**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

***Sclerotinia sclerotiorum*: características morfológicas,
agressividade, sensibilidade “in vitro” a fungicidas e resistência de
isolados a tiofanato metílico**

Patrícia Fabretti Kreycki

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2016**

Patricia Fabretti Kreyci
Engenheira Agrônoma

***Sclerotinia sclerotiorum*: características morfológicas, agressividade,
sensibilidade “in vitro” a fungicidas e resistência de isolados a
tiofanato metílico**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ OTAVIO MACHADO MENTEN**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Kreyci, Patrícia Fabretti

Sclerotinia sclerotiorum: características morfológicas, agressividade, sensibilidade “in vitro” a fungicidas e resistência de isolados a tiofanato metílico / Patrícia Fabretti Kreyci. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
146 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Sclerotinia sclerotiorum* 2. Mofo-branco 3. Caracterização morfológica 4. Sensibilidade a fungicidas 5. Resistência 6. Tiofanato metílico I. Título

CDD 632.43
K92s

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

*Aos meus pais José e Magali,
Que me ensinaram o valor da luta,
E a felicidade da conquista,*

OFEREÇO

*À minha irmã Ana Paula,
Meu exemplo de superação
E meu sobrinho Mario,
Por todo amor e afeto,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, pela formação nos cursos de Graduação e Pós Graduação.

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

Ao Professor José Otávio Machado Menten pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

Ao Dr. Luiz Carlos Bhering Nasser e Dra. Silvana Petrofezza pelo fornecimento de grande parte dos isolados. Sem a generosidade de vocês esse projeto não seria possível.

Aos demais colegas que colaboraram com isolados: Ériston, Marcos Freitas, Miller, Jair, Thomas, Ricardo, Meyriele, Gilson, Valter, Willian, Taurino, Basf, Ceres, Instituto Biológico, Fundação ABC, Vitabrás.

À BASF, principalmente Kelly Simões, Eliara Xavier e Ronaldo Rodrigues pelo excelente treinamento em BPL – Boas Práticas Laboratoriais e no uso correto e seguro dos fungicidas.

Ao Dr. Vicente Savino e Dr. Antônio Coelho pelo acolhimento e hospitalidade.

Aos colegas de departamento: Miwa, Tirolez, Lico, Nuir, Sidney, Adilson (*in memorian*) pela agradável convivência.

À todos os amigos de pós graduação e todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para realização desse trabalho.

MUITO OBRIGADA!

*"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão que sentar-se,
fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias frios em casa me esconder.
Prefiro ser feliz embora louco,
que em conformidade viver. "*

Martin Luther King

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
LISTA DE GRÁFICOS	19
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	25
2.1 Histórico, hospedeiros e ocorrência de mofo branco	25
2.2 Taxonomia e etiologia	27
2.3 Ciclo de vida, epidemiologia e sintomatologia	33
2.4 Manejo integrado	37
2.4.1 Controle cultural	38
2.4.2 Controle genético	40
2.4.3 Controle biológico	41
2.4.4 Controle químico	43
2.4.4.1 Tratamento de sementes	45
2.4.4.2 Fungigação	46
2.4.4.3 Herbicidas	48
3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLOGICA DE COLÔNIA EM CULTURA PURA E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>S. SCLEROTIORUM</i>	49
3.1 Introdução	49
3.2 Materiais e métodos	52
3.2.1 Obtenção dos Isolados	52
3.2.2 Desenvolvimento e morfologia de isolados de <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i> em cultura pura	55
3.2.2.1 Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM)	56
3.2.2.2 Caracterização micelial das colônias	56
3.2.2.3 Características dos escleródios produzidos	57
3.2.3 Agressividade de isolados de <i>S. sclerotiorum</i> em trifólios de soja e feijão.....	57
3.3 Discussão de Resultados	58
3.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)	58

