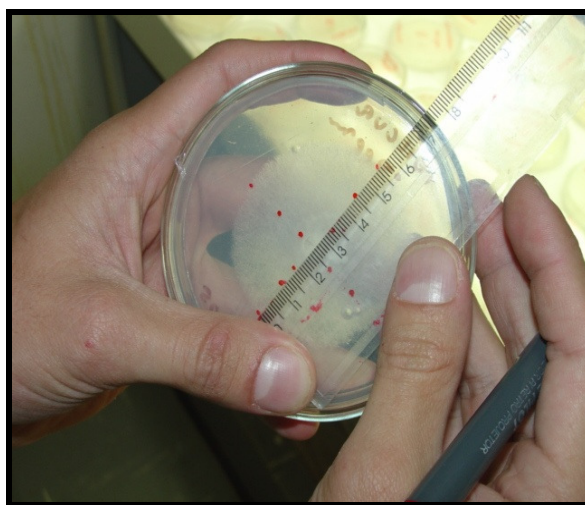


FIGURA 1 – Medições do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com auxílio de régua. UFU, Uberlândia, 2008.

Fonte: Pinto, J.V.M.R.

TABELA 1 - Fungicidas utilizados nos bioensaios “*in vitro*” para screening inicial, quanto ao espectro de ação sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal da podridão branca da soja. UFU, Uberlândia, 2008.

Grupo Químico	Nome Técnico	Concentração	Nome Comercial	Modo de ação
Triazol	Tebuconazol	200 CE	Folicur	Inibição da biossíntese do ergosterol
Dicarboximida	Iprodione	500	Rovral	Síntese de Lipídios e Membrana Celular
Dicarboximida	Procymidone	500	Sialex	Síntese de Lipídios e Membrana Celular
Dicarboximida	Vinclozolin	500	Ronilan	Síntese de Lipídios e Membrana Celular
Fenilpiridinilamida	Fluazinam	500	Frownicide	Interrupção da fosforilação oxidativa
Triazol	Fluquinconazol	167	Atento	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol	Protioconazol	250	Proline	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol + Estrobilurinas	Tebuconazol + Trifloxistrobina	200 + 100	Nativo	Inibição da biossíntese do ergosterol e respiração
Dicarboximida	Carbendazim	500	Derosal 500 SC	Síntese de Lipídios e Membrana Celular
Benzimidazol	Benomyl	500	Benlate	Inibição da mitose e divisão celular
Benzimidazol	Tiofanato Metílico	700	Cercobin 700 WP	Inibição da mitose e divisão celular
Triazol + Estrobilurinas	Azoxistrobina + Ciproconazol	200 + 80	Priori Xtra	Inibição da biossíntese do ergosterol e respiração
Estrobilurina	Azoxistrobina	500	Amistar	Inibição da respiração – Complexo III

“TABELA 1. Cont.”

Triazol + Benzimidazol	Flutriafol + Tiofanato Metílico	100 + 500	Celeiro	Inibição da biossíntese do ergosterol e divisão celular
Triazol	Flutriafol	125	Impact	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol + Estrobilurinas	Epoxiconazol + Piraclostrobina	50 + 133	Opera	Inibição da biossíntese do ergosterol e respiração
Triazol	Tetraconazol	100 CE	Domark	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol	Ciproconazol	100	Alto 100	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol	Difenoconazol	250	Score	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol	Propiconazol	250	Juno	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol	Epoxiconazol	125	Soprano	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol + Estrobilurinas	Ciproconazol + Trifloxistrobina	80 + 187,5	Sphere	Inibição da biossíntese do ergosterol e respiração
Triazol	Miclobutanil	250	Systhane	Inibição da biossíntese do ergosterol
Triazol + Triazol	Ciproconazol + Propiconazol	80 +250	Artea	Inibição da biossíntese do ergosterol
Carboxinilida + Ditiocarbamato	Carboxim + Thiram	200 + 200	Vitavax- Thiram	Inibição da respiração – Complexo II e interferência das funções celulares
			Funginil	
Isoftalonitrila	Clorothalonil	500		Interferência das funções celulares

“... continua...”

“TABELA 1. Cont.”

Isoftalonitrila + Benzimidazol	Clorothalonil + Tiofanato Metílico	500	Cerconil SC	Interferência das funções celulares e divisão celular
Feniluréia	Pencicuron	250	Monceren Pm	Inibição da divisão celular
Cloroaromático	Quintozeno	750	Kobutol	Peroxidação de lipídios

Com base na eficiência dos fungicidas “*in vitro*” e da utilização destes na cultura da soja para doenças de final de ciclo, avaliou-se sua eficiência sobre a podridão branca da haste da soja “*in vivo*”, sob condições controladas em câmara de crescimento.

5.3 Eficiência preventiva e curativa dos fungicidas no controle da podridão branca da haste da soja em condições de laboratório

A eficiência preventiva e curativa dos fungicidas fluazinam, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, procymidone, iprodione, vinclozolin, protioconazol, azoxistrobina + ciproconazol e tiofanato metílico, em doses de campo, foi avaliada em plantas no estágio V₃ (TABELA 2). Discos de micélio com 6 mm de diâmetro, provenientes do isolado de Jataí-GO, foram depositados no centro de um folíolo do 1º trifólio. Os fungicidas foram aplicados por um pulverizador costal pressurizado a CO₂ munido de bicos tipo leque, no volume de 300 L.ha⁻¹. (Turbo Teejet 110-03).

Para tratamentos preventivos, as inoculações foram efetuadas 24 horas depois das aplicações dos fungicidas, enquanto que, para os tratamentos curativos, as plantas foram inoculadas e 24 horas após, tratadas com fungicidas. As plantas referentes aos tratamentos controle foram pulverizadas apenas com água. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos, servindo como câmara úmida, e mantidas em câmara de incubação à temperatura de 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas 72 horas após a incubação, com base em escala diagramática elaborada com a utilização do Programa Quant da UFV (VALE et al., 2003).

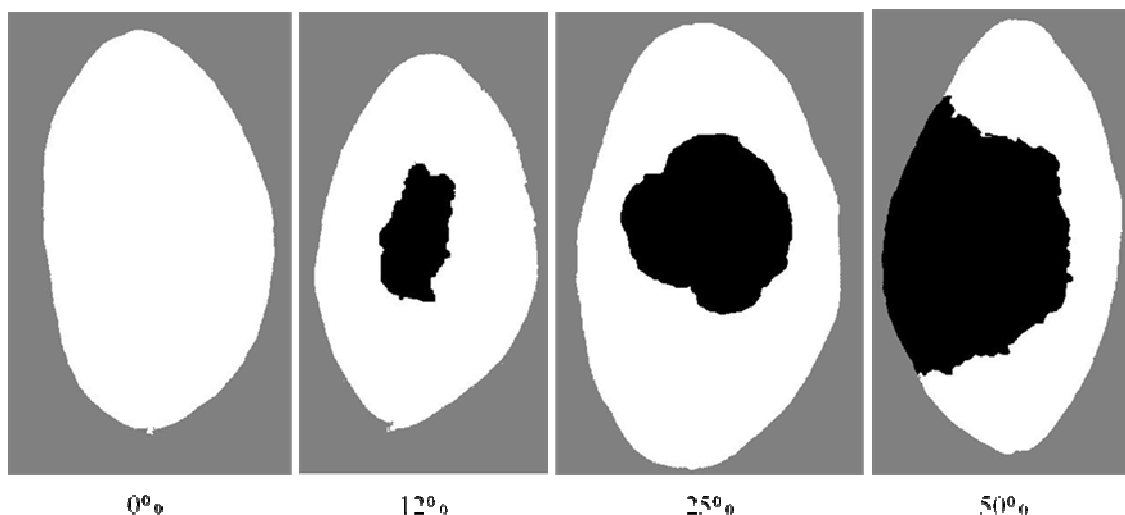


FIGURA 2 – Escala diagramática para avaliação de sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas inoculadas de plantas de soja.

5.4 Elaboração da escala diagramática utilizando o programa QUANT

A escala diagramática foi elaborada por meio do processamento de imagens digitais utilizando o programa QUANT da UFV (VALE et al., 2003). Para isso, procedeu-se a inoculação com disco de BDA contendo micélio de *S. sclerotiorum* em folíolos de soja das cultivares M-Soy 8200 e Conquista, visando obter um gradiente de doença. Os folíolos foram acondicionados em caixas de gerbox contendo três folhas de papel filtro umedecidos em água destilada estéril. Em seguida, os folíolos foram incubados em câmara de incubação à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 72 horas. Por meio de uma câmera fotográfica modelo, Sony DSC-P150 e 7.2 megapixels, fotografou-se os folíolos com diferentes níveis de severidade.

As imagens digitais obtidas foram processadas e analisadas pelo QUANT, utilizando-se o procedimento de redução de cores por paleta. As cores das imagens originais foram reduzidas a somente duas, branco (área foliar sadia) e preto (área foliar doente), determinando-se a porcentagem de área foliar.

5.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 31 (trinta fungicidas + uma testemunha) x 2 (isolados), com 3 repetições para o ensaio “*in vitro*”. No ensaio “*in vivo*”, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em fatorial de 12 (11 fungicidas + uma testemunha) x 2

(aplicação preventiva e curativa), com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste de F, comparando-se as médias do efeito dos fungicidas “*in vitro*” e “*in vivo*”, pelo teste de Scoot-Knot, a 1% de probabilidade e médias dos isolados e aplicação, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade, por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2000).

TABELA 2 – Doses utilizadas no controle preventivo e curativo da podridão branca da haste da soja. UFU, Uberlândia, 2008.

Ingrediente Ativo (i.a)	Doses.ha ⁻¹ (produto comercial)	Concentração de ingrediente ativo no produto comercial	Doses (ppm) - produto comercial*	Dose de ingrediente ativo (ppm)
Iprodione	1,5 kg	500 g.kg ⁻¹	5,000	2500
Vinclozolin	1,0 kg	500 g.kg ⁻¹	3,333	1667
Tiofanato Metílico	210 g	700 g.kg ⁻¹	700	490
Procymidone	1,5 kg	500 g.kg ⁻¹	5,000	2500
Ciproconazol + Propiconazol	300 ml	80 + 250 g.L ⁻¹	1,000	80 + 250
Protiocanazol	300 ml	250 g.L ⁻¹	1,000	250
Tebuconazol	500 ml	200 g.L ⁻¹	1,667	333,4
Epoxiconazol + Piraclostrobina	500 ml	50 + 133 g.kg ⁻¹	1,667	83,35 + 216,71
Fluazinam	1,5 kg	500 g.kg ⁻¹	5,000	2500
Tebuconazol + Trifloxistrobina	500 ml	200 + 100 g.L ⁻¹	1,667	333,4 + 166,7
Azoxistrobina + Ciproconazol	300 ml	200 + 80 g.L ⁻¹	1,000	333,4 + 80

* Considerando um volume (V) de calda de 300 L.ha⁻¹.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Eficiência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*

A interação entre isolado e fungicida foi significativa (Anexo 1A), evidenciando que existe diferença entre os isolados estudados de Jataí-GO e Indianópolis-MG, quanto à sensibilidade aos fungicidas. O mesmo mostrou o trabalho de Oliveira (1998), quando comparou diferentes fungicidas com isolados de Paracatu-MG e Holambra-SP.

Os fungicidas flutriafol, fluazinam, propiconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina, tebuconazol, ciproconazol + propiconazol, ciproconazol, fluquinconazol, tetraconazol, procymidone, iprodione, ciproconazol + trifloxistrobina, epoxiconazol, vinclozolin, protioconazol, azoxistrobina + ciproconazol, clorothalonil + tiofanato metílico, flutriafol + tiofanato metílico, miclobutanil e difenoconazol inibiram 100% do crescimento micelial para os dois isolados, com exceção dos fungicidas clorothalonil + tiofanato metílico, flutriafol + tiofanato metílico, miclobutanil e difenoconazol em que a inibição variou de 98 a 98,6%, não diferindo significativamente (TABELA 3 e FIGURA 3).

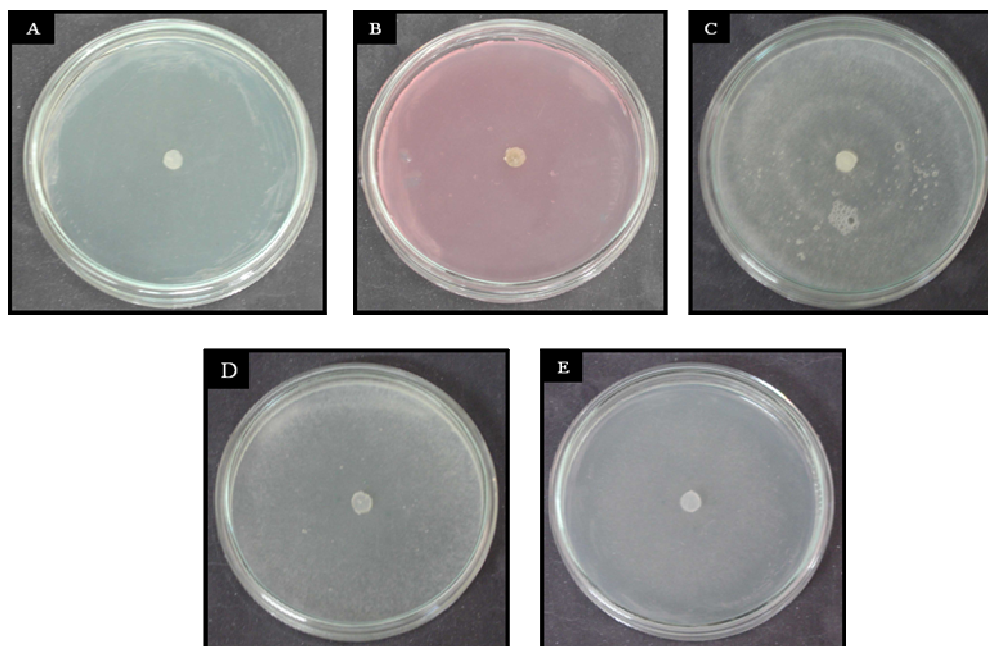


FIGURA 3 – Crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em função dos tratamentos, (A) tebuconazol, (B) fluquinconazol, (C) testemunha (sem fungicida) e (D) azoxistrobina, isolado Indianópolis-MG, e (E) azoxistrobina, isolado Jataí-GO. UFU, Uberlândia, 2008.

TABELA 3 – Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com fungicidas. UFU, Uberlândia, 2008.

