



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**



CÍNTIA DE MELO GOMES

**DETERMINAÇÃO DO ESTÁDIO DE INOCULAÇÃO DO FUNGO
Sclerotinia sclerotiorum PARA A AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

**UBERLÂNDIA-MG
MAIO DE 2017**

CÍNTIA DE MELO GOMES

**DETERMINAÇÃO DO ESTÁDIO DE INOCULAÇÃO DO FUNGO
Sclerotinia sclerotiorum PARA A AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado a
Universidade Federal de Uberlândia, como
parte das exigências para a obtenção do título
de “Engenheira Agrônoma”.

Orientadora: Larissa Barbosa de Sousa

UBERLÂNDIA-MG
MAIO DE 2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, pelo dom da vida, pela saúde, força e persistência que tem me concedido, pela oportunidade de estudar sobre esta área que tanto me encanta e pelas pessoas que Ele põe no meu caminho e, com toda certeza, posso dizer que não seria possível chegar até aqui sem elas.

Aos meus pais, Arteíza e Reinaldo, bem como a minha irmã Taís e meu irmão Gilberto, pela paciência que demonstraram ao longo de todos os anos de faculdade, e, ainda que com todas as eventualidades que surgiram pelo caminho, não me deixaram vacilar e estiveram sempre ao meu lado. Tenho muita sorte em tê-los como minha família.

A minha orientadora Profa. Dra. Larissa Barbosa de Sousa, pela paciência, persistência e todo ensinamento que me concedeu, e concede. Um verdadeiro exemplo a ser seguido, não só acadêmico, mas um exemplo de pessoa, de mãe que adotou a todos do PROMALG como filhos, devo muito a todos vocês e agradeço por todas as horas em que sempre se mostraram tão dispostos em ajudar.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente se envolveram neste trabalho, em minha formação e acreditam no meu potencial de crescimento, muito obrigada!

RESUMO

A planta do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch), normalmente cultivada anualmente ou herbáceo, pertencente à família *Malvaceae*, é rica em fibras e óleo, sendo utilizada como matéria prima para alimentação animal e em larga escala na indústria têxtil. Como uma das dez culturas mais importantes do mundo, exerce importante papel no aspecto sócio-econômico do Brasil, podendo ser cultivado em condições de sequeiro ou em sistemas de irrigação. A planta de algodoeiro precisa manter os fatores responsáveis pela determinação do seu alto rendimento e boa qualidade, no entanto, e a incidência de pragas e doenças, a exemplo do mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, em seus surtos epidêmicos vêm deixando regiões produtoras em situação de alerta. Murcha, necrose e podridão úmida em hastes, pecíolos, maçãs e inflorescências, são os principais sintomas da doença, e a partir deles, surge o sinal do fungo, um micélio branco e extenso, podendo apresentar estruturas de sobrevivência do patógeno, os escleródios, formados internamente, na parte externa das maçãs bem como no interior dos capulhos, podendo permanecer no solo por longos períodos. O objetivo do presente trabalho foi determinar o estágio fenológico ideal para a inoculação do patógeno *S. sclerotiorum*, para que possam ser conduzidas pesquisas buscando a resistência das plantas ao patógeno, bem como avaliar a eficiência do método *Straw test* para inoculação do fungo, em plantas de algodoeiro. O experimento foi realizado em casa de vegetação, para obtenção de plantas de algodoeiro em diferentes estádios, e em laboratório, para avaliação da progressão da lesão do fungo quanto aos estádios inoculados, localizados no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foi avaliado o genótipo de algodoeiro de fibra branca (DP 555 BGRR), em sete estádios de desenvolvimento vegetativos: V1 a V7 (MARUR; RUANO, 2004) em oito tempos: 1 a 8 dias após inoculação do fungo. O experimento foi realizado em delineamento de blocos casualizados, com cinco repetições, em esquema de fatorial 7x8, sete estádios fenológicos e oito tempos de avaliação. Verificou-se que o estágio fenológico ideal para a inoculação do patógeno em plantas de algodoeiro, é o V2, tornando mais rápido os testes de resistência, uma vez que a planta não precisa se desenvolver até estádios mais avançados e morre. A metodologia utilizada para a inoculação do fungo, *Straw test*, pode ser considerada eficiente, uma vez que todas as plantas, independente do estágio de desenvolvimento, sofreram lesões.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum*, método da ponteira, comprimento de lesão, mofo branco.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	6
2. Referencial teórico.....	8
2.1. Aspectos gerais do algodoeiro.....	8
2.2. O mofo branco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>).....	8
2.3. Método <i>Straw test</i> como ferramenta de inoculação do mofo branco.....	11
3. Material e métodos.....	12
4. Resultados e discussão.....	14
5. Conclusão.....	19
Referências bibliográficas.....	20

1. Introdução

As culturas de importância agrícola no Brasil tem seu desempenho relacionado a uma soma de fatores conjugados, como a fertilidade do solo, o potencial genético de determinada cultivar, as condições climáticas em que a cultura é instalada, a sua época de semeadura, o estado de plantas, bem como qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes (REIS; CASA, 1996). Dessa forma, a ação de alguns patógenos tem comprometido a melhoria e o incremento da produtividade das culturas, até mesmo impedindo produtores de expandir as áreas de plantio ou mesmo exercer a manutenção necessária em regiões em que a atividade agrícola é uma alternativa.