3.3.2 Caracterização micelial das colônias	61
3.3.3 Características dos escleródios produzidos	62
3.3.4 Agressividade de isolados de <i>S. sclerotiorum</i> em trifólios de soja e feijão..	65
4 SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> A FUNGICIDAS “IN VITRO”	71
4.1 Introdução	71
4.2 Materiais e métodos	73
4.2.1 Descrição dos Produtos Utilizados	73
4.2.1.1 Fluazinam	73
4.2.1.2 Procimidona	74
4.2.1.3 Tiofanato Metílico	75
4.2.2 Sensibilidade “in vitro” de isolados de <i>S. sclerotiorum</i> a fungicidas	76
4.2.3 Avaliação da sensibilidade fungicida “in vitro” utilizando doses discriminatórias	78
4.3 Discussão de resultados	79
4.3.1 Sensibilidade “in vitro” de isolados de <i>S. sclerotiorum</i> a fungicidas	79
4.3.2 Avaliação da sensibilidade fungicida “in vitro” utilizando doses discriminatórias	81
5 RESISTÊNCIA DE ISOLADOS DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> A TIOFANATO METÍLICO	85
5.1 Introdução	85
5.2 Materiais e métodos	88
5.3 Discussão De Resultados	90
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
REFERÊNCIAS	97
ANEXOS	117

RESUMO

***Sclerotinia sclerotiorum*: características morfológicas, agressividade, sensibilidade “in vitro” a fungicidas e resistência de isolados a tiofanato metílico**

O mofo-branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* se encontra amplamente disperso pelas áreas de produção em todo país e afeta mais de 400 espécies de planta, causando perdas na produção e redução na qualidade. O controle da doença é considerado difícil, pois o patógeno forma escleródios (estruturas de sobrevivência), que podem permanecer viáveis por vários anos. Normalmente exige-se um manejo integrado, que envolve o controle químico, biológico e diversas práticas culturais, uma vez que cultivares resistentes não estão disponíveis. As adoções de estratégias sustentáveis de manejo do mofo branco dependem da compreensão do patógeno, sua etiologia, morfologia, agressividade e dinâmica populacional. Foram avaliados 150 isolados, coletados em cultivos de cenoura, couve, girassol, nabo, soja e feijão. O índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), a coloração da colônia e densidade do micélio, o tempo necessário para a formação do primeiro escleródio, o número de escleródios por placa, o peso em mg e a forma dos escleródios foram utilizados na caracterização dos isolados. O critério adotado nas avaliações da agressividade dos isolados foi o diâmetro das lesões após diversos intervalos de tempo, usando o método da folha destacada, em feijão e soja. Os valores foram usados para calcular a área abaixo da curva de progresso de doença. A população avaliada mostrou ampla variabilidade para as características morfológicas, fisiológicas e na agressividade. O controle químico é a estratégia mais utilizada no controle do mofo branco. No Brasil, onze ingredientes ativos estão registrados, no entanto, três são mais utilizados: fluazinam, procimidona e tiofanato metílico. O uso intensivo de fungicidas, especialmente os que agem em um único sítio de ação, podem selecionar isolados resistentes e, conseqüentemente, levar a falhas de controle. A avaliação da sensibilidade de *S. sclerotiorum* para os fungicidas mais utilizados é fundamental para monitorar o comportamento da população. Foram avaliadas a sensibilidade de isolados brasileiros de *Sclerotinia sclerotiorum* a fluazinam, procimidona e tiofanato metílico, através de concentrações discriminatórias e valores de CI_{50} (concentração do fungicida que inibe em 50% o crescimento micelial). Um total de 150 isolados foi testado e nenhum se mostrou resistente a fluazinam ou procimidona. O valor da CI_{50} para fluazinam variou de 0,00173 ppm a 0,01284 ppm, com média de 0,007 ppm. Para procimidona, a CI_{50} desses isolados variou de 0,12223 ppm a 0,35916 ppm, com média de 0,21834 ppm. Foram encontrados sete isolados resistentes ao tiofanato metílico, com CI_{50} variando de 990-2667 ppm. Na população sensível o valor variou de 0,49 - 3,73 ppm. Foi verificada a adaptabilidade dos isolados resistentes, e esta se mostrou comparável a dos isolados sensíveis, sugerindo que os isolados possuem aptidão parasitária suficiente para competir com os isolados sensíveis em condições de campo.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*; Mofo-branco; Caracterização morfológica; Sensibilidade a fungicidas; Resistência; Tiofanato metílico