Fungicidas	Isolado	
	Indianópolis	Jataí
Azoxistrobina	1,6 e B	41,1 e A
Clorothalonil	12,7 d B	93,7 b A
Pencicuron	14,7 d B	45,8 d A
Quintozeno	44,0 c B	87,1 c A
Tiofanato Metílico	89,7 b B	94,4 b A
Carboxin+Thiram	92,9 b A	93,7 b A
Benomyl	93,1 b A	94,2 b A
Carbendazim	93,9 b B	99,2 a A
Difenoconazol	98,0 a A	100,0 a A
Miclobutanil	98,2 a A	100,0 a A
Flutriafol+Tiofanato Metílico	98,4 a A	100,0 a A
Clorothalonil+Tiofanato Metílico	98,6 a A	100,0 a A
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 a A	100,0 a A
Protioconazol	100,0 a A	100,0 a A
Vinclozolin	100,0 a A	100,0 a A
Epoxiconazol	100,0 a A	100,0 a A
Ciproconazol+Trifloxistrobina	100,0 a A	100,0 a A
Iprodione	100,0 a A	100,0 a A
Procymidone	100,0 a A	100,0 a A
Tetraconazol	100,0 a A	100,0 a A
Tetraconazol	100,0 a A	100,0 a A
Fluquinconazol	100,0 a A	100,0 a A
Ciproconazol	100,0 a A	100,0 a A
Ciproconazol+Propiconazol	100,0 a A	100,0 a A
Tebuconazol	100,0 a A	100,0 a A
Tebuconazol+Trifloxistrobina	100,0 a A	100,0 a A
Epoxiconazol+Piraclostrobina	100,0 a A	100,0 a A
Propiconazol	100,0 a A	100,0 a A
Fluazinam	100,0 a A	100,0 a A
Flutriafol	100,0 a A	100,0 a A
Testemunha	0,0 e A	0,00 f A
CV (%)	2,70	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna, pelo teste de Scott-Knot, e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey, diferem entre si a 1% de significância.

A diferença entre fungicidas e isolados ocorreu quando os fungicidas testados foram azoxistrobina, clorothalonil, pencicuron, quintozeno, tiofanato metílico e carbendazim (TABELA 3). Em comparação aos dois isolados, o fungicida azoxistrobina apresentou menor porcentagem de inibição, concordando com os resultados de Oliveira (1998).

Oliveira (1998) estudou os fungicidas fluazinam, procymidone, vinclozolin, benomyl, carbendazim, iprodione e fludioxanil + cymoxanil, nas concentrações de 1, 10

e 100 ppm do ingrediente ativo sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, isolado de feijoeiro. Os resultados mostraram que todos os fungicidas mostraram eficiência, quando comparados à testemunha e para o isolado de Paracatu. A 100 ppm não houve crescimento do fungo em nenhum dos tratamentos fungicidas. Em relação ao isolado de Holambra, fluazinam e fludioxanil+cymoxanil mostraram-se mais eficientes na inibição do crescimento micelial, enquanto que vinclozolin e iprodione igualaram-se à testemunha. Trabalho realizado por Menten et al. (1995) classificou como altamente eficientes ($ED_{50} < 1$ ppm) clorothalonil, tebuconazol, procymidone, iprodione, tiofanato metílico + clorothalonil, captan, vinclozolin, tiofanato metílico e benomyl sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

Os fungicidas triazóis destacaram-se pela inibição total do crescimento micelial, sendo iguais aos fungicidas fluazinam, procymidone, iprodione e vinclozolin, considerados padrões para controle de *S. sclerotiorum*. Os fungicidas triazóis, apresentando este mesmo comportamento “*in vivo*”, possivelmente poderão atuar no controle parcial e preventivo da podridão branca da haste da soja, reduzindo os custos e mão de obra para o agricultor. Segundo Juliatti et al. (2004), muitos produtores de soja fazem aplicação preventiva de triazóis no florescimento pleno da soja (R_3) visando a prevenção da ferrugem e outras doenças e contribuindo substancialmente na redução da incidência da podridão branca em condições de campo.

6.2 Eficiência preventiva e curativa dos fungicidas no controle da podridão branca da haste da soja

Houve efeito significativo da interação fungicida*aplicação no controle da podridão branca da haste (Anexo 2A), sendo as aplicações preventivas mais eficientes que as curativas. Todos os fungicidas foram superiores, à testemunha no controle da doença. Em relação ao controle preventivo, a menor severidade da podridão branca da haste foi alcançada com os fungicidas protioconazol (0,0%), iprodione (0,5%), ciproconazol + propiconazol (0,5%), fluazinam (0,5%), vinclozolin (1,25%) e epoxiconazole + piraclostrobina (2,5%). Quanto ao controle curativo, o fungicida iprodione (1,3%), seguido de vinclozolin (23,8%) foram os mais eficientes no controle da doença (TABELA 4 e FIGURA 4 e 5). Em partes, os resultados estão de acordo aos obtidos por Oliveira (1998) que verificou que fluazinam, procymidone e vinclozolin apresentaram controle total do mofo branco do feijoeiro, quando avaliados

preventivamente e curativamente em condições controladas. Isto evidencia que nem sempre os fungicidas que são bons no controle do mofo branco do feijoeiro são bons no controle da podridão branca da haste da soja, uma vez que pode ocorrer interação entre grupo químico de fungicida e sua ação fisiológica na planta (absorção, translocação, efeito curativo e erradicante, etc.).

TABELA 4 – Severidade da podridão branca da haste da soja em função do efeito das aplicações preventivas e curativas de fungicidas. UFU, Uberlândia, 2008.

Fungicidas	Modo de Ação	
	Preventivo	Curativo
Iprodione	0,5 a A	1,3 a A
Vinclozolin	1,25 a A	23,8 b B
Tiofanato Metílico	22,5 b A	32,5 c A
Procimidone	61,3 c B	38,8 c A
Ciproconazol + Propiconazol	0,5 a A	40,0 c B
Protioconazole	0,0 a A	46,3 c B
Tebuconazol	68,3 c B	46,3 c A
Epoxiconazol + Piraclostrobina	2,5 a A	47,5 c B
Fluazinam	0,5 a A	51,3 c B
Tebuconazol + Trifloxistrobina	57,3 c A	60,0 d A
Azoxistrobina + Ciproconazol	51,3 c A	68,3 d B
Testemunha	85,0 d A	88,8 e A
CV (%)	31,43	

Médias seguidas de letras distintas minúscula na coluna, pelo teste de Scott-Knot, e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey, diferem entre si a 5% de significância.

Oliveira (1998), avaliando diferentes fungicidas, em cinco locais, sobre o mofo branco do feijoeiro e pelo método convencional de aplicação, verificou que a menor média de severidade da doença ocorreu com os fungicidas fluazinam (13%), procymidone (16,1%), vinclozolin (20,6%), benomyl (20,9%), carbendazim (24,6%) e iprodione (29,0%), diferindo da testemunha, com média de 48,4% de infecção.

Secco et al. (2007), comparando os fungicidas tiofanato metílico em 300 e 500 g i.a.ha⁻¹ e fluazinam em 250 g i.a.ha⁻¹, em 1, 2 ou 3 aplicações no controle do mofo branco da soja, verificaram que a menor incidência da doença ocorreu no tratamento fluazinam em duas aplicações. Quanto à produtividade, fluazinam em 3 aplicações e tiofanato metílico na dose de 500 g i.a.ha⁻¹ também em 3 aplicações foram os melhores.

Os fungicidas triazóis tebuconazol, tebuconazol + trifloxistrobina e azoxistrobina + ciproconazol que embora fungitóxico “*in vitro*”, não resultaram em

controle satisfatório da doença. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Matheron e Matejka (1989) que verificaram que o fungicida terbutrazole apresentou ótimo efeito inibitório do crescimento “*in vitro*”, porém não reduziu satisfatoriamente a incidência do mofo branco da alface em campo. O mesmo ocorreu com Oliveira (1998) que observou que não há correlação de eficiência no caso dos fungicidas triazóis testados “*in vitro*” e em campo no controle do mofo branco do feijoeiro. Entretanto, Silva et al. (2007) verificaram que o fungicida flutriafol + tiofanato metílico, triazol + benzimidazol reduziram a incidência do mofo branco da soja em relação a testemunha. Contudo, para o peso de mil grãos e produtividade, não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

Os fungicidas benzimidazóis e dicarboximidas, isoladamente ou em mistura, foram avaliados no controle químico da podridão branca da haste da soja. As aplicações foram realizadas em R₃ e R_{5.3}, com volume de calda de 400 l.ha⁻¹. Tratamentos que continham dicarboximidas em sua constituição (procymidone ou iprodione na dose de 500 g i.a.ha⁻¹) resultaram em maior produtividade. A incidência da doença sob tratamentos químicos foi menor em relação ao tratamento testemunha (LUZ JÚNIOR, et al., 2005).

A superioridade do fungicida iprodione nas aplicações preventivas e curativas, deve-se a sua maior concentração no volume de calda aplicada (2500 ppm), bem como seu modo de ação sobre *S. sclerotiorum* nas fases de pré e pós-penetração. Outros fungicidas específicos para *S. sclerotiorum*, como vinclozolin e fluazinam, que foram utilizados nas mesmas concentrações, apresentaram menor eficácia para a proteção do hospedeiro nas fases de pré e pós-penetração, considerando o isolado do patógeno agressivo obtido em plantas de soja no município de Jataí-GO. O fungicida prothioconazol pode ser considerado eficiente para as condições do presente trabalho, em função de sua baixa concentração de ingrediente ativo (250 ppm) e em relação aos demais. Resultados semelhantes, em condições de campo, com fungicida iprodione e sobre a podridão branca da soja foram relatados por LUZ JÚNIOR (2005).



FIGURA 4 – Controle preventivo da podridão branca da haste da soja, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí-GO, em função dos fungicidas, (A) ciproconazol + propiconazol, (B) fluazinam, (C) epoxiconazol + piraclostrobina, (D) protioconazol, (E) vinclozolin, (F) iprodione e (G) testemunha. UFU, Uberlândia, 2008.

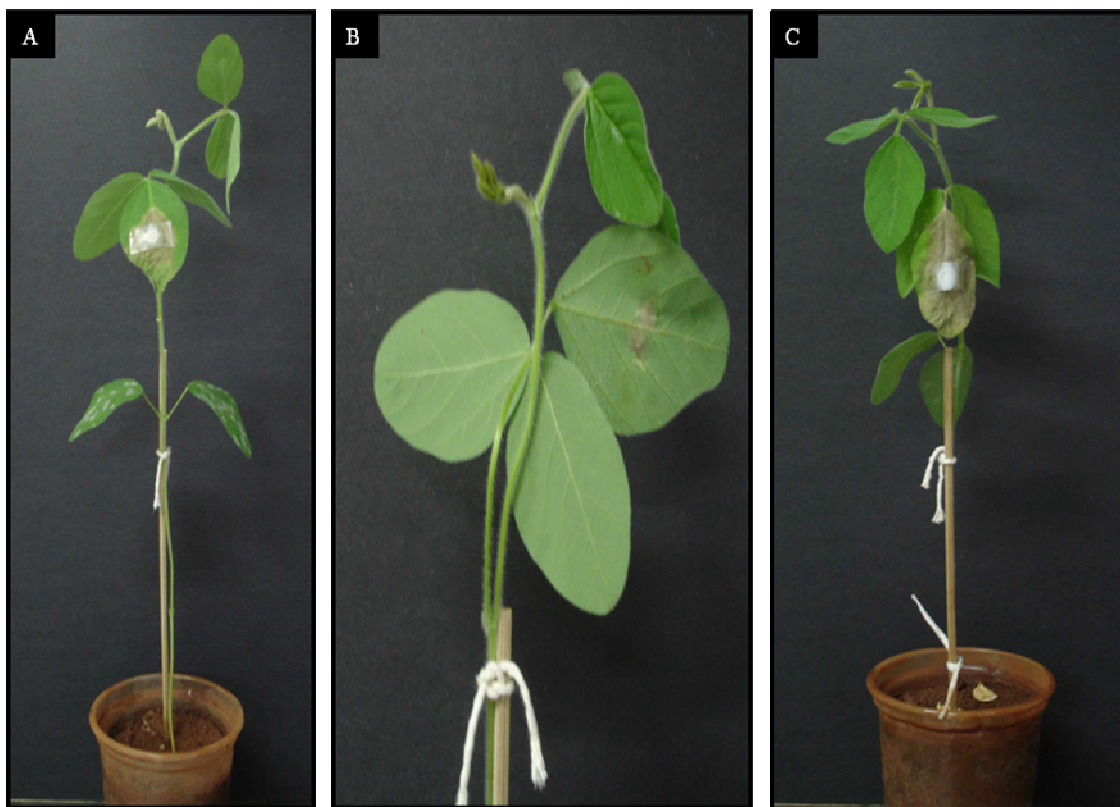


FIGURA 5 – Controle curativo da podridão branca da haste da soja, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí-GO, em função dos fungicidas, (A) vinclozolin, (B) iprodione e (C) testemunha. UFU, Uberlândia, 2008.

7 CONCLUSÕES

Para alguns fungicidas “*in vitro*”, a sua eficiência não está diretamente correlacionada com o controle da podridão branca da haste em plantas tratadas.

Os triazóis inibiram completamente o crescimento micelial do fungo, comparando-os aos fungicidas fluazinam, procimidone, iprodione e vinclozolin, a 100 ppm do ingrediente ativo.

Os fungicidas iprodione, vinclozolin, ciproconazol + propiconazol, protioconazol, epoxiconazol + piraclostrobina e fluazinam, aplicados preventivamente (pré-penetração), têm efeito significativo na redução da severidade da doença. Curativamente (pós-penetração), somente iprodione teve efeito acima de 90% na redução da severidade da doença.

Considerando as aplicações preventivas realizadas pelos produtores para controle da ferrugem asiática durante a floração da soja, é esperado que os fungicidas ciproconazol + propiconazol, protioconazol, epoxiconazol + piraclostrobina, reduzam a severidade da podridão branca da haste.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOTELHO, S.A.; COSTA, J.L.S. Efeito da dosagem e número de aplicações de fungicidas via pivô central para o controle do mofo branco do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30., 1997, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1997. p. 252.

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

COSTA, J.L.S. A densidade de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo determina a eficiência do controle químico do mofo branco do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30., 1997, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 1997. p. 258.

COSTA, G.R.; COSTA, J.L.S. Efeito dos fungicidas procimidone e benomyl na formação de apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 21., 1998, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Sociedade Paulista Fitopatologia, 1998. p. 51.

COYNE, D.P. ; STEADMAN, J.R. ; ANDERSON, F.N. Effect of modified plant architecture of great northern dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) on white mold severity, and components of yield. **Plant Disease**, St. Paul, v. 5, n. 4, p. 379-382, 1974.

DARIO, G.J.A.; VINCENZO, M.CV.; SILVA, M.SF.; VEIGA, J.S. Avaliação da eficiência do fungicida iprodione no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* ocorrente na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 29., 1996, Brasília. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 1996, p. 355.

FERNANDES, N.T.; PAULA, Jr., T.J.; ZAMBOLIN, L.; SILVA, A.A.; CHAVES, G.M. Efeito de herbicidas e fungicidas sobre a germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., 1994, Itajaí. **Resumos...** Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1994. p. 252.