O diagnóstico das doenças de plantas e de seus respectivos patógenos causadores, devem ser preventivos e precisos, tornando-se assim um dos procedimentos cada vez mais indispensáveis na agricultura atual. Considerando a intensificação de cultivos com sistemas de produção cada vez mais tecnificados e as alterações climáticas, a ocorrência de doenças na cultura do algodoeiro, bem como em outras atividades de monocultivo, tem sido mais frequente e pode ser considerada como um dos principais fatores responsáveis pela redução da produtividade e aumento dos custos de produção (PAULA JUNIOR, 2008).

Nos últimos dez anos, a cultura do algodoeiro apresentou alterações significativas nos índices de produtividade e distribuição no território nacional, saindo de áreas produtoras tradicionalmente, para áreas do centro oeste (Mato Grosso) e Nordeste (Bahia) (CONAB, 2009). As condições do local fizeram com que o algodoeiro se tornasse oportunidade promissora de negócios, além de ser uma alternativa para a rotação de culturas de importância econômica no Brasil (FONTES et al., 2006).

Para que sejam mantidos os índices de produtividade, a planta de algodoeiro precisa manter os fatores responsáveis pela determinação do seu alto rendimento e, de acordo com a CONAB (2016), os primeiros seis meses do ano trouxeram recordes de exportações para a cultura do algodoeiro em âmbito nacional, devido à competitividade impulsionada pela depreciação cambial do real frente ao dólar, havendo maior demanda pelo produto proveniente do Brasil. Contudo, se tratando da qualidade do produto, há algumas incertezas, uma vez que o desenvolvimento vegetativo pleno das plantas tenha sido travado pela estiagem que assola a principal região produtora do país (Mato Grosso) e a incidência de pragas e doenças, a exemplo do mofo branco, que juntamente com outras doenças fúngicas, servem de alerta aos municípios produtores.

Dentre as principais doenças de importância econômica para a cultura do algodoeiro, o mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, tem se destacado por ocasionar danos expressivos. Murcha, necrose e podridão úmida em hastes, pecíolos, maçãs e inflorescências, são os principais sintomas da doença, e a partir deles, surge o sinal do fungo, um micélio branco e extenso, podendo apresentar estruturas de sobrevivência do patógeno, chamadas escleródios, formados internamente na haste, na parte externa das maçãs, bem como no interior dos capulhos (GOMES, 2013).

Ainda de acordo com Gomes (2013), estudos têm sido feitos abordando a alta diversidade genética de *S. sclerotiorum* em regiões tropicais, o que torna as interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente, cada vez mais complexas. Portanto, determinar e adotar métodos eficientes de avaliação é crucial para identificação de fontes de resistência potenciais e a utilização das mesmas, efetivamente, em programas de melhoramento. Para a elaboração de tais estudos, as plantas de algodoeiro precisam ser inoculadas com o patógeno de maneira que possam ser avaliadas, quanto à susceptibilidade ao patógeno e agressividade do mesmo, sem que a planta seja perdida, ou seja, ela deve manter seu desenvolvimento concomitantemente ao desenvolvimento do fungo. Alguns testes de inoculação tem se mostrado ferramentas aliadas do melhorista, como o *Straw test*.

Apesar da importância da associação desse patógeno com as sementes de diferentes culturas, por serem confundidos, principalmente, com as sementes de algodoeiro, poucos estudos têm sido dedicados ao transporte e transmissão de *S. sclerotiorum* por sementes dessa cultura, bem como as épocas em que testes de resistência podem ser executados no caso de possível infecção após a germinação do algodoeiro.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi determinar o estágio fenológico ideal para a inoculação do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, para que possam ser conduzidas pesquisas buscando a resistência das plantas ao patógeno, de crescente importância, causador da doença do mofo branco, bem como avaliar a eficiência do método *Straw test* para inoculação do fungo, em plantas de algodoeiro.

2. Referencial teórico

2.1. Aspectos gerais do algodoeiro

O algodoeiro, cultivado anualmente (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch) ou herbáceo, é uma planta da família *Malvaceae*, com utilização na indústria de fiação e tecelagem e, em elevadas quantidades, na indústria de alimentação animal (farelo) com garantia de rentabilidade (BELTRÃO, 2004), bem como para alimentação humana (óleo), além de grande número de produtos secundários (PENNA, 2005). O produto colhido é denominado algodão em caroço e é composto pela pluma (fibra) e pelo caroço (sementes com “línter”, ou seja, fibras curtas). Como uma das dez culturas mais importantes do mundo, exerce importante papel no aspecto sócio-econômico do Brasil, podendo ser cultivado em condições de sequeiro ou em qualquer sistema de irrigação (BELTRÃO; BEZERRA, 1993).