ABSTRACT

***Sclerotinia sclerotiorum*: morphological characteristics, aggressiveness, "in vitro" fungicides sensitivity and isolated resistance to thiophanate-methyl**

The white mold caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* is widely dispersed in production areas in the whole country and affects more than 400 species, causing production losses and reduced quality. Disease control is considered difficult because the pathogen form sclerotia (survival structure) which can remain viable for several years. Typically this requires a integrated pest management, which involves chemical, biological control and various cultural practices, since resistant cultivars are not available. The adoption of sustainable management strategies for white mold depends on understanding the pathogen, its etiology, morphology, aggressiveness and population dynamics. We evaluated 150 isolates collected from carrots, cabbage, sunflower, turnip, soybeans and beans. Mycelial growth rate index (MIG), colony color and mycelium density, time required to form the first sclerotia, the number of sclerotia per plate, the weight in mg and sclerotia shape were used for the isolates characterization. The criteria used in the isolates aggressiveness evaluations were lesions diameter after various time intervals, using the detached leaf method in bean and soybean. The values were used to calculate the area under the disease progress curve (AUDPC). The population evaluates showed wide variability for morphological, physiological and aggressive characteristics. Chemical control is the most commonly strategy used in the control of white mold. In Brazil, eleven ingredients active are registered, however, three are most commonly used, and they are: fluazinam, procymidone and thiophanate-methyl. The intensive use of fungicides, especially those which act on at a single site of action, can select resistant isolates, and consequently lead to failure control. The evaluation of the sensitivity of *S. sclerotiorum* to the most commonly used fungicides is critical to monitor the behavior of the population. We assessed the sensitivity of Brazilian *Sclerotinia sclerotiorum* isolated to fluazinam, procymidone and thiophanate-methyl, through discriminatory concentrations and IC_{50} values (the fungicide concentration which inhibits 50% of the mycelial growth). A total of 150 strains have been tested, and none were resistant to fluazinam or procymidone. The IC_{50} value for fluazinam ranged from 0.00173 to 0.01284 ppm ppm, with an average of 0.007 ppm. For procymidone, the IC_{50} of these isolates ranged from 0.12223 to 0.35916 ppm ppm, averaging 0.21834 ppm. Seven isolates were found resistant to thiophanate-methyl with IC_{50} ranging from 990-2667 ppm. In sensitive people the value ranged from 0.49 to 3.73 ppm. Adaptability of resistant isolates was observed, and this proved to be comparable to the susceptible isolates, suggesting that the isolates have parasitic fitness enough to compete with susceptible isolates in field conditions.+

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum* ; White mold ; Morphological characterization ; Fungicides sensitivity; Resistance; Thiophanate-methyl

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fases da formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*: (A) iniciação; (B) desenvolvimento; (C) maturação. No detalhe, uma visão ampliada do esclerodio típico (seta). Fonte: Jones; Stewart; Whipps (2011) 29
- Figura 2 - Conjunto de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* formados na medula da soja. Fonte: arquivo pessoal 30
- Figura 3 - Formação de apotécios. (A) Escleródio com primórdios de estipes. (B) Alongamento e melanização dos primórdios de estipes. (C) Início da diferenciação do himênio (D) Crescimento do apotécio. (E) Apotécio completamente maduro. (F) Ejeção de ascósporos. Fonte: adaptado de SELVARAJ et al. (2015) 31
- Figura 4 - (I) Representação esquemática da estrutura do apotécio (A) de *Sclerotinia sclerotiorum*. No detalhe (B), ascas e ascósporos; (C) paráfises; (D) asco, contendo oito ascósporos. Adaptado de AGRIOS (1997). (II) Corte transversal de um apotécio alinhado com ascos maduros contendo ascósporos. Fonte: Heffer e Johnson (2007). (III) Ascósporos de *S. sclerotiorum* visualizados em microscópio ótico. Fonte: Furlan (2015)32
- Figura 5 - Ciclo de vida de *Sclerotinia sclerotiorum* no feijoeiro. Fonte: Santos Marques (2014)33
- Figura 6 - Demarcação dos estados de origem dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e número de isolados coletados em cada região53
- Figura 7 - Demarcação das cidades onde foram coletados os isolados de *S. sclerotiorum*54
- Figura 8 - Coloração predominante das colônias de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo A: branca; B: bege; C: de marrom a preta. Fonte: Corradini (1989)61
- Figura 9 - Característica do micélio das colônias de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo A: abundante; B: irregular; C: ralo ... 62
- Figura 10 - Característica da distribuição dos escleródios de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo (A) dispersos na colônia; (B) círculo no centro; (c) regular próximo à margem 63