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

FORSTER, R.L. Control of white mold of dry beans with foliar sprays, 1983. **Fungicide and Nematicide Tests**, Ithaca, v. 39, p. 130, 1983a.

FORSTER, R.L. Delayed applications of Topsin M fungicide through a center pivot sprinkler for white mold control in dry beans, 1983. **Fungicide and Nematicide Tests**, Ithaca, v.39, p. 130, 1983b.

GINDRAT, D. La sclérotiniose: sensibilité du *Sclerotinia sclerotiorum* au carbendazime et à la vinclozoline. **Revue Suisse D'Agriculture**, Lausanne, v. 25, n. 2, p. 115-119, 1993.

HAWTHORNE, B.T.; JARVIS, W.R. Differential activity of fungicides on various stages in life cycle of *Sclerotinia* spp. N.Z. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 16, p. 551-557, 1973.

HUNTER, J.E. ; ABAWI, G.S. ; CROSIER, D.C. Effects of timing, coverage, and spray oil on control of white mold snap bean with benomyl. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 62, n. 7, p.633-637, 1978.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA, IBGE. **Produção Agrícola:** lavouras. Disponível em: <
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>.
Acesso: 20 jun. 2008.

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

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

KIMURA, M.K.; SOUZA, P.E.; NETO, J.V.; HASSUIKE, J.T. Eficiência dos fungicidas procimidone (Sialex 500) e tiofanato metílico no controle da podridão de esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da ervilha (*Pisum sativum* L.). In: ., 29., 1996, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1996. p. 363.

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

LUZ JUNIOR, P.C.; SOUZA JUNIOR, J.F.; CAMPOS, H.D.; SILVA, J.R.; SILVA, L.H.C. Controle químico do mofo branco da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 38., 2005, Brasília. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2005, p. 95.

MATHERON, M.E.; MATEJKA, J.C. In vitro an field comparison of six new fungicides with iprodione an vinclozolin for control of leaf drop of lettuce caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 73, n. 9, p. 727-730, 1989.

MENTEN, J.O.M; PARADELA, A.; GALLI, M.A.; GONELLA, L.G.R. Eficiência *in vitro* de diversos fungicidas sobre *Sclerotinia sclerotiorum* do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28, 1995, Ilhéus. **Resumos...** Ilhéus: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 1995, p. 320.

MIRANDA, E.R.R.; LOBO JÚNIOR, M. Controle químico preventivo e curativo do mofo branco em feijoeiro comum. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 166-169.

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

OLIVEIRA, S.H.F. **Controle químico de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro:** ação in vitro sobre o ciclo de vida, ação preventiva e curativa em condições controladas e eficiência e modo de aplicação em campo. 1998. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

OLIVEIRA, S.H.F.; TOFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Eficiência de novos fungicidas no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* do feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27., 1994, Itajaí. **Resumos...** Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1994. p. 316.

OLIVEIRA, S.H.F.; RECCO, C.A.; SUGAHARA, E.; OLIVEIRA, D.A. Avaliação comparativa da fungigação e aplicação convencional de fungicidas para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguarúna, v. 21, n. 3-4, p. 249-252, 1995.

PINTO, J.V.M.R. **Medição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.** 2007. 1 fotografia, color., 12,49 cm x 14,79 cm.

SILVA, M.O.; BETTA, L.; NEVES, D.L.; RIBEIRO, G.C.; CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.P.C. Avaliação da eficácia de fungicidas no controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Brasília. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira Fitopatologia, 2007, p. 321.

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

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

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

TÖFOLI, J.G.; OLIVEIRA, S.H.F.; DOMINGUES, R.J. Controle químico do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do tomateiro, safra inverno/95. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 29., 1996, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1996, p. 385-386.

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.R.; LIBERATO, J.R. QUANT - a Software for plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch, New Zealand. **Anais...**, Christchurch, New Zealand 2003.

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

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

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W.S.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da resistência de fungos a fungicidas**. Viçosa: UFV, DPF, 2007. 168 p.

ANEXOS

ANEXO A – Análise de variância referente ao efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicida	30	122826,84	4094,23	715,80	0,0001**
Isolado	1	2205,46	2205,46	385,59	0,0001**
Fungicida*Isolado	30	14295,996	476,53	83,31	0,0001**
Erro	124	709,25	5,72		
CV (%)	2,7				

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

ANEXO B – Análise de variância referente ao efeito do controle preventivo e curativo sobre a doença podridão branca da haste da soja. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicida	11	54296,36	4936,03	35,90	0,0001**
Aplicação	1	6256,51	6256,51	45,51	0,0001**
Fungicida*Aplicação	11	14158,61	1287,15	9,36	0,0001**
Erro	72	9898,75	137,48		
CV (%)	31,43				

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

CAPÍTULO 5

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* E AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA QUANTO À PODRIDÃO BRANCA DA HASTE

1 RESUMO

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Métodos de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliação de genótipos de soja à podridão branca da haste.** UFU. 2008. 42 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

A reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*, bem como, os estádios fenológicos e métodos de inoculação eficientes para seleção de genótipos de soja à podridão branca da haste ainda não foram bem determinados. Desta forma, os objetivos deste trabalho foram determinar o melhor estádio fenológico e método de inoculação de *S. sclerotiorum* em genótipos de soja e estudar a resistência parcial à doença podridão branca da haste. Para determinação dos estádios de inoculação, estudou-se os estádios fenológicos V₁, V₂, V₃, V₄ e R₁ das cultivares MG/BR-46 (Conquista) e M-Soy 8200. Quanto aos métodos de inoculações, foram estudados disco de BDA “permanente” contendo micélio, permanecendo na folha até a avaliação, disco 24 horas, 24 horas após a inoculação o disco foi retirado, e disco toque, sendo este depositado e em seguida retirado. As inoculações ocorreram tanto nas folhas e nas hastes destacadas das plantas, quanto nas próprias plantas das cultivares MG/BR-46 (Conquista) e M-Soy 8200. Quanto a reação de genótipos de soja à doença, estudou-se 90 genótipos de soja que foram inoculados com disco de BDA permanente na folha destacada, acondicionada em caixas de gerbox. Dentre os 90 genótipos de soja avaliados, os que se comportaram como resistentes e moderadamente resistentes foram avaliados em inoculações na própria planta. As avaliações foram realizadas 72 horas após a incubação, a temperatura de 22 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas, com base em escala diagramática elaborada com a utilização do programa Quant. O delineamento experimental adotado para os ensaios foi o inteiramente casualizado, com 3 repetições. Os resultados demonstraram que a menor severidade da doença foi diretamente proporcional à idade das plantas, determinando-se como estádios ideais de inoculação V₂ (folhas e hastes) e V₃ (folhas). Em relação aos métodos de inoculações, o disco permanente proporcionou melhores resultados para inoculação de *S. sclerotiorum* em variedades de soja, tanto para órgãos destacados, como na planta, proporcionando uma correlação significativa. Quanto à seleção de genótipos de soja, apenas 19 genótipos se comportaram como resistentes e moderadamente resistentes, pelo método de inoculação na folha destacada. Quando estes 19 genótipos foram inoculados na própria planta, apenas 2 foram moderadamente resistentes e os demais moderadamente suscetíveis a suscetíveis. Neste caso, a correlação não foi significativa, possivelmente devido ao número de genótipos utilizados que foram apenas dois (suscetíveis), para avaliação dos métodos de inoculação, e 19 com reação diferenciada, para avaliação da resistência.

Palavras-chave: *S. sclerotiorum*, estádios fenológicos, métodos de inoculações e resistência de soja.

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

2 ABSTRACT

GARCIA, RICCELY ÁVILA. **Inoculation methods for *Sclerotinia sclerotiorum* and evaluation of soybean genotypes for soybean stem white rot.** UFU. 2008. 42 p. Dissertation (Master's degree in Agriculture/Phytopathology) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia¹.

The reaction of soybean genotypes to *Sclerotinia sclerotiorum*, as well as the phenological stages and inoculation methods for the selection of genotypes resistant to stem white rot has not been well determined. Therefore, this study determined the best phenological stage and inoculation method for *S. sclerotiorum* in soybean genotypes and studied partial resistance to stem white rot. The phenological stages analyzed for inoculation were V_c, V₂, V₃, V₄ and R₁ of cultivars MG/BR-46 (Conquista) and M-Soy 8200. The inoculation methods tested were a permanent PDA mycelial plug, which remained on the plant until evaluation, a plug for 24 hours, and a “touch” plug, which was placed on the leaf and immediately removed. Inoculations were done both on detached leaves and stems, as well as on intact plants of both cultivars. Soybean genotype resistance reaction was analyzed on 90 soybean genotypes inoculated with a permanent PDA plug on detached leaves placed on gerboxes. The genotypes that were resistant or moderately resistant were re-evaluated with inoculations on the whole plants. Evaluations were done 72 hours after incubation at 22 ± 3°C and 12 hours lighting, based on a diagrammatic scale prepared with the program Quant. The experimental design was completely randomized, with 3 repetitions. The results indicated that the smallest disease severity was directly proportional to plant age, and the ideal stage for inoculation were V₂ (leaves and stems) e V₃ (leaves). The permanent mycelial plug was the best inoculation method for *S. sclerotiorum* for both soybean cultivars, and detached organs as well as the whole plant, in a significant correlation. Only 19 soybean genotypes performed as resistant to moderately resistant by the detached leaf inoculation test. However, when these genotypes were tested as intact plants, only 2 were moderately resistant, while all others were moderately susceptible to susceptible. In this case, the correlation was not significant, possibly due to the number of genotypes used (only two susceptible), for the evaluation of inoculation methods, and 19 with a different reaction for resistance evaluation.

Keywords: *S. sclerotiorum*, phenological stages, inoculation methods; soybean resistance.

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

3 INTRODUÇÃO

A podridão branca da haste causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary vem tornando-se importante em campos de cultivo da cultura da soja em muitas regiões do Centro-Sul do país. Segundo Leite (2005), a ocorrência de epidemias de mofo branco na cultura da soja se deu em virtude da favorabilidade climática que ocorre durante a safra, ou seja, excesso de precipitação aliada a temperaturas abaixo de 20°C. A situação torna-se mais preocupante quando se consideram os altos investimentos feitos nessas regiões, com a instalação de pivôs centrais para a exploração de culturas altamente suscetíveis como a ervilha, o feijão, o tomate e a batata até safras contínuas de soja (YORINORI, 1997), além disso, o plantio de sementes infectadas também contribui para o aumento da doença (SILVA, 2008).

A fase mais vulnerável da soja é nos estádios da floração plena (R₂) ao início da formação das vagens (R₃/R₄) (ALMEIDA et al., 2005). Os sintomas ocorrem geralmente no terço médio das plantas, atingindo haste principal, pecíolos, folhas e vagens. Os sintomas são caracterizados de lesões encharcadas nos órgãos afetados, de coloração parda e consistência mole, com micélio branco, de aspecto cotonoso, cobrindo porções dos tecidos (LEITE, 2005).

A doença pode causar perdas variadas em função das condições ambientais, épocas de infecção e do sistema de cultivo adotado. Segundo Ridao; Fabano (2006), a doença é responsável pelo menor número e peso das sementes, além de constituir um sério problema na exportação de grãos. Dependendo da intensidade da doença as perdas ou redução no rendimento de soja podem ser significativas. Segundo Silva (2008), têm sido constatadas, tanto em áreas experimentais, quanto dos próprios agricultores, perdas de até 60% na produtividade. Em regiões de altitudes elevadas, onde as temperaturas noturnas são amenas e ocorre ampla formação de orvalho, a incidência da doença tem sido superior a 50%.

Apesar da diferença varietal quanto à reação entre genótipos de soja já ter sido relatado na literatura, ainda pouco se sabe sobre estas reações no germoplasma brasileiro. Urge, também, avaliar um método de inoculação adequado para seleção do germoplasma de soja resistente à doença. Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia adequada de inoculação para avaliar a reação de genótipos de soja quanto à resistência parcial a doença.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

A resistência de cultivares de soja à *S. sclerotiorum* tem sido avaliada em condições de campo, casa-de-vegetação e laboratório, sendo observadas respostas que variam desde elevada resistência até completa suscetibilidade (HOMECHIN, 1983; BOLAND; HALL, 1987; WEGULO et al., 1998; SILVA, MACHADO, 1989).

A resistência genética e a arquitetura de plantas podem reduzir o nível da doença. Um dossel aberto e hábito de crescimento vertical podem promover o rápido secamento das folhas e solo, e facilitar a circulação do ar e penetração de luz, promovendo o escape à doença e reduzindo a infecção das plantas (COYNE et al., 1974). Segundo Vieira (1994), a arquitetura de plantas afeta a suscetibilidade de cultivares de feijoeiro ao mofo branco. Para Steadman (1983), o hábito de crescimento de plantas, exclusivamente, não influencia na infecção.

Homechin (1983) avaliou a reação de 76 cultivares de soja a *S. sclerotiorum*, em campo naturalmente infestado pelo fungo. Das 76 cultivares, nenhuma foi imune a doença, mas 13 apresentaram baixo número de plantas infectadas, denotando possível resistência. Silva e Machado (1989) testaram 20 cultivares de soja à *S. sclerotiorum* através de inoculação artificial e verificaram que nenhum cultivar revelou-se imune, ao final de 60 horas de incubação. Entretanto, as cultivares Numbáira e IAC-11 apresentaram grande resistência, enquanto que UFV-1 e UFV-5 foram os mais suscetíveis ao patógeno.

Chaves et al. (1996) avaliaram as cultivares Abyara, Cobb, BR-4, BR-16 e IAS-5 quanto à resistência ou suscetibilidade à *S. sclerotiorum* através de inoculações com micélio seco na região do colo. Os autores verificaram que Abyara demonstrou maior resistência e Cobb maior suscetibilidade, enquanto que as demais variedades situaram-se em uma faixa intermediária, quanto à suscetibilidade ao patógeno. Zito et al. (2006) verificaram que as cultivares BRSMG Garantia, Monarca, MG/BR 46 (Conquista) e MGBR99-4656 apresentaram incidência de mofo branco menor que BR97-11548 e Potenza, em campo naturalmente infestado na região de Sacramento, MG. As cultivares não diferiram quanto ao rendimento de grãos.

Grau et al. (1982) avaliaram a resistência de cultivares de soja a *S. sclerotiorum* em campo naturalmente infestado. As cultivares Corsoy, Hodgson e Hodgson 78, de flores púrpuras, foram menos suscetíveis do que as cultivares Vickery, Evans, Amsoy 71, Wells, Wayne, Hark, Corsoy 79, Amcor, Harcor, Well 11, Century, Coles, Beeson

80, Beeson, Weber, Gnome, M70-153, A-3, Sprite, Hardin, Nebsoy, de flores brancas. Para os autores, persiste a dúvida se a resistência ao patógeno é expressada quando as flores são infectadas por ascósporos do patógeno. Entretanto, a resistência à invasão da haste parece estar relacionada a um fator associado com as flores roxas. Resistência ou suscetibilidade ao patógeno não foi relacionada à arquitetura de planta ou grupo de maturação da soja.