O Brasil se encontra na quinta posição no ranking mundial, quando se trata de produção de algodão, ficando atrás da Índia, China, Estados Unidos e Paquistão, e como maior produtor mundial em produtividade em sequeiro (ABRAPA, 2017), exportando cerca de 50% da produção nacional para a Indonésia e China (DEPEC- Bradesco, 2017). A produção no nordeste se concentra no estado da Bahia, e na região centro-oeste, o maior volume de produção se encontra no estado do Mato Grosso, responsável pela exportação de 207.534 toneladas de pluma em 2016, quase 50% a mais do que exportado nos cinco primeiros meses do ano anterior (CONAB, 2016).

Apesar do potencial produtivo do país, enfrentamos problemas no setor que acabaram se tornando entraves para sua expansão. Além dos problemas já conhecidos com a alta incidência de bicudo-do-algodoeiro, o percentual de fibras curtas do algodão, que desvalorizam o produto final no mercado (SNA, 2015), um dos fatores que mais limitam a continuidade do cultivo do algodoeiro é a ocorrência do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco.

2.2. O mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Em áreas irrigadas e de sequeiro, o fungo requer atenção especial. Considerando o crescente número de áreas infestadas, o número de plantas infectadas no campo e a severidade dos sintomas observados em todas as partes da planta, essa doença vem sendo motivo de grande preocupação para o agricultor. Os extensivos danos às culturas, o baixo nível de

resistência dos hospedeiros ao patógeno (não há um sintoma que seja comum a todas as plantas infectadas), e a dificuldade de controle da doença, impulsionam as pesquisas a respeito deste fungo (BOLTON; TOMMA; NELSON, 2006).

O mofo branco tem se mostrado um obstáculo a ser superado pelo cotonicultor brasileiro, principalmente quando se leva em consideração a implantação da cultura em espaçamentos reduzidos, o caso do cultivo adensado (0,45m entre linhas), onde o microclima se torna favorável ao desenvolvimento do patógeno por apresentar elevada umidade. Os fatores ambientais como umidade superior a 70% e temperaturas na faixa de 10 a 25°C, são favoráveis ao desenvolvimento da doença (HUANG; KOZUB, 1991).

O entendimento dos processos relacionados ao desenvolvimento das doenças de plantas está fortemente ligado ao conhecimento das características específicas de cada patógeno, do seu hospedeiro e da interação de ambos com o ambiente, portanto, cada um desses componentes exerce papel crucial no desenvolvimento das epidemias (VALE; JESUS JUNIOR; ZAMBOLIM, 2004). Em áreas livres de *S. sclerotiorum*, uma epidemia pode começar a partir de sementes contaminadas ou com o transporte de escleródios (estruturas de resistência do fungo) junto ao lote de sementes, salientando assim a importância da obtenção de sementes sadias certificadas para o controle da doença.

O ciclo básico do patógeno se inicia com a fase de sobrevivência, decorrente da produção dos escleródios, que nada mais são do que uma massa compactada originada do intenso crescimento do micélio, que além de concorrer para o aumento da fonte de inóculo, garante a presença do fungo por períodos prolongados em ambientes onde são introduzidos ou produzidos, podendo permanecer nesse solo por mais de um ano (COOK; STEADMAN; BOOSALIS, 1975) e, de acordo com Vennete (1998) por até oito anos. Umidade elevada e temperaturas entre 15 e 25°C, podem fazer com que, a partir dos escleródios, sejam produzidos corpos de frutificação, os apotécios, onde são produzidos ascos e liberados ascósporos no ambiente para o reinício do ciclo (LEITE, 2005). A germinação desse fungo pode ocorrer de duas maneiras, conhecidas como germinação miceliogênica e/ou carpogênica, e podem afetar diretamente o processo de infecção por *S. sclerotiorum* (LE TORNEAU, 1979).

A germinação carpogênica (sexual) ocorre quando os escleródios, em condições adequadas, germinam e dão origem a corpos de frutificação, os apotécios, formados de 4 a 12 semanas, embora alguns escleródios sejam incapazes de produzi-los. Os apotécios formam os ascósporos aos milhares (fontes primárias de inóculo), que são facilmente disseminados e

podem sobreviver mais de sete meses em condições de umidade e potenciais osmóticos baixos (PRATT; ROWE, 1991). Solos ricos em matéria orgânica e de umidade mais elevada proporcionam condições adequadas à formação de apotécios, enquanto que solos menos irrigados e com palhada não favoreçam esse processo (FERRAZ et al., 1996), uma vez que aumenta a microbiota do solo, uma das melhores formas de controle do mofo branco, o biológico.

Na germinação miceliogênica, o que ocorre é a formação de hifas vigorosas diretamente dos escleródios, sejam do solo ou de restos culturais, que colonizam a matéria orgânica morta, agora capaz de iniciar todo o processo de infecção. Quando entram em contato com uma planta hospedeira, o micélio de *S. sclerotiorum*, coloniza os tecidos mais frágeis ou mortos, indo progressivamente para as partes sadias da planta, principalmente os tecidos mais suculentos, fazendo com que as células do tecido infectado, rapidamente, entrem em colapso (AGRIOS, 2005; PURDY, 1979).