- Figura 11 - Exemplo de quantidade, tamanho e forma dos escleródios de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo (A) muitos escleródios, pequenos, arredondados; (B) poucos escleródios, grandes e com formas diversas; (C) quantidade e tamanhos médios, e formas diversas65
- Figura 12 - Exemplo de lesão causadas em trifólios de feijão após 48 horas de incubação 66
- Figura 13 - Mapa de Minas Gerais, com destaque para áreas da Fazenda Nova Holanda e Engenho Velho, em Paracatú 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a velocidade de crescimento micelial, número e porcentagem de isolados em cada grupo	60
Tabela 2 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o tempo de formação de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo	63
Tabela 3 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o tempo de formação de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo	64
Tabela 4 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o peso individual de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo	65
Tabela 5 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em trifólios destacados de feijão, número e porcentagem de isolados em cada grupo	66
Tabela 6 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em trifólios destacados de soja, número e porcentagem de isolados em cada grupo	67
Tabela 7 - Caracterização do local, hospedeiro de origem e safra de coleta de isolados de <i>S. sclerotiorum</i> utilizados para teste de sensibilidade “in vitro” a fungicidas	77
Tabela 8 - Lista de isolados de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , propriedade onde foi coletado e coordenadas GPS do local da coleta	89
Tabela 9 - Relação dos isolados, equação da reta da regressão linear da porcentagem de inibição do crescimento micelial, R^2 da equação da reta, concentração do fungicida que inibe 50% do crescimento micelial e diagnostico da resistência	91
Tabela 10 - Relação dos isolados, características de micélio, escleródios, agressividade, concentração de tiofanato metílico que inibe 50% do crescimento micelial e diagnostico da resistência	92

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Representação gráfica das culturas de origem dos isolados de <i>S. sclerotiorum</i>	54
Gráfico 2 - Representação gráfica das safras em que foram coletados os isolados de <i>S. sclerotiorum</i>	55
Gráfico 3 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes culturas de origem	68
Gráfico 4 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes estados brasileiros	68
Gráfico 5 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes safras	69
Gráfico 6 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de <i>S. sclerotiorum</i> em cada concentração de Fluazinam	80
Gráfico 7 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de <i>S. sclerotiorum</i> em cada concentração de Procimidona	80
Gráfico 8 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de <i>S. sclerotiorum</i> em cada concentração de Tiofanato Metílico	81

1 INTRODUÇÃO

O mofo branco é uma doença causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, conhecido mundialmente por ser muito agressivo, cosmopolita, inespecífico e com um grande número de hospedeiros (BOLAND e HALL, 1994), podendo causar danos significativos em culturas de importância econômica como alface, algodão, batata, canola, crotalária, ervilha, feijão, girassol, repolho, soja, tomate entre outras (BOLTON et al., 2006). Estes fatos demonstram a grande versatilidade ecológica deste fungo e sua vasta adaptação a diferentes ambientes (PELTIER et al., 2012).

O patógeno sobrevive no solo por vários anos em estruturas denominadas de escleródios, que atuam como fonte de inóculo inicial (ADAMS e AYERS, 1979; BEN-YEPHET et al., 1993). No solo, os escleródios podem germinar de duas formas, formando micélio (germinação miceliogênica) e/ou formando apotécios (germinação carpogênica). As infecções são, geralmente, originadas por ascósporos produzidos nos apotécios. Os ascósporos são liberados ao ar e na presença de flores e ambiente favorável, infectam as plantas hospedeiras (CLARKSON et al., 2003). Os fatores que favorecem o desenvolvimento desta doença são: temperaturas entre 18-25°C; molhamento foliar de 7 a 26 horas; rotação e sucessão de cultura com hospedeiros suscetíveis; elevado número de plantas, que aumenta a umidade e diminui o arejamento sob o dossel; chuvas frequentes ou irrigações pesadas coincidindo com baixas temperaturas; presença de luz para germinação carpogênica; monocultura e semeaduras intensivas de plantas hospedeiras (MICHEREFF et al., 2001).