Segundo Pratt (1992), várias formas de inóculo podem ser usadas para iniciar a infecção de *Sclerotinia* spp. em plantas. A escolha de uma forma de inóculo e método de inoculação dependem da morfologia e estágio de crescimento da planta hospedeira, da precisão de informação, e da extensão em que a infecção natural deve ser simulada. Formas simples de inóculo incluem discos de colônias de ágar e micélio de colônias líquidas. Substratos orgânicos, como vagens de feijão, discos de cenoura e pequenos grãos são autoclavados com água e infestados com discos de ágar. Ascósporos e escleródios também podem ser usados como inóculo em casa de vegetação e campo.

O inóculo geralmente é aplicado em folhagem, caules e botões florais para iniciar a infecção. Pode ser aplicado nos internódios de hastes ou axilas das folhas ou sobre partes aéreas inteiras de plantas. Amendoim e soja podem ser inoculados com discos de ágar no colo da planta, e girassol e alface podem ser inoculados similarmente com escleródios individuais nos caules baixeiros ou raízes superiores. Ferimentos por picadas podem ser exigidos nos sítios de inoculação para uma infecção eficiente com essas técnicas. Ascósporos de *S. sclerotiorum* em suspensão (2000 ascósporos.ml⁻¹) podem ser pulverizados em plantas inteiras no estágio suscetível de florescimento (PRATT, 1992).

Segundo Loch e D'Avila (1994), partículas de micélio seco de *S. sclerotiorum* foram utilizadas com sucesso para a inoculação de raízes de plantas de alface, antes do transplante. Seguidos 6 dias do transplante, 100% das mudas inoculadas apresentavam-se mortas. Chaves (1996) avaliou a inoculação de *S. sclerotiorum* em diferentes densidades e locais de inoculação (junto à semente, junto ao colo de plantas jovens e no solo) através de micélio seco e escleródios em plantas de soja. Os resultados revelaram que micélio seco quando depositado na superfície do solo, junto ao colo de plantas jovens foi o mais eficiente.

Souza (1999) estudou diferentes métodos de inoculação de *S. sclerotiorum* em plantas de feijoeiro, entre eles estão: micélio seco na região do colo da planta, disco de BDA contendo micélio nas folhas primárias e axilas das folhas primárias, palito

colonizado pelo fungo inseridos nas hastes e ascosporos pulverizados em flores. A inoculação das axilas das plântulas com discos de BDA diferenciou melhor os genótipos quanto à resistência à *S. sclerotiorum* e apresentou maior similaridade com o método de inoculação de flores com ascosporos quanto à reação dos genótipos.

Cline e Jacobsen (1983) utilizaram a inoculação por tempo limitado, desenvolvida por Hunter et al. (1981). O procedimento envolve remoção precoce de inóculo (24 horas após a aplicação em sítio específico) para reduzir a severidade da doença e melhor revelar a resistência parcial que é superada com períodos mais longos de incubação (Cline e Jacobsen, 1983). Através dela, foi detectada diferença em resistência entre 10 cultivares de soja, sendo que Elf e Evans foram mais suscetíveis que Corsoy, Williams e Union e, segundo os autores, estes resultados estavam de acordo com observações de campo, porém Nelson et al. (1991a) os questionam, pois os dados de correlação não foram apresentados.

Chun et al. (1987) descreveram um teste em que a inoculação foi feita em hastes de soja cortadas, através da qual foi possível identificar diferenças entre variedades, havendo correlação com dados de campo. Segundo Nelson et al. (1991a, 1991b), este método oferece, em condições de laboratório, rapidez, economia e confiabilidade, porém os autores sugerem que seu valor para programas de melhoramento seja limitado, em virtude da falta de correlação com os dados de campo por eles observados.

Boland e Hall (1987) avaliaram 42 cultivares de soja à resistência a *S. sclerotiorum*, em condições de campo, durante os anos de 1981, 1982 e 1984, em Woodstock, Arkell e Ontario. As cultivares Maple Arrow, Ace, Maple Presto e McCall foram as mais promissoras. Os autores verificaram que a incidência da doença foi correlacionada com a altura da cultivar, severidade “lodging”, maturidade e número de apotécios sob o dossel, indicando que o escape a doença é um mecanismo importante que afeta a incidência de algumas cultivares à doença. Cultivares como Bicentennial e OAC Pisces apresentaram diferenças de resistência e suscetibilidade durante os períodos de avaliação, demonstrando que interação genótipo-ambiente pode ocorrer e dificultar a identificação de fontes de resistência. Ainda, os mesmos autores sugerem que cultivares com baixa incidência ou severidade de doença, em condições de campo, devem ser testadas em condições controladas para verificar se a possível resistência encontrada é decorrente de resistência fisiológica ou escape.

De acordo com Pratt e Rowe (1991) e Aung et al., (1994), o método da inoculação de caules foi empregado para avaliar genótipos de alfafa a *S. sclerotiorum* e

S. trifoliorum. Esta técnica utilizando inoculações repetidas nas hastes de cada planta apresentou uma variabilidade nas respostas de diferentes hastes inoculadas na mesma planta, requerendo várias repetições na avaliação para mostrar diferenças entre os materiais testados.

Chaves (1995) estudou o estágio de desenvolvimento de plantas de soja para inoculação com *S. sclerotiorum*. As plantas com 20, 30, 50 e 80 dias após a semeadura foram inoculadas com micélio seco na região do colo. Os resultados indicaram que plantas de soja devem ser preferencialmente inoculadas até o estágio V₁. Após qualquer forma de inoculação deve ser mantida alta umidade, por pelo menos 24-72 horas. Segundo Pratt (1992), partes inoculadas devem ser mantidas em câmara úmida para prevenir o secamento das lesões. As temperaturas favoráveis para inoculação são 20-25°C para *S. sclerotiorum*, 15-20°C para *S. trifoliorum* e 18-24°C para *S. minor*.

Um método simples que não requer plantas em florescimento foi utilizado por Leone e Tonneijck (1990) para selecionar cultivares de feijoeiro à *S. sclerotiorum* e *Botrytis cinerea*. Folhas primárias destacadas foram pulverizadas com uma suspensão de ascósporos, sendo necessária a adição de fosfato ou de misturas de fosfato inorgânico e glicose ao inóculo para estimular a patogenicidade. A concentração de esporos influenciou na produção de lesões, sendo que 2×10^6 esporos.ml⁻¹ foi melhor que 2×10^5 esporos.ml⁻¹.

Souza (1999) selecionou germoplasma de feijoeiro através de inoculação de folhas destacadas com ácido oxálico. A concentração de 4 mg do ácido por ml de água foi a que melhor discriminou os genótipos, pois a reação de resistência e suscetibilidade foi melhor observada com o método de inoculação de discos de BDA contendo micélio, em folhas destacadas enraizadas do feijoeiro. Os genótipos *Phaseolus aborigineus* (GL 0000113 e GL 0000409), Ex Rico 23 e Pérola apresentaram moderada suscetibilidade ao avanço do ácido em suas folhas; IAPAR 72, A 55, *P. multigaris* foram suscetíveis ao avanço da lesão; e *P. acutifolius* (GL 0000489 e GL 0000265) apresentaram-se altamente suscetíveis ao avanço do ácido em suas folhas, apresentando as maiores lesões por encharcamento. Genótipos menos suscetíveis, ou seja, com uma expansão mais lenta do ácido nas folhas sugerem um mais lento progresso da doença nas plantas infectadas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas, LAMIP, da Universidade Federal de Uberlândia. As plantas utilizadas nos experimentos foram cultivadas em copos plásticos de 500 ml contendo solo esterilizado em ambiente de casa-de-vegetação. Antes das inoculações das plantas ou folhas destacadas, estas eram levadas para laboratório.

5.1 Obtenção do isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*

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

5.2 Determinação do estágio fenológico para inoculação de *S. sclerotiorum*

Para determinação do estágio ideal de inoculação utilizou-se as cultivares de soja BR/MG-46 (Conquista) e M-Soy 8200 que foram avaliadas nos estádios V_1 , V_2 , V_3 , V_4 e R_1 , inoculando-se as folhas e as hastes. No estágio R_1 , inoculou-se o 3º trifólio, em V_4 , 2º trifólio; em V_3 e V_2 , 1º trifólio e em V_1 , folhas opostas. As inoculações nas hastes foram realizadas no 2º internódio a partir da gema apical. Somente um dos folíolos e folhas opostas de cada planta foi inoculado.

O folíolo inoculado foi previamente borrifado com água e recebeu um disco de micélio de 6 mm de diâmetro, com 7 dias de idade, sendo fixado por fita adesiva de durex. As inoculações nas hastes seguiram a mesma metodologia. Em seguida, as plantas foram cobertas com sacos plásticos borrifados com água, servindo como câmara úmida, e incubadas à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ (Pratt, 1992) e fotoperíodo de 12 horas, durante 72 horas.

5.3 Determinação do método de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*

Os métodos de inoculações consistiram de “disco de BDA permanente”, “disco toque” e “disco 24 horas”. As cultivares utilizadas neste ensaio foram BR/MG-46 (Conquista) e M-Soy 8200.

5.3.1 Inoculação em folha e haste destacada

Quando as plantas atingiram o estágio V₂, a folha correspondente ao 1º trifólio e o 1º internódio foram coletados e levados ao laboratório para montagem do experimento.

Os três folíolos correspondentes de cada planta e o internódio foram colocados separadamente em caixas gerbox contendo quatro folhas de papel toalha umedecidas em água destilada estéril. As caixas gerbox foram previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio, a 0,5%, e álcool a 50%. Antes da inoculação, os folíolos e os internódios foram borrifados com água e receberam um disco de BDA contendo micélio de 6 mm de diâmetro, com 5 dias de idade. No método de “disco toque”, depositou-se o disco no centro de cada folíolo e internódio, retirando-se em seguida. No método de “disco 24 horas”, retirou-se o disco do folíolo e do internódio após 24 horas de incubação, incubando-os novamente em seguida. Quanto ao método de “disco permanente”, o disco com micélio permaneceu no folíolo e no internódio até a avaliação (FIGURA 1). As caixas gerbox contendo os folíolos e os internódios foram incubadas à temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, em câmara de incubação, durante 72 horas.

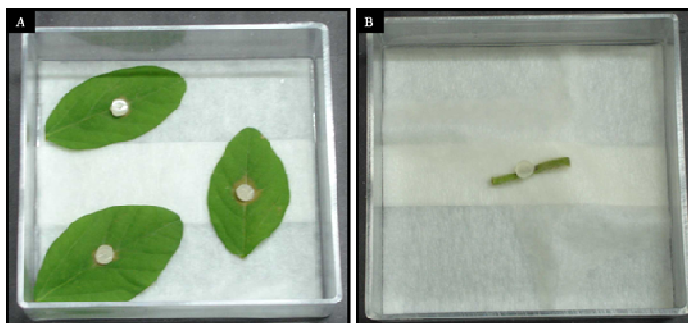


FIGURA 1 – Inoculação com discos de BDA contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em folíolos (A) e haste (B) destacados de soja. UFU, Uberlândia, 2008.

5.3.2 Inoculação na planta – folha e haste

Discos de micélio de seis mm de diâmetro e com 5 dias de idade foram colocados em um dos folíolos do 1º trifólio e fixados por fita adesiva de durex. As inoculações nas hastes foram realizadas no 1º internódio seguindo a mesma metodologia do item 5.3.1. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos borrifados com água, servindo como câmara úmida, e incubadas à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 72 horas (FIGURA 2).

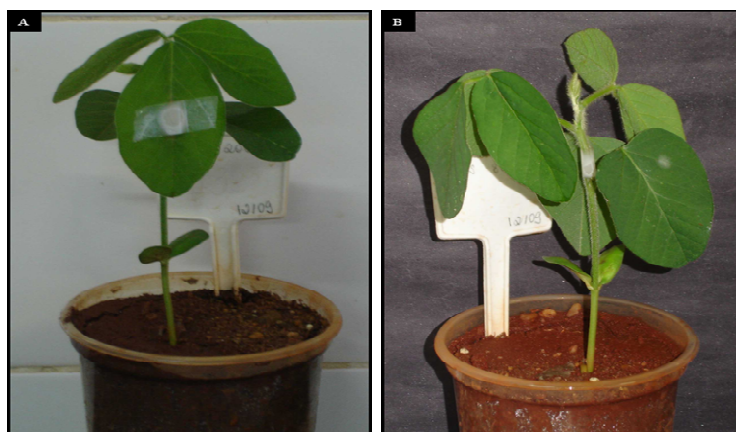


FIGURA 2 – Inoculação com discos de BDA contendo micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em folíolo (A) e haste (B) na planta de soja. UFU, Uberlândia, 2008.

5.4 Seleção de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*

5.4.1 Inoculação em folha destacada

As cultivares (TABELA 1) ao atingirem o estágio V₃ coletou-se a folha correspondente ao 1º trifólio para, então, ser levada ao laboratório para montagem do experimento.

Os três folíolos correspondentes de cada planta foram colocados separadamente em caixas gerbox contendo quatro folhas de papel toalha umedecidas em água destilada estéril. As caixas gerbox foram previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio, a 0,5%, e álcool a 50%. Antes da inoculação, os folíolos foram borrifados com água e receberam um disco de micélio de 6 mm de diâmetro com 5 dias de idade. As caixas gerbox foram incubadas à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, em câmara úmida, durante 72 horas.

TABELA 1 – Cultivares de soja utilizadas para screening inicial, quanto a resistência a *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal da podridão branca da soja. UFU, Uberlândia, 2008.

Cultivares	Cor da Flor*	Ciclo/Dias/Zonas Ambientais Homogêneas*	Origem*
CD 219	branca	Médio	Coodetec
CD 217	roxa	Semi-Precoce	Coodetec
CD 211	branca	Médio	Coodetec
CD 205	branca	Precoce	Coodetec
Nidera 7002	roxa	102-147	Nidera Sementes
Nidera 7005	roxa	102-123	Nidera Sementes
P98R31	roxa	126 a 133	Pioneer
FMT Tabarana	branca	125	Fundação Mato Grosso
FMT Perdiz	roxa	130	Fundação Mato Grosso
FMT Tucunaré	branca	125	Fundação Mato Grosso
TMG 103 RR	roxa	122	Fundação Mato Grosso
TMG 108 RR	branca	130	Fundação Mato Grosso
TMG 115 RR	branca	122	Fundação Mato Grosso
TMG 113 RR	branca	117	Fundação Mato Grosso
TMG 123 RR	branca	110	Fundação Mato Grosso
BRSMG 810C	branca	ZAH 8.1	Epamig
MG/BR-46 (Conquista)	roxa	ZAH 8.1	Epamig
BRSMG 790A	roxa	ZAH 7.9	Epamig
BRSMG 811CRR	roxa	ZAH 8.1	Epamig
BRSMG 750SRR	branca	ZAH 7.5	Epamig
BRSMG 752S	roxa	ZAH 7.5	Epamig
BRSMG 850GRR	roxa	ZAH 8.5	Epamig
BRSMG 68 [Vencedora]	roxa	ZAH 8.0	Epamig
BRSMG Garantia	branca	ZAH 8.7	Epamig
M-SOY 8045	branca	Precoce	MonSoy
M-SOY 8045 RR	branca	Precoce	MonSoy
M-SOY 7908	branca	Precoce	MonSoy
M-SOY 8008	branca	Precoce	MonSoy
M-SOY 8384 RR	roxa	130	MonSoy
M-SOY 2002	roxa	Precoce	MonSoy
M-SOY 8000 RR	roxa	Precoce	MonSoy
M-SOY 8352	roxa	Médio	MonSoy

“... continua...”