Os escleródios, assim como já abordado, são estruturas de resistência, que além de poder permanecer no solo por vários anos consecutivos, são altamente resistentes à substâncias químicas, temperatura de até 60° e ao congelamento. Segundo Manosso e colaboradores (2010), em algumas áreas de cultivo de soja, têm sido verificadas altas infestações no solo por escleródios do fungo, sendo que foi possível encontrar até 258 escleródios por metro quadrado de área. O que limita a elaboração de um programa efetivo de controle da doença é a elevada polifagia do fungo, tornando a rotação e/ou sucessão de culturas uma alternativa pouco efetiva de controle da doença (CARREGAL; CANPOS; SILVA, 2013).

O mofo branco é uma doença que dificilmente chega a contaminar todo o campo, geralmente ocorre em áreas isoladas do campo cultivado, ou seja, em reboleiras (SCHWARTZ et al., 2012). Devido à elevada gama de hospedeiros, não há um sintoma específico decorrente do ataque do fungo, portanto a observação é o melhor aliado do produtor. A presença de micélio branco cotonoso, podendo variar a coloração até um castanho-avermelhado, a presença de escleródios pretos, de tamanho desuniforme, já são fortes indícios observados nas espécies hospedeiras (GÖRGEN, 2009). No algodoeiro os sintomas dessa doença são: murcha, necrose e podridão-úmida em hastes, pecíolos e maçãs. No interior do capulho, geralmente, são constatados micélio branco característico e escleródios escuros irregulares do patógeno. Escleródios encontrados no interior de capulhos desenvolvem apotécios em, aproximadamente, 60 dias (Charchar et al., 1999).

2.3. Método *Straw Test* como ferramenta de inoculação do mofo branco

As principais causas de insucesso em pesquisas direcionadas à obtenção de cultivares resistentes ao patógeno causador do mofo branco são a expressividade variável da resistência genética, influência do ambiente sobre os mecanismos de escape, e principalmente o emprego de métodos de inoculação ineficientes, conferindo assim a não efetividade dos processos do melhoramento genético visando resistência ao mofo branco (SINGH; SCHWARTZ, 2010).

O método *Straw test*, método da ponteira, ou método do canudo, é um dos métodos mais simples e considerado um dos mais eficazes para a inoculação do fungo *S. sclerotiorum*, sendo um dos mais utilizados no melhoramento genético, nas pesquisas de identificação, caracterização e seleção de genótipos resistentes ao mofo branco (TÉRAN; SINGH, 2008).

De acordo com Petzoldt e Dickson (1996), o método denominado *Straw test* se destaca entre os demais testes porque não destrói as plantas inoculadas, sendo assim mais vantajoso e conseqüentemente, mais empregado no melhoramento genético. A inoculação do fungo nas plantas ocorre com o auxílio de ponteiras plásticas contendo o micélio do fungo, cultivado em meio de cultura, entrando em contato com o ápice, recém cortado, da haste principal da planta. No entanto, segundo Térán e Singh (2009), a idade da planta durante a avaliação, a parte inoculada, o tipo de inóculo e o tempo de inoculação são características que influenciam qualquer método de constatação de resistência fisiológica, portanto é importante avaliar a fisiologia da planta a ser inoculada para que a inoculação possa ocorrer de forma correta e eficaz.

A grande maioria dos testes de avaliação depende do micélio do fungo, que são influenciadas pela variabilidade dos isolados e pela sensibilidade do patógeno à elevação de temperatura (SILVA, 2013). A falta de conhecimento da estrutura populacional do patógeno e a variabilidade patogênica, são fatores que mais influenciam negativamente a avaliação e seleção para resistência ao mofo branco (KULL et al., 2004), e segundo Abreu, Mendonça e Souza (2011) a variabilidade genética para as características em estudo, com finalidade de avaliar a variabilidade existente em alguns isolados de *S. sclerotiorum*, foram amplas, ainda que entre isolados de uma mesma área. Portanto, para que seja mais eficaz a qualquer avaliação relativa ao patógeno, uma estratégia é coletar o micélio em locais diferentes, ainda que na mesma placa com ágar.

3. Material e Métodos

O experimento foi realizado em duas etapas, sendo a primeira na casa de vegetação, para obtenção de plantas de algodoeiro em diferentes estádios, e a segunda em laboratório, para avaliação da progressão da lesão do fungo quanto aos estádios inoculados, localizados no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) no período de 24 de abril a 27 de junho de 2016.

Foi avaliado o genótipo de algodoeiro de fibra branca (FB 555), em sete estádios de desenvolvimento vegetativos: V1, V2, V3, V4, V5, V6 E V7 (MARUR; RUANO, 2004) em oito tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias após inoculação do fungo. O experimento foi realizado em delineamento de blocos casualizados com cinco repetições, em esquema de fatorial 7x8, sendo sete estádios fenológicos e oito tempos de avaliação.

Para obtenção das plantas em seus respectivos estádios, a semeadura foi realizada semanalmente. Cada parcela experimental foi constituída de dois sacos plásticos, de 1L, contendo três plantas inicialmente, e uma única, após desbaste, e preenchidos com 1/3 de substrato comercial (Bioplant) e 2/3 de solo.