Normalmente exige-se um manejo integrado do mofo branco, que envolve vários métodos de controle que visam à redução dos danos e perdas de rendimento sem afetar a qualidade dos grãos ou sementes produzidos. O manejo integrado normalmente envolve o controle químico, biológico e diversas práticas culturais. Pesquisas referentes à resistência genética têm sido conduzidas, mas ainda não existem no mercado genótipos resistentes ao mofo branco, apesar de se encontrar algum nível de tolerância ou escape em lavouras comerciais (KIM e DIERS, 2000).

A adoção de estratégias sustentáveis de manejo de doenças é claramente dependente da compreensão do patógeno, representado por sua

etiologia, morfologia, patogenicidade e da sua dinâmica populacional (COOK; LEES, 2004), pois estes fatores podem predizer como as populações irão desenvolver respostas a diferentes estratégias de controle (ALFONSO et al., 2000). Segundo Chaves (1964), há variabilidade entre diversas características morfológicas observadas entre isolados deste fungo, como, por exemplo, a coloração micelial, velocidade de crescimento, quantidade, forma e tamanho dos escleródios produzidos, entre outros. Além das diferenças morfológicas, variações nos níveis de agressividade também foram detectadas entre os diferentes isolados de *S. sclerotiorum* (GARCIA, 2008).

Um dos métodos mais utilizados no manejo do mofo branco é o controle químico, e seus resultados variam conforme o ingrediente ativo, época e número de aplicações. Apesar de diversos relatos de sua eficiência, o controle químico tem alto custo e não atinge a causa do problema, o banco de escleródios no solo. Apesar da proteção parcial às lavouras, não há um controle efetivo que impeça a reinfestação do solo por novos escleródios produzidos nas plantas infectadas (LU, 2003) e, por este motivo, é necessário o uso do manejo integrado de doenças, essencial para a redução do inóculo primário e com isso as perdas (PELTIER et al., 2012).

O uso intensivo de fungicidas, especialmente com sitio de ação específico, pode selecionar isolados resistentes e, conseqüentemente, pode levar a falhas de controle (BRENT e HOLLOMON, 2007). No Brasil, onze ingredientes ativos estão registrados para controle do mofo-branco, mas três são frequentemente utilizados pelos agricultores: tiofanato-metílico, fluazinam e procimidona. O fungicida tiofanato metílico é um benzimidazol e atua interferindo na conformação de β -tubulina para formação dos microtúbulos que fazem parte do citoesqueleto, durante a metáfase no processo de mitose (HEWITT, 1998; TOMLIN, 2002). Fluazinam é uma fenilpiridinilamina que atua na inibição ou desacoplamento da fosforilação oxidativa, o que previne a formação da molécula de ATP. Fluazinam destrói a conexão de fosforilação oxidativa após a ionização do grupo amino (LYR, 1995; ROBERTS e HUDSON, 1999). Procimidona é uma dicarboximida que interfere com a respiração celular, bloqueando a atividade da enzima NADH citocromo-c-redutase no processo respiratório (EHR e KEMMITT, 2002).

O surgimento de fungos resistentes a fungicidas, que inicialmente eram eficientes no controle de algumas doenças, vem se tornando um sério problema.

Até 1970, os casos de resistência a fungicidas, em condições de campo, limitavam-se a menos de 10 gêneros de fungos, no entanto, a partir de 1988, com o uso mais freqüente dos fungicidas sistêmicos, 64 gêneros de fungos resistentes a fungicidas foram relatados (DELP, 1988). A proporção geométrica do desenvolvimento da resistência pelos fungos aos fungicidas sistêmicos praticamente impôs às indústrias químicas, a criação em 1982, de instituição denominada como a FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), com o objetivo de monitorar a resistência e estabelecer estratégias anti-resistência para os principais fungicidas (URECH & EGLI, 1991).