“TABELA 1, Cont.”

M-SOY 6101	branca	Precoce	MonSoy
M-SOY 8001	branca	Semi-Precoce	MonSoy
M-SOY 8199 RR	roxa	Precoce	MonSoy
M-SOY 8527 RR	roxa	135	MonSoy
M-SOY 8360	roxa	Médio	MonSoy
M-SOY 8200	branca	Médio	MonSoy
BRS 134	branca	Médio	Embrapa
BRS 154	branca	Médio	Embrapa
BRS Pampa RR	branca	Tardio	Embrapa
BRS Charrua RR	branca	Tardio	Embrapa
BRS 260	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 246 RR	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 257	branca	Precoce	Embrapa
BRS 133	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 245 RR	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 214	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 213	branca	Precoce	Embrapa
BRS 185	roxa	Semi-Precoce	Embrapa
Embrapa 48	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 258	branca	Semi-Precoce	Embrapa
BRS 212	branca	Precoce	Embrapa
IAS 5	branca	Precoce	Embrapa
BR 16	branca	Semi-Precoce	Embrapa
Cobb	branca	Tardio	Fundacep
BR 4	roxa	Médio	Embrapa
FT Abyara	roxa	Médio	FT - Pesquisa e Sementes
IAC 15	branca	Semi-Precoce	IAC
BRSGO Santa Cruz	roxa	Médio	Embrapa/Agência Rural
BRSGO Araçu	branca	Precoce	Embrapa/Agência Rural
Emgopa 314 (Garça Branca)	roxa	Tardio	Embrapa/Agência Rural
BRS Milena	roxa	Médio	Embrapa/Agência Rural
Emgopa 315	branca	Médio	Embrapa/Agência Rural
Emgopa 315 RR	branca	Semi-Precoce	Agência Rural
Emgopa 302	roxa	Precoce	Embrapa/Agência Rural
BRSGO Mineiros	roxa	Precoce	Embrapa/Agência Rural
BRSGO Mineiros RR	roxa	Precoce	Agência Rural

“... continua...”

“TABELA 1, Cont.”

BRS Baliza RR	branca	136	Embrapa
Emgopa 316	roxa	Precoce	Embrapa/Agência Rural
Emgopa 316 RR	branca	Precoce	Agência Rural
BRS GO Luziânia	roxa	Médio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO-204 (Goiânia)	roxa	Precoce	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Jataí	branca	Tardio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Raíssa	branca	Médio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Caiapônia	roxa	Precoce	Embrapa/Agência Rural
BRS Silvânia RR	branca	126	Embrapa
BRS GO Paraíso	roxa	Tardio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Princesa	roxa	Tardio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Iara	branca	Precoce	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Indiará	roxa	Médio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Ipameri	roxa	Tardio	Embrapa/Agência Rural
BRS GO Chapadões	branca	Médio	Embrapa/Agência Rural
BRS Raimunda	branca	Tardio	Embrapa
BRS Tracajá	roxa	Precoce	Embrapa
BRS Sambaíba	branca	Médio	Embrapa
BRS Valiosa	roxa	ZAH 8.1	Embrapa
BRS Valiosa RR	roxa	ZAH 8.1	Embrapa
BRS Favorita	roxa	ZAH 7.9	Embrapa
BRS Favorita RR	roxa	ZAH 7.9	Embrapa

*Fonte: Agência Rural, Embrapa Soja, Epamig, Fundação Mato Grosso, Monsanto, Pioneer Sementes, 2008.

As cultivares classificadas como imunes, resistentes e moderadamente resistentes em ensaio de folha destacada foram selecionados para inoculação na planta.

5.4.2 Inoculação na planta - folha

As cultivares Emgopa 316, BRSGO Milena, Emgopa 314, FMT Perdiz, FMT Tabarana, M-Soy 8360, BR 16, BRSMG 790A, P98R31, M-Soy 8352, M-Soy 2002, BRSMG 68 [Vencedora], BRSGO Princesa, CD 211, CD 205, BRSGO Caiapônia, M-Soy 8008, BRS 185, Emgopa 315 e BRS Baliza RR, ao atingirem o estágio V₃, foram inoculados com discos de micélio de seis mm de diâmetro e com 5 dias de idade em apenas um dos folíolos correspondente ao 1º trifólio. Os discos foram colocados de forma invertida, ou seja, a superfície que cotinha o micélio foi colocada em contato com o folíolo. Os discos foram fixados por fita adesiva de durex. Imediatamente após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos plásticos borrifados com água, servindo como câmara úmida, e incubadas à temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante 72 horas.

5.5 Avaliações

As avaliações foram realizadas 72 horas após a incubação, com base em escala diagramática elaborada com a utilização do Programa Quant da UFV (VALE et al., 2003).

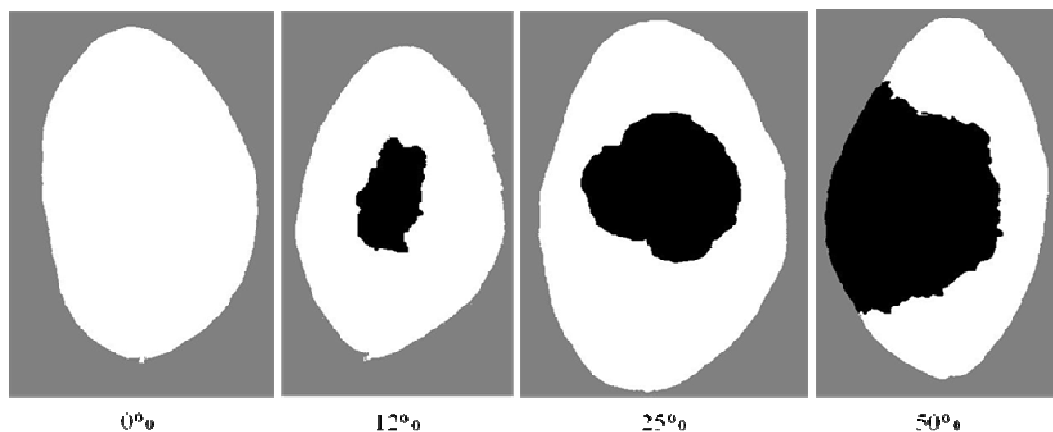


FIGURA 3 – Escala diagramática para avaliação de sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas inoculadas de plantas de soja. UFU, Uberlândia, 2008.

Com base na severidade da doença, os genótipos foram classificados em imunes (ausência de doença), resistentes (severidade variando entre 0 a 12%), moderadamente resistentes (severidade variando entre 12 a 25%), moderadamente suscetíveis (severidade variando entre 25 a 50%) e suscetíveis (severidade maior que 50%). As

avaliações na haste foram realizadas medindo-se com régua o tamanho (cm) da lesão e calculando-se a porcentagem de doença, em comparação ao tamanho total da haste.

5.6 Delineamento experimental

Para o ensaio de determinação do estágio de inoculação (ensaio 5.2), o delineamento foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 5 (estádios) x 2 (variedades), com 3 repetições. Quanto ao ensaio de método de inoculação (5.3.1 e 5.3.2), utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 3 (métodos) x 2 (variedades), com 3 repetições. Em relação ao ensaio de seleção de genótipos de soja, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo 90 tratamentos para o item 5.4.1 e 20 tratamentos para o item 5.4.2.

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste de F, aplicando-se teste de Tukey (itens 5.2, 5.3.1 e 5.3.2) e Scott-Knot (item 5.4.1 e 5.4.2), por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2000) e teste de t para correlação.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Influência do estágio fenológico de plantas de soja na inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* quanto à podridão branca da haste

Observando o Anexo 1A, verifica-se que a interação estádios*órgãos*variedades não foi significativa, somente a interação órgãos*estádios, a 1%, de significância. Independente do estágio de inoculação, as inoculações na folha resultaram em maior severidade da doença, se comparadas à inoculação na haste. As menores porcentagens de severidade da doença foram diretamente proporcionais ao aumento da idade das plantas (TABELA 2). Chaves (1995) também constatou um acréscimo linear na taxa de sobrevivência, a medida que as plantas avançaram em seu desenvolvimento.

Nos estádios V₁, V₂ e R₁, os valores de severidade foram mais consistentes entre os órgãos folíolos e hastes. Entretanto, considera-se que os estádios V₁ e R₁ não sejam ideais para inoculação, pois, no estágio V₁, os tecidos apresentam-se bastante tenros, facilitando a infecção por *S. sclerotiorum*, uma vez que o fungo é de crescimento rápido, enquanto que, no estágio R₁, as plantas estão mais desenvolvidas e com tecidos mais lignificados. Em campo, a planta se torna mais suscetível com o início do estágio R₁, pois são nas flores que os ascósporos de *S. sclerotiorum* encontram as fontes exógenas de energia como α -celulose para germinar. Também nesta fase, o microclima é mais favorável ao patógeno, devido ao maior índice de área foliar (dossel) na fase pós-florescimento. Além disso, a maior cobertura foliar durante o fechamento da cultura permite que plantas doentes entrem em contato com plantas saudáveis, aumentando os focos da doença e/ou a sua disseminação radial.

TABELA 2 – Severidade (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito dos órgãos e estádios de desenvolvimento. UFU, Uberlândia, 2008.

Órgão	Estádios				
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	R ₁
Folha	100 a A	100 a A	98,8 a AB	77,5 a B	41,2 a C
Haste	95,3 a A	62,3 b B	25,3 b A	29,2 b A	18,2 b A

Média seguidas de letras distintas minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

Devido à maior segurança e consistência entre as inoculações nos folíolos e nas hastes para ambas as cultivares, o estágio V₂ possivelmente é o mais indicado para inoculação de *S. sclerotiorum* em plantas de soja. Entretanto, considerando inoculações somente em folíolos, o estágio V₃ também apresentou resultados similares ao estágio V₂. Desta forma, para inoculação em folíolos, os estádios V₂ e V₃ seriam os mais indicados. A coincidência do florescimento em condições de campo com maior incidência de podridão branca deve-se possivelmente ao escape nas fases vegetativas, o que pode ser resolvido com inoculação artificial, obtida por meio de inóculo laboratorial, conforme a proposta do presente trabalho. Presume-se que a inoculação reproduza, com segurança, às infecções de campo (ocorrência natural), ou seja, não muito drástica a ponto de não discriminar genótipos resistentes e nem possíveis escapes, quando a pressão de doença é baixa. Além disso, os estádios V₂ e V₃ apresentam maior rapidez em um programa de seleção de variedades à *S. sclerotiorum*, quando comparados a estádios mais avançados. O estágio V₃, como fase ideal para inoculação de plantas de soja à *S. sclerotiorum*, concorda com os resultados obtidos por Silva e Machado (1989). Entretanto, discordam dos obtidos por Chaves (1995) que verificaram que o estágio V₁ é o mais indicado em testes com variedade de soja utilizando a metodologia de micélio seco no colo da planta, sem provocação de ferimentos. Isto pode ser explicado devido as metodologias empregadas serem diferentes, evidenciando que além de plantas de soja apresentarem diferença na suscetibilidade a *S. sclerotiorum* no decorrer do ciclo, apresenta variação ao tipo de inóculo usado na inoculação.

6.2 Influência do método de inoculação na severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em inoculação na folha e haste destacada e na planta

Pelo Anexo 2A, verifica-se que a interação método*órgão*variedade foi significativa, a 1% de significância, quando as inoculações ocorreram nos órgãos destacados. Independente das inoculações nos órgãos destacados ou na planta, os métodos de disco permanente e 24 horas resultaram em maiores severidades da doença para ambas cultivares e órgãos (TABELAS 3 e 4 e FIGURAS 4 e 5).

A diferença entre as cultivares, quanto à suscetibilidade à doença foi observada somente entre os métodos de disco toque e disco 24 horas na haste (TABELA 4). A maior severidade da doença foi observada quando o órgão inoculado foi a folha, independente da cultivar utilizada. O fato das folhas terem sido mais suscetíveis em

relação às hastes pode ser explicado, possivelmente, devido ao menor acúmulo de lignina em relação às hastes. Segundo Taiz; Zeiger (2004), as porções de lignina variam entre as espécies vegetais, órgãos vegetais e camadas de uma única parede celular, sendo que a rigidez mecânica da lignina fortalece os caules e o tecido vascular. A exceção ocorreu somente para disco toque, cultivar MG/BR-46 (Conquista), e disco 24 horas, cultivar M-Soy 8200, em que a inoculação na haste resultou em maior severidade (TABELA 3).

TABELA 3 – Severidade (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação em órgãos destacados, pelo teste de Tukey, avaliando método e órgão. UFU, Uberlândia, 2008.

Método	Conquista		M-Soy 8200	
	Folha	Haste	Folha	Haste
Testemunha	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A
Disco Toque	4,3 a A	25,0 b B	2,3 a A	0,0 a A
Disco 24 horas	77,3 b B	44,0 c A	85,7 b A	00,0 c B
Disco Permanente	91,3 c A	84,0 d A	91,7 b B	80,3 b A

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna mostram diferenças significativas para métodos dentro de cada variedade e de cada órgão e maiúsculas na linha mostram diferenças significativas para órgãos dentro de cada variedade e de cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

TABELA 4 – Severidade (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação em órgãos destacados, pelo teste de Tukey, avaliando cultivares. UFU, Uberlândia, 2008.