Os isolados de *S. sclerotiorum* foram obtidos a partir de escleródios formados na cultura da soja, provenientes de campos de produção da soja, localizados no estado de Goiás, em São Miguel do Passa Quatro.

O plaqueamento com batata dextrose ágar (BDA) foi preparado dez dias antes da inoculação (08/06), sendo colocados nas placas de Petri, o BDA, juntamente com cerca de cinco escleródios – estes limpos em água destilada estéril e transferidos em seguida para as placas contendo (BDA). Para que pudesse ocorrer a germinação miceliogênica de forma eficaz, as placas de Petri foram colocadas em câmara incubadora em condições ideais para o desenvolvimento do fungo (20°C, com variação de 2°C, e fotoperíodo de 12 horas) e deixadas por dez dias, até a data em que foi feita a inoculação (18/06).

A inoculação do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* foi feita nas plantas de algodoeiro pelo método *Straw test* ou método da ponteira, nos estádios V1 até V7 no mesmo dia. O processo de inoculação foi realizado cortando todas as plantas um centímetro acima do nó cotiledonar, e utilizadas ponteiras de 200µL, contendo discos de micélio do fungo. A ponteira foi então encaixada à haste principal seccionada, de forma a manter o contato entre o micélio fúngico e a lesão (Figura 1). Um dia (24h) após a inoculação iniciou-se a avaliação do

comprimento da lesão, de forma descendente a partir do ápice, com o auxílio de um paquímetro digital, e diariamente a partir de então.



Figura 1. Planta de algodão após inoculação pelo método *Straw Test*. Fonte: GOMES, 2016.

4. Resultados e discussões

A progressão da doença nos diferentes estádios, não depende do tempo de avaliação, tal como o estágio em que a planta se encontra, não interferirá na progressão da lesão no tempo, ela progredirá, independente do estágio em que a planta se encontra (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do experimento com a inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em genótipo de algodoeiro em diferentes estádios.

FV	QM	F
Blocos	855,80	
Tempo	2725,49*	33,6534
Estádio	884,52*	10,9217
Tempo X Estádios	37,85 ^{ns}	0,46736
TOTAL		
MÉDIA	16,68	
CV (%)	53,97	

* Significativos a 5% de probabilidade.

Houve variação do comprimento da lesão (mm) nos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas de algodoeiro quando submetidas à inoculação de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* ao longo dos dias de avaliação.

O coeficiente de variação (CV) foi de 53,97%, sendo considerado alto, podendo estar relacionado a influencia de vários fatores, como o desenvolvimento das plantas e a progressão do fungo. De acordo com Poletto (2010) dados ambientais, por serem observações de campo, normalmente apresentam elevado coeficiente de variação e alta variabilidade. Estudando os valores das características químicas e populações de fungos no solo, foi possível observar que quanto as espécies de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma*, não houve coeficiente de variação menor que 42%. Isso se deve em função da diversidade de situações observadas no ambiente, sendo consequência dos diferentes tipos de solo e características de uso e manejo, resultando em coeficientes de variação altos.

Queiroz e colaboradores (2013), em experimentos avaliando o desempenho de genótipos melhorados de feijão quanto resistência de campo ao mofo branco, a partir da sua intensidade por atribuição de notas, concluiu-se que todos os 20 genótipos, apresentaram considerável grau de intensidade e, nas duas repetições do experimento, o coeficiente de variação foi superior a 36%.

Toledo-Souza e Costa (2003), durante a avaliação dos métodos de inoculação de *S. sclerotiorum*, em feijoeiro, em análise conjunta com os diferentes isolados do fungo, tamanho de lesões, notaram que o método de inoculação na haste ocasionou maior severidade da doença, apresentando coeficiente de variação igual à 43%

Ferreira (2013), em seus estudos a respeito do método de inoculação de *S. sclerotiorum*, concluiu que os métodos diferenciam, principalmente, pela utilização de diferentes tecidos de hospedeiros. A inoculação feita em seu experimento foi em plantas intactas, decepadas, axilas ou em folha destacada. A idade ontogenética dos vegetais, o tempo de avaliação, ou seja, o tempo em que a planta ficou exposta à ação do patógeno, bem como as técnicas de manipulação e veiculação do inóculo, influenciam diretamente na efetividade do método de inoculação. Ferreira conclui que o teste do canudo, adaptado *Straw-test*, pode ser considerado como o mais indicado para realização de ensaios que tem como intuito discriminar genótipos quanto à reação ao fungo *S. sclerotiorum*, justamente por expor os tecidos internos do vegetal ao fungo, o que favorece o processo de infecção e propagação do patógeno devido à redução do impedimento físico proporcionado pela epiderme.

Assim como evidenciado na Tabela 1, o tempo em que a planta esteve sujeita à ação do patógeno foi significativo para o teste de F, logo, o tempo influencia na progressão da lesão, ou seja, quanto mais tempo a haste da planta estiver em contato direto com o fungo, maior lesão ela sofrerá, ao longo dos dias (Gráfico 1).