Método	Folha		Haste	
	Conquista	M-Soy 8200	Conquista	M-Soy 8200
Testemunha	0,0 a	0,0 a	0,0 A	0,0 A
Disco Toque	4,3 a	2,3 a	25,0 B	0,0 A
Disco 24 horas	77,3 a	85,7 a	44,0 A	100,0 B
Disco Permanente	91,3 a	91,7 a	84,0 A	80,3 A

Médias seguidas por letras minúsculas na linha diferem as cultivares dentro do órgão folíolo para cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

Médias seguidas por letras maiúsculas na linha diferem as cultivares dentro do órgão haste para cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

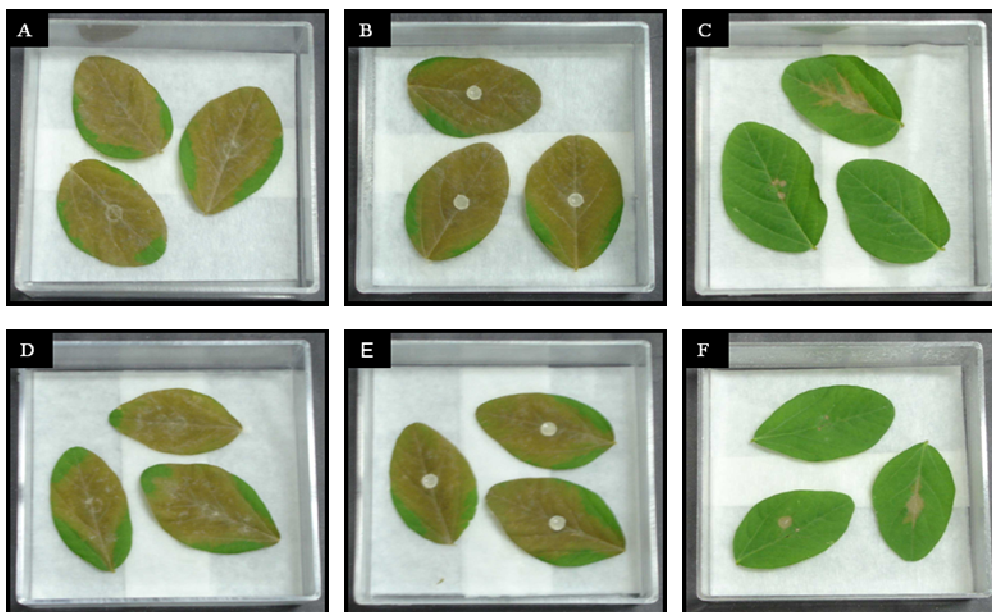


FIGURA 4 – Sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em folíolos de soja destacados em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.

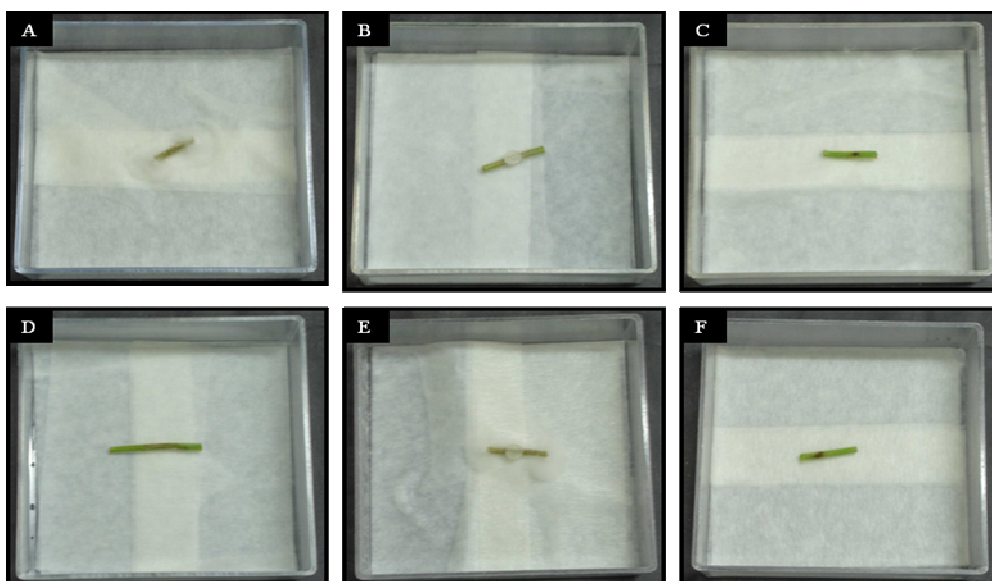


FIGURA 5 – Sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em hastes de soja destacadas em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.

O uso de folhas destacadas vem sendo utilizado em diferentes culturas para avaliar a resistência à *S. sclerotiorum*. Mouly e Esquerre-Tugaye (1989) utilizaram folhas destacadas de girassol, alimentadas com ácido oxálico, toxina produzida por *S. sclerotiorum*, para avaliar marcadores moleculares de tolerância ao fungo. Um método

simples que não requer plantas em florescimento foi utilizado por Leone e Tonneijck (1990) que, através de folhas primárias destacadas, selecionaram cultivares de feijoeiro a *S. sclerotiorum* e *Botrytis cinerea*. As folhas foram pulverizadas com uma suspensão de ascósporos, sendo necessária a adição de fosfato ou de misturas de fosfato inorgânico e glicose ao inóculo para estimular a patogenicidade. Souza (1999), através de inoculação das axilas de plântulas de feijoeiro com discos de BDA, diferenciou os genótipos quanto à resistência à *S. sclerotiorum*, além de apresentar maior similaridade com o método de inoculação de flores com ascósporos quanto à classe de reação dos genótipos.

Observando-se o Anexo 3A, verifica-se que a interação entre método*órgão*variedade também foi significativa, quando as inoculações ocorreram na planta a 1% de significância. O método de disco toque não é indicado para inoculação na planta devido ter sido igual à testemunha, tanto para folha, como para haste, de ambas as cultivares (TABELA 5). A cultivar M-Soy 8200 demonstrou ser mais suscetível, quando a inoculação ocorreu na haste. Em relação às folhas, as duas se comportaram iguais à doença, com exceção da cultivar BR/MG-46 (Conquista) que no método de disco 24 horas apresentou maior severidade (TABELA 6).

Os métodos de disco 24 horas e disco permanente apresentaram resultados similares entre as cultivares e os órgãos inoculados (FIGURA 6 e 7). Estes resultados discordam dos de Cline e Jacobsen (1983) que utilizaram a inoculação por tempo limitado, desenvolvida por Hunter et al., (1981), demonstrando que a remoção precoce de inóculo (24 horas após a aplicação em sítio específico) reduz a severidade da doença e melhor revela a resistência parcial que é superada com períodos mais longos de incubação. Este método, com algumas modificações, foi usado para avaliar interações de *S. sclerotiorum* e soja (CLINE e JACOBSEN, 1983; BOLAND e HALL, 1986).

Em relação aos métodos já descritos, tais como o uso de ascósporos (LEONE e TONNEIJCK, 1990; PRATTI, 1991), micélio seco (LOCH e D'ÁVILA, 1994 e CHAVES, 1995), escleródios (CHAVES, 1995) e ácido oxálico (MOULY e ESQUERRE-TUGAYE, 1989), o método de disco de micélio apresentou mais praticidade e rapidez, principalmente quando as inoculações ocorreram na folha. Oliveira (1998), em inoculação por disco de BDA na folha e palito contaminado na haste, para avaliação preventiva e curativa de fungicidas, verificou que o método de disco de BDA apresentou-se mais eficaz que o método de palito contaminado.

TABELA 5 – Severidade (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação na planta, pelo teste de Tukey, avaliando método e órgão. UFU, Uberlândia, 2008.

Método	Conquista		M-Soy 8200	
	Folha	Haste	Folha	Haste
Testemunha	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A
Disco Toque	0,0 a A	0,0 b B	0,0 a A	0,0 a A
Disco 24 horas	94,0 b B	48,0 b A	89,7 b B	58,0 b A
Disco Permanente	96,0 b B	50,7 b A	98,7 c B	63,0 b A

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna mostram diferenças significativas para métodos dentro de cada variedade e de cada órgão e maiúsculas na linha mostram diferenças significativas para órgãos dentro de cada variedade e de cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

TABELA 6 – Severidade (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito do método de inoculação, variedade e órgão pelo método de inoculação na planta, pelo teste de Tukey, avaliando cultivares. UFU, Uberlândia, 2008.

Método	Folha		Haste	
	Conquista	M-Soy 8200	Conquista	M-Soy 8200
Testemunha	0,0 a	0,0 a	0,0 A	0,0 A
Disco Toque	0,0 a	0,0 a	0,0 A	0,0 A
Disco 24 horas	94,0 b	89,7 a	48,0 A	58,0 B
Disco Permanente	96,0 a	98,7 a	50,7 A	63,0 B

Médias seguidas por letras minúsculas na linha diferem as cultivares dentro do órgão folíolo para cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

Médias seguidas por letras maiúsculas na linha diferem as cultivares dentro do órgão haste para cada método, pelo teste de Tukey, a 1% de significância.

O método da inoculação de caules foi empregado para avaliar genótipos de alfafa à *S. sclerotiorum* e *S. trifoliorum* (Pratt e Rowe, 1991; Aung et al., 1994). Esta técnica utilizando repetidas inoculações nas hastes de cada planta, no entanto, apresentou uma variabilidade nas respostas de diferentes hastes inoculadas na mesma planta, requerendo várias repetições na avaliação para mostrar diferenças entre os materiais testados.

Dentre as desvantagens do método de disco por 24 horas, há o fato da mão de obra de retirá-los e dos ferimentos ocasionados na folha em função da fita adesiva durex usada para fixá-los. O método do disco permanente apresentou mais praticidade em relação aos demais métodos. Além disso, similariza mais uma condição de campo, pois quando o inóculo de *S. sclerotiorum* chega à superfície da planta, estes não permanecem neste local por tempo determinado.

A comparação entre as inoculações em folhas e hastes destacadas e na planta resultou em uma correlação ($r = 0,9189$) altamente significativa ($p < 0,01$). Isto

comprova que o método de inoculação de folhas e hastes destacadas apresentou-se como uma ferramenta viável para seleção de genótipos de soja à *S. sclerotiorum*, uma vez que, neste método, consegue-se estudar a reação de vários genótipos em pouco tempo e espaço, comparado ao método de inoculação na planta.



FIGURA 6 – Sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em hastes de soja em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.

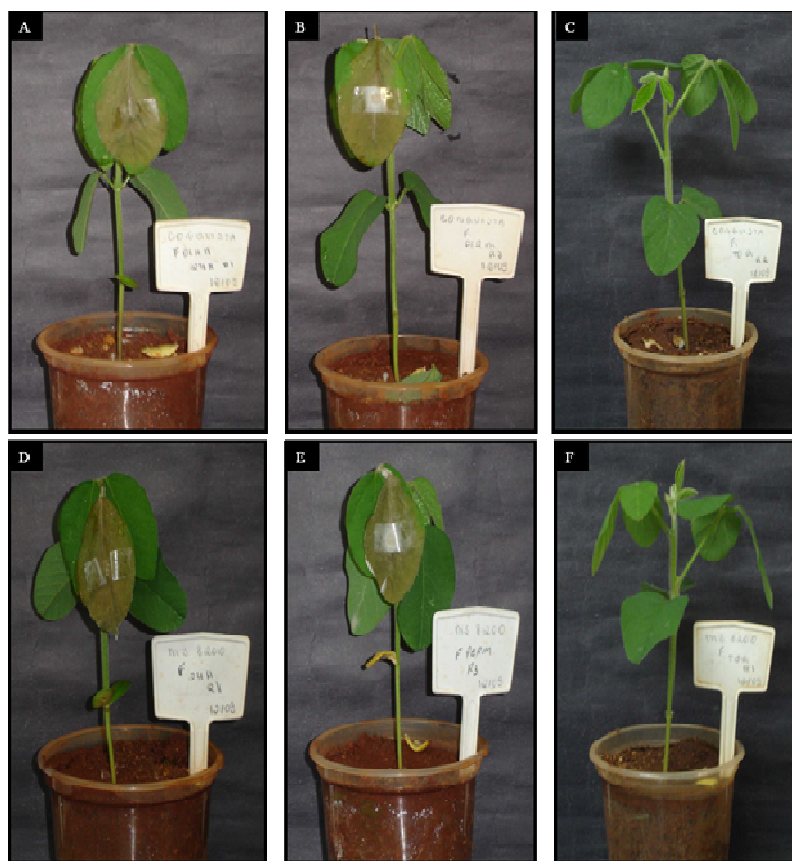


FIGURA 7 – Sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, em folhas de soja em função dos métodos de inoculações, (A) disco 24 horas, (B) disco permanente e (C) disco toque na cultivar M-Soy 8200 e (D) disco 24 horas, (E) disco permanente e (F) disco toque na cultivar BR/MG-46 (Conquista). UFU, Uberlândia, 2008.

6.3 Reação de cultivares de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*

Observando o Anexo 4A e Anexo 5A, verifica-se que houve diferença significativa entre as variedades, quando inoculadas em folíolos destacados e na própria planta. As cultivares apresentaram comportamento variado, quanto à reação à *S. sclerotiorum* (TABELA 7). Das 90 cultivares avaliados, 10 comportaram como resistentes (FIGURA 8), 9 como moderadamente resistentes (FIGURA 9), 5 como moderadamente suscetíveis (FIGURA 10) e 66 como suscetíveis (FIGURA 11). Dentre as cultivares classificados como resistentes, Emgopa 316, BR 16 e Milena foram os que obtiveram menor severidade da doença.

TABELA 7 – Reação de cultivares de soja à *Sclerotinia sclerotiorum* pelo método da folha destacada. UFU, Uberlândia, 2008.

Cultivares	Cor da Flor	Severidade (%)	Reação à <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
FMT Tabarana	branca	100,00 h	S
TMG 115 RR	branca	100,00 h	S
BR 4	roxa	100,00 h	S
FMT Tucunaré	branca	100,00 h	S
BRS Sambaíba	branca	99,33 h	S
BRSGO Chapadões	branca	99,33 h	S
BRS Pampa RR	branca	99, 00 h	S
Emgopa 315 RR	branca	98,67 h	S
BRS 257	branca	98,00 h	S
IAC 15	branca	98,00 h	S
BRSGO Araçu	branca	98,00 h	S
BRSGO Santa Cruz	roxa	97,33 h	S
Abyara	roxa	97,00 h	S
Cobb	branca	97,00 h	S
IAS 5	branca	97,00 h	S
BRS 212	branca	97,00 h	S
BRS 260	branca	97,00 h	S
TMG 113 RR	branca	97,00 h	S
TMG 103 RR	roxa	96,33 h	S
BRSGO Mineiros	roxa	96,33 h	S
CD 217	roxa	96,00 h	S
M-SOY 6101	branca	96,00 h	S
BRS 258	branca	96,00 h	S
Emgopa 302	roxa	96,00 h	S
BRSGO Iara	branca	95,67 h	S
BRS 213	branca	95,67 h	S
BRS 164	branca	95,67 h	S
BRSGO-204 (Goiânia)	roxa	95,33 h	S
BRSGO Mineiros RR	roxa	95,33 h	S
BRS Charrua RR	branca	95,33 h	S
BRS 245 RR	branca	95,00 h	S
BRS 154	branca	95,00 h	S
BRSGO Indiará	roxa	94,67 h	S
M-SOY 8199 RR	roxa	94,33 h	S
BRSMG 752S	roxa	94,33 h	S
Nidera 7002	roxa	94,33 h	S
BRSMG 750SRR	branca	94,00 h	S
BRS 246 RR	branca	93,67 h	S
TMG 108 RR	branca	93,67 h	S
BRSMG Garantia	branca	93,33 h	S

“...continua...”

“TABELA 7, Cont.”

BRSMG 811CRR	roxa	93,33 h	S
MG/BR-46 (Conquista)	roxa	93,00 h	S
BRS Silvânia RR	branca	92,33 h	S
M-SOY 8001	branca	92,00 h	S
BRSGO Ipameri	roxa	91,67 h	S
BRSMG 810C	branca	91,67 h	S
Emgopa 316 RR	branca	91,00 h	S
CD 219	branca	91,00 h	S
BRS Tracajá	roxa	90,00 h	S
BRSGO Jataí	branca	89,33 h	S
BRSGO Raíssa	branca	89,00 h	S
Embrapa 48	branca	89,00 h	S
BRS 214	branca	88,67 h	S
BRS Favorita	roxa	88,00 h	S
M-SOY 7908	branca	87,00 g	S
Nidera 7005	roxa	86,00 g	S
M-SOY 8045	branca	85,00 g	S
BRSGO Paraíso	roxa	84,67 g	S
M-SOY 8384 RR	roxa	84,00 g	S
M-SOY 8045 RR	branca	83,00 g	S
M-SOY 8200	branca	82,00 g	S
BRS Valiosa RR	roxa	82,00 g	S
TMG 123 RR	branca	81,67 g	S
BRS 133	branca	78,67 g	S
BRS Raimunda	branca	57,67 f	S
M-SOY 8527 RR	roxa	57,00 f	S
BRSMG 850GRR	roxa	49,67 e	MS
BRS Valiosa	roxa	46,67 e	MS
M-SOY 8000 RR	roxa	49,00 e	MS
BRS Favorita RR	roxa	28,67 d	MS
BRSGO Luziânia	roxa	28,00 d	MS
Emgopa 314 (Garça Branca	roxa	19,00 c	MR
BRSMG 68 [Vencedora]	roxa	19,00 c	MR
CD 205	branca	19,00 c	MR
BRSGO Caiapônia	roxa	18,33 c	MR
CD 211	branca	17,33 c	MR
P98R31	roxa	16,33 c	MR
M-SOY 2002	roxa	15,00 c	MR
BRSMG 790A	roxa	13,67 b	MR
FMT Perdiz	roxa	13,00 b	MR
Emgopa 315	branca	11,00 b	R
M-SOY 8360	roxa	10,67 b	R
M-SOY 8352	roxa	10,33 b	R
BRS Baliza RR	branca	10,00 b	R

“TABELA 7, Cont.”

M-SOY 8008	branca	9,33 b	R
BRS 185	roxa	8,33 b	R
BRSGO Princesa	roxa	8,00 b	R
BRS Milena	roxa	3,00 a	R
BR 16	branca	1,33 a	R
Emgopa 316	roxa	0,67 a	R

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

*R = resistente, MR = moderadamente resistente, MS = moderadamente suscetível e S = suscetível

As cultivares BRSMG Garantia e MG/BR 46 (Conquista) foram suscetíveis à *S. sclerotiorum*, discordando dos resultados obtidos por Zito et al. (2006) que verificaram que as cultivares BRSMG Garantia, Monarca, MG/BR 46 (Conquista) e MGBR99-4656 apresentaram valores de incidência de mofo branco significativamente menores que BR97-11548 e Potenza, em campo naturalmente infestado, na região de Sacramento, MG. Quanto ao rendimento de grãos, não houve diferença entre as cultivares. Pode-se inferir também que as diferenças encontradas no presente trabalho e o de Zito et al. (2006) sejam devido a uma variabilidade genética diferenciada na população do fungo ainda não estudada em soja. Presume-se que este tipo de estudo seja prioritário, antes de se conhecer ou implantar estudos ou programas de melhoramento para resistência ao patógeno. Outro fato é que, no trabalho de Zito et al. (2006), foi avaliada a incidência em condições de campo, onde pode ter ocorrido escape à infecção, em função do clima, arquitetura de plantas e estágio fenológico. Nas condições do presente trabalho, isto não ocorre porque foi realizada a inoculação artificial em câmara de crescimento à 22°C, condições estas de extrema favorabilidade ao desenvolvimento da doença. Além disso, utilizou-se um isolado agressivo previamente selecionado para este tipo de trabalho.

Segundo Boland e Hall (1987), em campo, pode ocorrer escape à doença através da altura da cultivar, severidade “lodging”, maturidade e número de apotécios sob o dossel, indicando que o escape a doença é um mecanismo importante que afeta a incidência de algumas cultivares à doença. Os autores sugerem que cultivares com baixa incidência ou severidade à doença, em condições de campo, devem ser testadas, em condições controladas, para verificar se a possível resistência encontrada é decorrente de resistência fisiológica ou escape. O ciclo da cultivar também pode interferir na incidência da doença através de escape.

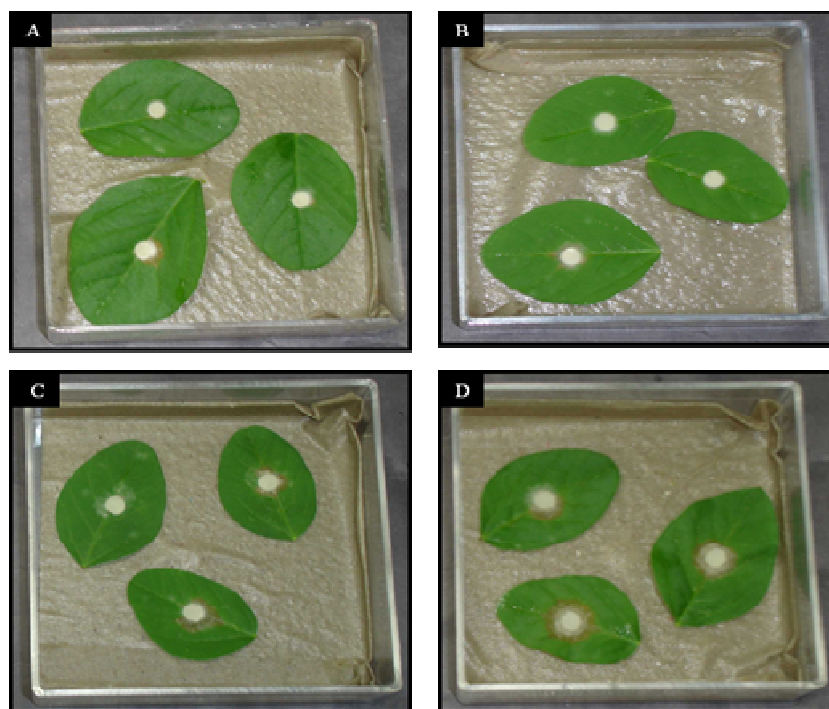


FIGURA 8 – Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) Emgopa 316, (B) BR 16 (C) BRSGO Milena, (D) BRS Baliza RR, classificados como resistentes. UFU, Uberlândia, 2008.

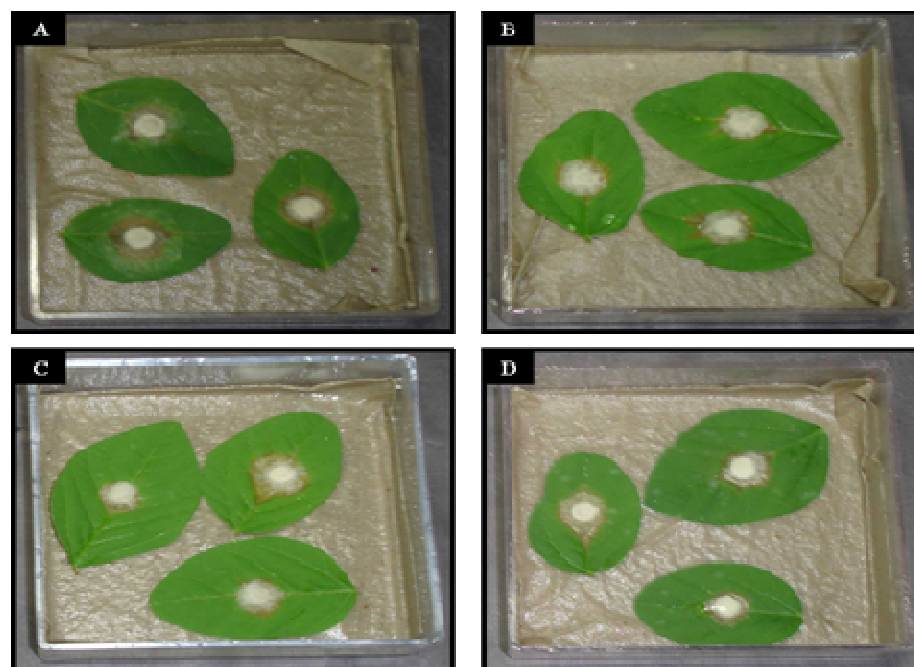


FIGURA 9 – Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) BRSGO Caiapônia, (B) FMT Perdiz, (C) P98R31 e (D) CD 211, classificados como moderadamente resistentes. UFU, Uberlândia, 2008.

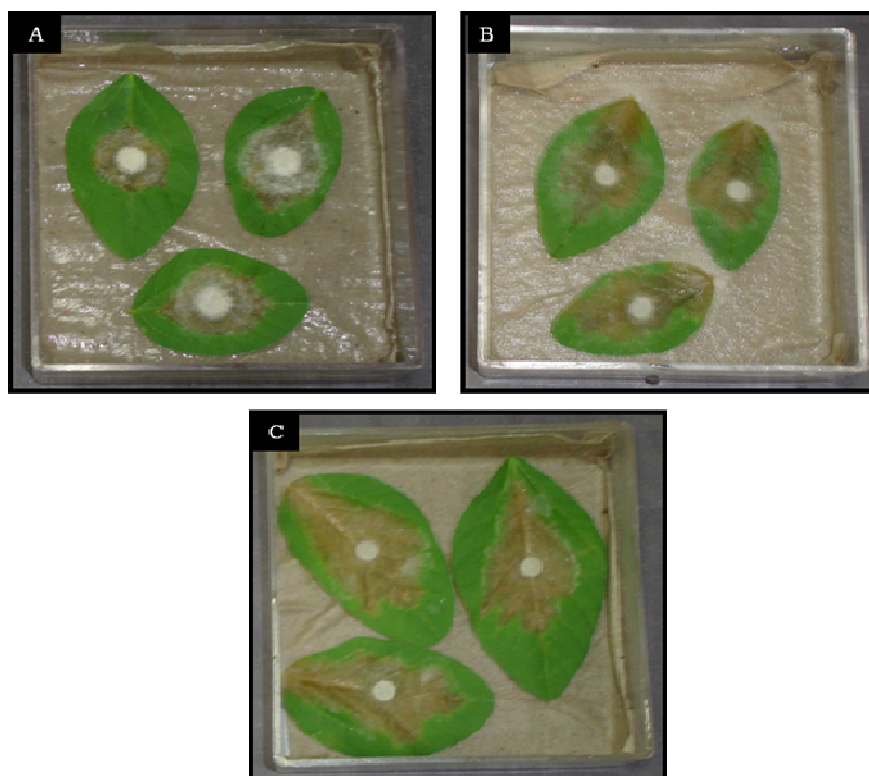


FIGURA 10– Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) BRSGO Luziânia, (B) BRSMG 850GRR, (C) M-Soy 8000 RR, classificados como moderadamente suscetíveis. UFU, Uberlândia, 2008.

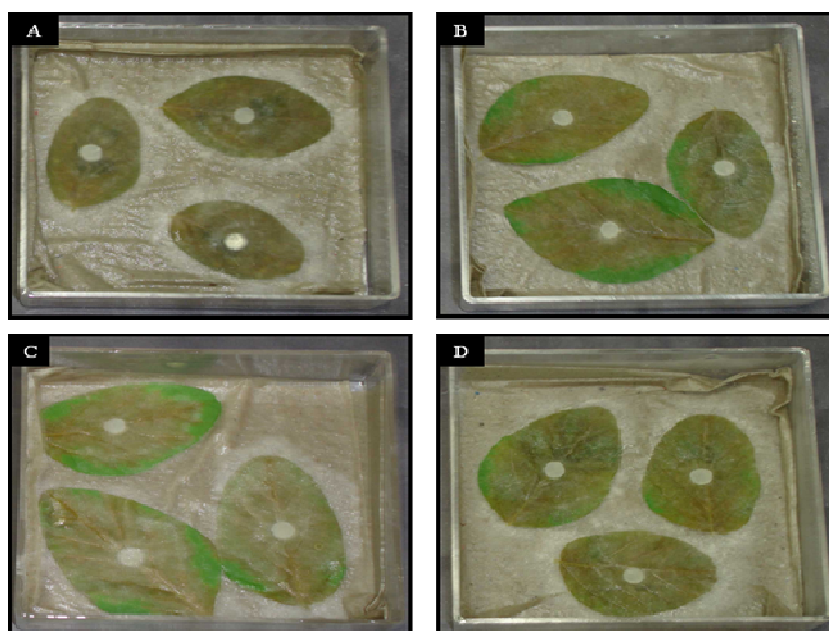


FIGURA 11 – Reação de genótipos de soja à podridão branca da haste, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, isolado de Jataí, pelo método da folha destacada, (A) FMT Tabarana, (B) BR/MG-46 (Conquista), (C) BRSMG Garantia e (D) Abyara, classificados como suscetíveis. UFU, Uberlândia, 2008.

Yang et al. (1999), em condições de campo, também verificaram que a incidência de *S. sclerotiorum* em cultivares de soja está relacionada com os grupos de maturação das mesmas, sendo que cultivares de ciclo longo apresentam mais incidência da doença do que cultivares de ciclo curto. Segundo os autores, isto pode ser atribuído devido o período de florescimento em cultivares de ciclo longo ser maior, período onde geralmente se têm bastante infecção, devido a liberação dos ascósporos.

Os resultados obtidos com as cultivares Abyara, Cobb, BR-4, BR-16 e IAS-5 foram contraditórios, exceto para a cultivar Cobb, aos obtidos por Chaves (1995), em relação à resistência ou suscetibilidade à *S. sclerotiorum*. Segundo a autora, Abyara demonstrou maior resistência, enquanto que Cobb maior suscetibilidade em relação as demais cultivares que situaram-se em uma faixa intermediária, quanto à suscetibilidade ao patógeno. Isto pode ser explicado devido a forma de inoculação utilizada por Chaves (1995) ter sido micélio seco e dos isolados serem de localidades diferentes, denotando que existe interação entre isolados de *S. sclerotiorum* e *Glycine max*. Interação hospedeiro-patógeno foi verificada por Corradini (1989) que, estudando a patogenicidade de 19 isolados de soja obtidos em Minas Gerais, constatou que todos os isolados causaram infecção à cultivar Paraná, entretanto houve variação na severidade da doença.