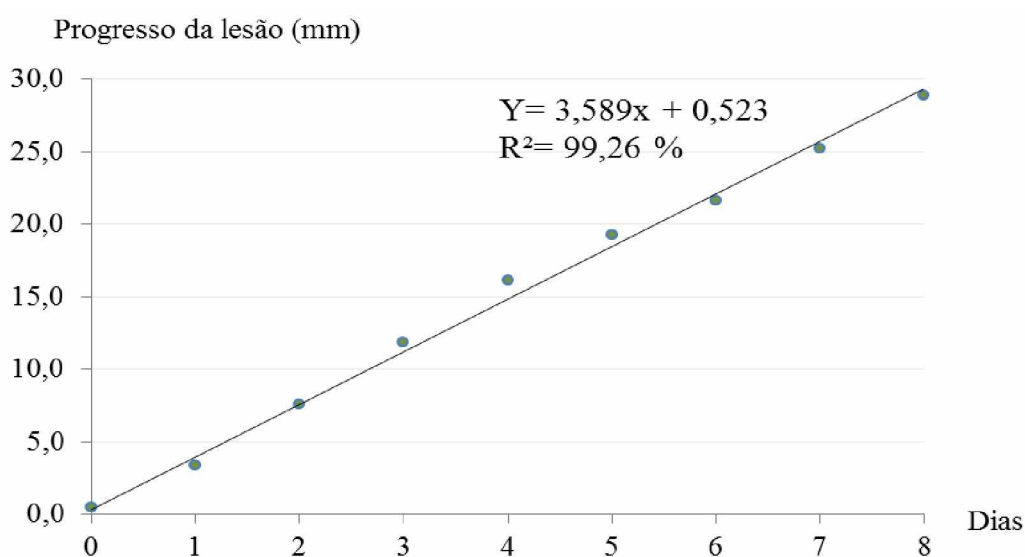


Gráfico 1. Progressão da lesão de *Sclerotinia sclerotiorum* na haste das plantas de algodoeiro no decorrer do tempo.

A cada dia, a progressão da lesão aumentou em 3,589 mm apresentando elevado coeficiente de determinação (99,26%), demonstrando precisão e acurácia nas avaliações. De acordo com Fischer e seus colaboradores (2014), quando inoculado o fungo *S. sclerotiorum* em plantas de quiabeiro, as lesões, nos frutos, apresentaram média de 6,5 cm de comprimento ao final dos quatro dias de avaliação, ou seja, uma taxa de progresso de 1,625 cm por dia, taxa essa considerada alta, no entanto, supõe-se que por ser no fruto, este contendo menor teor de lignificação, permitiu que a lesão progredisse à tal taxa.

Para Lima (2015), quando inoculadas plantas de feijoeiro e avaliado comprimento da lesão aos 7 e 14 dias após a inoculação, a severidade da doença foi correlacionada com o progresso da lesão. Com o objetivo de avaliar trinta genótipos quanto à resistência fisiológica ao mofo branco, o comprimento médio diário das lesões causadas pelo fungo foi de aproximadamente 8 mm, sendo que na segunda avaliação, 14 dias após inoculação, as lesões não progrediram à taxa superior a 13% do que constatado na primeira avaliação. Constatando que aumentar o período de avaliação, pode não ser promissor, uma vez que a planta se debilita sob influencia do fungo, ou mesmo, morre.

A lesão na planta se dá a partir do corte, onde foi inoculado o micélio nos discos de BDA, de forma descendente ao longo da haste da planta (Figura 2). Alguns estádios de desenvolvimento sofreram maiores comprimentos de lesão que outros, apresentando então, uma determinada vulnerabilidade à inoculação do fungo nestes ditos estádios ($p > 0,05$ pelo teste de F) (Tabela 2).



Figura 2. Planta lesionada a partir da inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* na haste principal; Produção de escleródio na haste infectada. Fonte: GOMES, 2016.

Tabela 2. Teste de médias de estádios em relação à progressão da lesão nas plantas de algodoeiro.

ESTÁDIOS	PROGRESSÃO DA LESÃO (mm)	
Estádio 2	21,03	a
Estádio 5	20,93	a
Estádio 6	19,96	ab
Estádio 3	18,83	b
Estádio 7	13,59	c
Estádio 4	13,47	c
Estádio 1	8,91	d

Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância

As avaliações são feitas isoladamente, pois os estádios em que a planta se encontra influenciam na progressão do fungo na haste principal. Ao contrário do que empiricamente é utilizado, não confere ao estágio V3 a maior progressão da doença, metodologia frequentemente adotada na cultura do algodão por ser a utilizada em outras culturas como o feijoeiro. Portanto, a inoculação pode ser feita em outros estádios, o que nos dá uma margem maior de pesquisa, podendo ser feita a inoculação tanto nos estádios 2, 5 e 6, por exemplo, uma vez que a progressão da lesão não é estatisticamente distinta.