Segundo Grau et al. (1982), as cultivares Corsoy, Hodgson e Hodgson 78, de flores púrpuras, foram menos suscetíveis do que as cultivares Vickery, Evans, Amsoy 71, Wells, Wayne, Hark, Corsoy 79, Amcor, Harcor, Well 11, Century, Coles, Beeson 80, Beeson, Weber, Gnome, M70-153, A-3, Sprite, Hardin, Nebsoy, de flores brancas. Para o autor, a resistência à invasão da haste parece estar relacionada a um fator associado com as flores roxas. Em relação aos resultados obtidos no presente trabalho, os resultados condizem parcialmente com os Grau et al. (1982), pois de 49 cultivares de flor branca, 43 foram suscetíveis a moderadamente suscetíveis. Entretanto, de 41 cultivares de flor púrpura, somente 13 foram resistentes a moderadamente resistentes.

Notou-se que existe diferença varietal para a podridão branca da haste entre os genótipos de soja. O mesmo foi relatado por Homechin (1983) que avaliou a reação de 76 cultivares de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*, em campo naturalmente infestado pelo fungo. Das 76 cultivares, nenhuma foi imune à doença, mas 13 apresentaram baixo número de plantas infectadas, demonstrando possível resistência parcial à penetração. Silva e Machado (1989) também testaram 20 cultivares de soja à *S. sclerotiorum* através de inoculação artificial e verificaram que nenhum cultivar revelou-se imune, ao final de

60 horas de incubação. Entretanto, as cultivares Numbaíra e IAC-11 apresentaram uma grande resistência, enquanto que UFV-1 e UFV-5 foram os mais suscetíveis ao patógeno.

Em relação aos métodos de inoculação já relatados na literatura (CHAVES, 1995; PRATT; ROWE, 1991; AUNG et al., 1994; CLINE; JACOBSEN, 1983; CHUN et al., 1987; LEONE; TONNEIJCK, 1990; PRATTI, 1991; LOCH; D'ÁVILA, 1994 e CHAVES, 1995; MOULY; ESQUERRE-TUGAYE, 1989), o método de “disco de BDA permanente”, contendo micélio em inoculações na folha e em plantas de soja, apresentou a vantagem de ser bastante prático e confiável, características desejáveis para seleção de genótipos de soja à *S. sclerotiorum*, além de ser útil em estudos envolvendo a interação hospedeiro-patógeno.

As cultivares que foram resistentes e moderadamente resistentes pelo método da folha destacada não se comportaram da mesma forma, quando a inoculação ocorreu na planta (TABELA 8). As cultivares Emgopa 316 e Milena foram resistentes pelo método do folíolo destacado, entretanto, na planta, comportaram-se moderadamente resistentes. A cultivar Tabarana, considerada como padrão de suscetibilidade pelo método do gerbox, comportou-se moderadamente resistente, quando a inoculação ocorreu na planta (FIGURA 11).

O fato da cultivar FMT Tabarana ter comportado como moderadamente resistente na planta pode ser explicado pelo fato que, quando a folha é destacada, as defesas da planta não circulam mais, perdendo os mecanismos de defesa da planta mãe. Em relação às demais cultivares terem sido mais suscetíveis na planta do que no gerbox, pode ser atribuído a uma possível diferença de agressividade dentro do mesmo isolado, após repicagens sucessivas.

Não houve correlação entre a severidade das cultivares Emgopa 316, BRS Milena, Emgopa 314, FMT Perdiz, FMT Tabarana, M-SOY 8360, BR 16, BRSMG 790A, P98R31, M-SOY 8352, M-SOY 2002, BRSMG 68 [Vencedora], BRSGO Princesa, CD 211, CD 205, BRSGO Caiapônia, M-SOY 8008, BRS 185, Emgopa 315 e BRS Baliza RR, quando comparadas entre as inoculações em folhas destacadas e na própria planta ($r = -0,11$, $p > 0,05$). O fato da correlação não ter sido significativa como havia sido no ensaio de métodos de inoculações, em folhas destacadas e na planta (item 6.2), pode ser explicado devido à variação da severidade entre as cultivares avaliadas, que foram desde 20% (moderadamente resistente) a 95% (suscetível).

TABELA 8 - Reação de cultivares de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* pelo método de inoculação na planta. UFU, Uberlândia, 2008.

Cultivares	Cor da Flor	Severidade (%)	Reação à <i>S. sclerotiorum</i>
BRS Baliza RR	branca	95,0 e	S
Emgopa 315	branca	94,3 e	S
BRS 185	roxa	90,0 e	S
M-SOY 8008	branca	88,3 e	S
BRSGO Caiapônia	roxa	87,7 e	S
CD 205	branca	87,3 e	S
CD 211	branca	80,7 e	S
BRSGO Princesa	roxa	80,0 e	S
BRSMG 68 [Vencedora]	roxa	60,0 d	S
M-SOY 2002	roxa	55,0 d	S
M-SOY 8352	roxa	48,3 c	MS
P98R31	roxa	45,0 c	MS
BRSMG 790A	roxa	41,7 c	MS
BR 16	branca	37,7 b	MS
M-SOY 8360	roxa	36,7 b	MS
FMT Tabarana	branca	35,0 b	MS
FMT Perdiz	roxa	32,7 b	MS
Emgopa 314	roxa	27,7 a	MS
BRS Milena	roxa	25,0 a	MR
Emgopa 316	roxa	20,0 a	MR

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 1% de significância.

* MR = moderadamente resistente, MS = moderadamente suscetível e S = suscetível.

7 CONCLUSÕES

Considerou-se que inoculações nas folhas devem ser realizadas durante o estágio V₂ e V₃ e inoculações nas hastes preferencialmente no estágio V₂.

O método de inoculação com disco de BDA permanente proporcionou melhores resultados para inoculação de *S. sclerotiorum*, tanto para órgãos destacados, como na planta, simulando-se uma condição mais próxima a de campo.

Quanto à seleção de genótipos de soja pelo método de inoculação na folha destacada, as cultivares Emgopa 316, BR 16, BRSGO Milena, BRSGO Princesa, BRS 185, M-Soy 8008, BRS Baliza RR, M-Soy 8352, M-Soy 8360 e Emgopa 315 foram resistentes à *S. sclerotiorum*. Já FMT Perdiz, BRSMG 790A, M-Soy 2002, P98R31, CD 211, BRSGO Caiapônia, BRSMG 68 [Vencedora], CD 205 e Emgopa 314 se comportaram como moderadamente resistentes.

Observou-se que existem diferenças varietais entre genótipos de soja e dentre as 19 cultivares inoculadas na própria planta, apenas Emgopa 316 e BRSGO Milena foram moderadamente resistentes. Estudos com outros isolados de *S. sclerotiorum* devem ser realizados e, caso as cultivares Emgopa 316 e BRSGO Milena apresentem algum nível de resistência, devem ser incorporadas em programas de melhoramento como fontes de resistência.

A cor da flor não foi uma característica influenciável na severidade da doença, talvez pelos estudos terem sido realizados em condições controladas e as cultivares não sofrerem influências ao escape à doença.

Cultivares de soja com resistência à *S. sclerotiorum* podem apresentar um medida eficaz e econômica no manejo da doença em áreas onde a doença vem se destacando, como no Centro-Sul do Brasil. Juntamente com a resistência, medidas que promovem o escape à doença devem ser estudadas e incorporadas no manejo da mesma.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AUNG, M.; ROWE, E.; PRATT, R. Necessity of replicated measurements for selection of alfalfa plants resistance or susceptible to stem inoculation by *Sclerotinia trifoliorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78, n. 1, p. 14-17, 1994.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, n. 10, p. 934-936, 1987.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Growthroom evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 66, p. 559-564, 1986.

CHAVES, M.S. **Aspectos epidemiológicos da interação *Whetzelinia sclerotiorum* x *Glycine max***. 1995. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995.

CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J.A.; LOCH, L.C. Uso de micélio seco de *Sclerotinia sclerotiorum* como método de inoculação e avaliação da resistência de cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 22, n. 3/4, p. 221-224, 1996.

CHUN, D.; KAO, L.B.; LOCKWOOD, J.L.; ISLEIB, T.G. Laboratory and field assessment of resistance of soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, n. 9, p. 811-815, 1987.

CLINE, M.N.; JACOBSEN, B.J. Methods of evaluationg soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n, 7, p. 784-786, 1983.

CORRADINI, H.T. **Características em cultura pura e patogenicidade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, associados a soja (*Glycine max* (L.) Merrill na região do Alto Paranaíba-MG**. 1989. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1989.

COYNE, D.P. ; STEADMAN, J.R. ; ANDERSON, F.N. Effect of modified plant architecture of great northern dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) on white mold severity, and components of yield. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 5, n. 4, p. 379-382, 1974.

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

GRAU, C.R.; RADKE, V.L. Resistance of soybean cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 66, n. 6, p. 506-508, 1982.

HOMECHIN, M. Reação de cultivares comerciais de soja a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 16., 1983, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1983. p. 559.

HUNTER, J.E.; DICKSON, M.H.; CIGNA, J.A. Limited-term inoculation: a method to screen bean plants for partial resistance to white mold. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 5, p. 414-417, 1981.

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

LEONE, G.; TONNEIJCK, A.E.G. A rapid procedure for screening the resistance of beancultivars (*Phaseolus vulgaris*) to *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 48, p. 87-90, 1990.

LOCH, L.C.; D'AVILA, L. Utilização de partículas de micélio seco de *Sclerotinia sclerotiorum* para inoculação de plantas de alface (*Lactuca sativa*). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 20, n. 2, p. 129-130, 1994.

MOULY, A.; ESQUERRE-TUGAYE, M.T. Recherche de marqueurs moléculaires de la tolérance du torsesol à °C. **Informations Techniques CETIOM**, Paris, v. 108: p. 30-36, 1989.

NELSON, B.D.; HELMS, T.C.; OLSON, M. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, n. 7, p. 662-665, 1991a.

NELSON, B.D.; HELMS, T.C.; KURAL, I. Effects of temperature and pathogen isolate on laboratory screening of soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 71, p. 347-352, 1991b.

OLIVEIRA, S.H.F. **Controle químico de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro**: ação in vitro sobre o ciclo de vida, ação preventiva e curativa em condições controladas e eficiência e modo de aplicação em campo. 1998. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

PRATT, R.G.; ROWE, D.E. Differential responses of alfalfa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, n. 2, p. 188-191, 1991.

PRATT, R.G. *Sclerotinia*. In: SINGLETON, L.L.; MIHAIL, J.D.; RUSH, C.M. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. **American Phytopathological Society**, Saint Paul, 1992, p. 74-78.

RIDAO, A. del C.; FABANO, E.J. Prevalencia de la pudrición húmeda del tallo de soja por *Sclerotinia sclerotiorum* en el sudeste bonaerense y su relación con las lluvias. In: **CONGRESO DE SOJA DEL MERCOSUR**, 3., 2006, Rosário, Santa Fé, Argentina. Resumos... Rosário, Santa Fé, Argentina, 2006. p. 359-361.

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

SILVA, S.M.; MACHADO, J.C. Metodologia de inoculação e comportamento de alguns cultivares de soja (*Glycine max* L.), em relação à *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA**, 20., 1989, Recife. **Resumos...** Recife: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1989. p. 118.

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

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.R.; LIBERATO, J.R. QUANT - a Software for plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch, New Zealand. **Anais...**, Christchurch, New Zealand, 2003.

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

ZITO, R.K.; WRUCK, D.S.M.; FRONZA, V.; ARANTES, N.E. Reação de genótipos de soja a *Sclerotinia sclerotiorum*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 27., 2005, Cornélio Procópio. **Anais...** Cornélio Procópio: Embrapa Soja, 2006. p. 362.

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

WEGULO, S.N.; YANG, X.B.; MARTINSON, C.A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 11, p. 1264-1271, 1998.

YANG, X.B.; LUNDEEN, P.; UPHOFF, D. Soybean varietal response and yield caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 5, p. 456-461, 1999.

ANEXOS

Anexo 1A - Análise de variância dos dados referentes à severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito dos estádios de desenvolvimento, cultivares e órgão, em plantas. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Estádios	4	32655,60	8163,90	44,64	0,0001**
Órgão	1	21018,82	21018,87	114,93	0,0001**
Variedade	1	126,15	126,15	0,69	0,4112 ^{ns}
Órgão*Variedade	1	360,15	360,15	1,97	0,1682 ^{ns}
Variedade*Estádios	4	908,27	227,07	1,24	0,3089 ^{ns}
Órgão*Estádios	4	8104,93	2026,23	11,08	0,0001**
Estádios*Órgão*Variedade	4	378,93	94,73	0,52	0,7229 ^{ns}
Erro	40	7315,33	182,88		
CV (%)	20,87				

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

Anexo 2A - Análise de variância dos dados referentes à severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito dos métodos de inoculação, cultivares e órgão em inoculações em órgãos destacados. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Método	3	73682,42	24560,81	823,27	0,0001**
Órgão	1	70,08	70,08	2,35	0,1352 ^{ns}
Variedade	1	216,75	216,75	7,27	0,0111**
Método*Órgão	3	714,08	238,03	7,98	0,0004**
Método*Variedade	3	3442,42	1147,47	38,46	0,0001**
Órgão*Variedade	3	80,08	80,08	2,68	0,1111 ^{ns}
Método*Órgão*Variedade	3	2032,75	677,58	22,71	0,0001**
Erro	32	954,67	29,83		
CV (%)	12,74				

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

Anexo 3A - Análise de variância dos dados referentes à severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* em função do efeito dos métodos de inoculação, cultivares e órgão pela inoculação na planta. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Método	3	67131,42	22377,14	1627,43	0,0001**
Órgão	1	4720,33	4720,33	343,30	0,0001**
Variedade	1	80,08	80,08	5,82	0,0217*
Método*Órgão	3	4720,50	1573,50	114,44	0,0001**
Método*Variedade	3	146,75	48,92	3,56	0,0250*
Órgão*Variedade	3	108,00	108,00	7,86	0,0085**
Método*Órgão*Variedade	3	136,17	45,39	3,30	0,0327*
Erro	32	440,00	13,75		
CV (%)	9,92				

*** Significativo a 5 e 1% de significância, respectivamente, pelo teste de F.

Anexo 4A - Análise de variância em função do efeito dos genótipos sobre a severidade (%) da podridão branca da haste em folíolos de soja destacados. UFU, Uberlândia, 2008.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Plantas	92	349189,01	3795,53	137,92	0,0001**
Erro	186	5118,67	27,52		
CV (%)	7,4				

**Significativo a 1% de significância.

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

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Plantas	19	40209,07	2116,27	41,03	0,0001**
Erro	40	2063,33	51,58		
CV (%)	12,3				

**Significativo a 1% de probabilidade.