Os estádios 2, 5 e 6 não diferiram quanto ao desenvolvimento das lesões, assim como os estádios 4 e 7. Era esperado que os estádios iniciais, principalmente o estágio 1, pois de acordo com Boland e Hall (1988), as lesões surgem frequentemente do primeiro ao quinto nó e em ramificações secundárias, no caso da cultura da soja, logo, esperava-se que fosse ocorrer maior comprimento de lesão, levando em conta que a haste planta está menos lignificada e assim, a o fungo não encontraria barreiras tão consideráveis para progressão da lesão. No entanto, o estágio em que a planta sofreu menos com a lesão, foi justamente o estágio 1, pressupõe-se então que, o local da planta em que houve a inoculação, logo acima do nó cotiledonar, foi o responsável pela não ultrapassagem decrescente do tecido necrosado, uma vez que a lesão não ultrapassou a região do nó.

Quando avaliada a temperatura e a exposição à luz solar, trabalhos mostram que plantas inoculadas em diferentes estádios em um mesmo ambiente, sob influência de diferentes temperaturas e regimes de luz, apresentaram maior crescimento micelial à temperatura considerada ambiente (25°C) e que o regime de luz, de maneira geral não influenciou no desenvolvimento do fungo (GARCIA, 2012), concretizando a confiabilidade do presente experimento conduzido em condições de temperatura ambiente, e possibilitando estudos similares em maior janela de épocas e à nível de campo, uma vez que o fotoperíodo não influencia no desenvolvimento do fungo. Leite (2005) estudando a produção de escleródios de *S. sclerotiorum*, verificou que este fungo produz maior quantidade dessas estruturas numa faixa de temperatura entre 15 e 25 °C, confirmando assim, a faixa de temperatura em que o experimento se encontrou e a similaridade com os efeitos de campo. Foi avaliado o genótipo DP 555 BGRR de fibra branca, em sete estádios de desenvolvimento vegetativos: V1, V2, V3, V4, V5 a V7 (MARUR; RUANO, 2004) em oito tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias após inoculação do fungo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo programa Genes (Cruz, 2006) e as médias comparadas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. Conclusão

O estágio fenológico ideal para a inoculação do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de algodoeiro, é o V2, para que possam ser conduzidas pesquisas buscando a resistência das plantas ao patógeno, de crescente importância, causador da doença do mofo branco.

A metodologia utilizada para a inoculação do fungo nas plantas foi eficiente, uma vez que todas as plantas, independente do estágio de desenvolvimento, sofreram lesões.

Referências bibliográficas

ABREU, M. J.; MENDONÇA, T. R.; SOUZA, E. A. Caracterização morfológica de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA EM FEIJÃO, 10., 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2011. 1 CD ROM.

Associação Brasileira dos produtores de algodão, ABRAPA. **Algodão no Brasil**. 01 mai. 2017. Disponível em: <http://www.abrapa.com.br/Paginas/dados/algodao-no-brasil.aspx>. Acesso em: 01 mai. 2017.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. San Diego: Academic, 2005. 922p.

BELTRÃO, N.E. de M.; BEZERRA, J.R.C. (Coord.). **Recomendações técnicas para o cultivo do algodoeiro herbáceo de sequeiro e irrigado nas regiões Nordeste e Norte do Brasil**. Campina Grande: EMBRAPA, CNPA, 1993. 72p. il. (EMBRAPA-CNPA. Circular técnica, 17)

BELTRÃO, N. E. M. Pragas do algodoeiro. In: BELTRÃO, N. E. M.; ARAÚJO, A. E. (Ed.). Algodão: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 265p. 2004.

BOLAND, G.J.; HALL, R. **Epidemiology of Sclerotinia stem rot of soybean in Ontário**. Phytopathology, v. 78, p. 1241-1245, 1988.

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

CARREGAL, L. H.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C. **Saiba mais sobre mofo branco**. Disponível em: <http://www.ihara.com.br/index/ezsite.asp?ID=2065>. Acesso em: 5 de agosto de 2016.

CHARCHAR, M. J. D'A.; ANJOS, J. R. N dos; OSSIPI, E. Ocorrência de nova doença do algodoeiro irrigado, no Brasil, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 6, p. 1101-1106, 1999.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Avaliação da Safra Agrícola 2008/2009: Sexto levantamento, Brasília, p.41, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura mensal- algodão em pluma. Décimo levantamento de safra, junho 2016 – safra 15/16. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. Ano 2. Nº 14. 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_07_28_11_52_59_algodao14.pdf. Acesso em: 02 de setembro de 2016.

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

CRUZ, C.D. (2006) - **Programa Genes: Biometria**. Viçosa, Editora UFV, 382 p.

Departamento de pesquisas e estudos econômicos – DEPEC - Bradesco. **Algodão**. Mar. 2017. Disponível em: https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_algodao.pdf Data de acesso: 01 mai. 2017.

FERREIRA, L. U. Avaliação e qualificação de métodos de inoculação artificial de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijoeiro comum visando a seleção de genótipos resistentes. In: **Resistência do feijoeiro comum ao mofo branco: comparação de métodos de inoculação e seleção de populações e linhagens resistentes**. 2013. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal do Goiás, Goiânia, Goiás.

FERRAZ, L. C. L. et al. Matéria orgânica, cobertura morta, e outros fatores que influenciam a formação de apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* em solos de cerrado. In: PEREIRA, R. C.;

NASSER, L. C. B. (Ed.). **Biodiversidade e produtividade sustentável de alimentos e fibras nos cerrados**. Brasília: EMBRAPA-CPAC, 1996. p. 296-301.

FISCHER, I. H.; FILETTI, M. de S.; CRUZ, J. C. S.; BUENO, C. J. **Efeito da temperatura e reação de genótipos de quiabeiro ao mofo branco**. Summa Phytopatologica. vol.40. no.1. Botucatu Jan./Mar. 2014.

FONTES, E. M. G.; RAMALHO, F. S.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A.V.; SIMON, M. F.; SUJIL, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. The cotton agricultural context in Brazil. In. Environmental risk assessment of genetically modified organisms: **Methodologies for assessing Bt Cotton in Brasil**. HILBECK, A. ANDOW, D; FONTES, E. M. G. (eds.) CABI publishing, Wallingford, UK, 400p. 2006.

GARCIA, R. Á. **Caracterização biológica e fisiológica de populações de *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliação da resistência genética em cultivares de soja**. 95f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Goiás, 2012.

GOMES, R. Dos S. S. **Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro e comportamento *in vitro* de *Sclerotinia Sclerotiorum* (Lib.) De Bary, submetido a diferentes temperaturas**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, Universidade Federal da Paraíba, Campus de Areia – Paraíba.

GÖRGEN, C. A. **Manejo do mofo-branco da soja com palhada de *Brachiaria ruziziensis* e *Trichoderma harzianum* ‘1306’**. Jataí: UFG, 2009. 72p. (Dissertação em Agronomia). Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí.

HUANG, H.C.; KOZUB, G.C. Temperature requirements for carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of different geographic origin. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. v 32, p. 279-286, 1991.

KULL, L. S. et al., Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotonia sclerotiorum*. **Plant disease**, Saint Paul, v. 88, n. 4, p. 325-332, 2004.

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

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

LIMA, R. C. **Manejo integrado do mofo-branco do feijoeiro**. 2015. 90f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Programa de pós graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais.

MANOSSO NETO, M. O.; JACOUD FILHO, D. S.; VRISMAN, C. M.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. **Análise, distribuição e quantificação do mofo banco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em diferentes regiões produtoras do estado do Paraná**. In: XLIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia/ XLIII Annual meeting of the Brazilian Phytopathological Society. Resumo. Brasília. Brazilian Phytopathological Society, v.35, supl.287p.2010.

MARUR, C.J.; RUANO, O. **Escala do algodão: um método para determinação de estádios de desenvolvimento do algodoeiro herbáceo**. Piracicaba: POTAFOS, 2004. p.3-4. (Informações Agronômicas, n.105).

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. S. B.; CARNEIRO, J. E. de S. Mofo Branco. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. da. (Org.). **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa, Ed. UEPG, p.101-105,2010.

PENNA, J.C.V. **Melhoramento do algodoeiro**. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa:UFV,2005. p 15-53.

PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. Straw test for resistance to white mold in beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, East Lansing, v. 39, p. 142-143, 1996.

POLLETO, I. **Caracterização e manejo do patossistema erva-mate/ podridão de raízes**. 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, Rio Grande do sul.

PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Diffeerencial responses of alfafa genotypes to stem inoculations with *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifolium*. **Plant disease**, Quebec, v. 75, n. 2, p 188-191, Feb. 1991.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, disease and symptomatology host range, geographic distribution and impact. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n.8, p. 885-890, Aug. 1979.

QUEIROZ, M. V.; VIEIRA, R. F.; SOARES, B. de A.; LIMA, R. C.; PAULA JÚNIOR, T. J de; LEHNER, M. da S. **Desempenho de genótipos melhorados de feijão com resistência de campo ao mofo-branco**. In: Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica, 10. 2013. Belo Horizonte, Minas Gerais.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 80 p.

SCHWARTZ, H. F.; HARVESON, R. M.; STEADMAN, J. R. **White mold of dry beans**. Published by University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, 2012.

SILVA, P. H. **Reação de linhagens de feijão comum e agressividade de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum***. Dissertação, Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v. 50, n. 6, p. 2199-2223, 2010.

Sociedade Nacional de Agricultura. **Terceiro maior produtor de algodão, Brasil procura crescimento na produção**. Data da publicação: 16 de setembro de 2015. Disponível em: <http://sna.agr.br/terceiro-maior-produtor-de-algodao-brasil-procura-crescimento-na-producao/>
Data de acesso: 03 de mar de 2017

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Response of dry bean genotypes with different levels of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* to three inoculation methods. **Annual report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 51, p. 218-219, 2008.

TERÁN, H.; SINGH, S. P. Gamete selection for improving physiological resistance to white mold in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 25, n. 1, p. 271-280, Jan. 2009.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de; COSTA, J. L. da S. **Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto a resistência a *Sclerotinia sclerotiorum***. 2003. Pesquisa Agropecuária Tropical, 33. 2003. 57-63p.

VALE, F. X. R. do; JESUS JUNIOR, W. C. de; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfíl, 2004. 531p.

VENETTE, J. Sclerotinia spore formation, transport and infection. In: **Proceedings of the Sclerotina Workshop**. 21 January 1998. Fargo, North Dakota, USA, 1998.