O desenvolvimento de resistência ao fungicida benomil por isolado de *Sclerotinia* spp. nas culturas de alface e amendoim foi relatado por Mueller, Derksen e Ozkan (2002). Testes realizados com 91 isolados de *S. sclerotiorum* indicaram potencial para resistência a tiofanato metílico (MUELLER; DERKSON; OKZAN, 2002). A resistência de fungos aos benzimidazóis já foi detectada em muitas espécies fúngicas e é resultante da mutação do gene da β -tubulina causando alteração na seqüência de aminoácidos, o que determina ou não a resistência ao fungicida (MCKAY e COOK, 1997; MCKAY et al., 1998). No mofo branco tem sido observada em muitos campos de cultivo e isso tem sido atribuído ao surgimento de novas populações de *S. sclerotiorum* com resistência a esses produtos (LI; ZHOU, 2004).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização morfológica e de agressividade, e comportamento diante de fungicidas, de isolados de *S. sclerotiorum* obtidos de campos experimentais e de produção no Brasil. Estas informações poderão auxiliar nos programas de manejo do mofo branco.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico, hospedeiros e ocorrência de mofo branco

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é o agente etiológico do mofo branco da soja e feijoeiro, entre outras culturas. As doenças causadas por esse patógeno recebem diferentes denominações populares: podridão branca da haste, podridão de esclerotinia, murcha de esclerotinia, podridão de cabeça e podridão aquosa (PURDY, 1979). Em inglês, é chamado de *white mold* e *sclerotinia stem rot*. O nome mofo branco é o que melhor contribui para a diagnose da doença (REIS et al., 2011).

A espécie é considerada, por Purdy (1979), como mais inespecífico dos fitopatógenos e com ampla distribuição geográfica. A doença tem sido relatada na América do Norte, Europa, Ásia, África e em várias regiões da América do Sul, e seus danos manifestam-se com maior severidade em áreas com clima úmido (LUMSDEN, 1979). Além disso, pode infectar mais de 408 espécies de plantas, pertencentes a 278 gêneros e 75 famílias. Entre as plantas afetadas pelo fungo, destacam-se: soja, feijão, girassol, canola, ervilha, alfafa, fumo, tomate e batata (BOLAND; HALL, 1994; LEITE, 2005, BOLTON et al., 2006), além de plantas infestantes como carrapicho, mentrasto, caruru, picão, mostarda, botão-de-ouro, marselha e serralha (VIEIRA, 1988).

O mofo branco é conhecido e estudado desde 1837. O estágio sexuado do fungo foi, primeiramente, descrito por Madame Liebert, como *Peziza sclerotiorum* (SACARDO, 1872). Fuckel, em 1869, criou o gênero *Sclerotinia* e, ao transferir o fungo para esse gênero, formou a combinação *Sclerotinia libertiana*, em homenagem à madame Liebert. De Bary (1884) foi o primeiro que adotou as regras modernas de nomenclatura botânica, utilizando o nome da espécie, *Sclerotinia sclerotiorum* (CHAVES, 1964).

No Brasil, o primeiro relato da doença ocorreu em 1921, por Saccá, que diagnosticou o fungo em plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.), no estado de São Paulo. Dois anos mais tarde, o mesmo autor notificava o fungo atacando plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (SACCÁ, 1921, 1923). Nos anos seguintes, o patógeno foi verificado em diferentes hospedeiros, como couve, couve-flor, alface, feijão, girassol e ervilha, no Rio Grande do Sul (COSTA NETO, 1943, 1947, 1954);

alface, feijão, cenoura, chicória e tomate, em Minas Gerais (CHAVES, 1964). *S. sclerotiorum* foi disseminado pelas regiões Sul e Sudeste, nas décadas de 1940 e 1950, como um patógeno secundário para o feijão comum.

Menten (1995) relatou que, a partir da safra 1976/77, *S. sclerotiorum* foi detectado em lavouras de soja, no centro-sul do Paraná, sem verificar, inicialmente, problemas com a produtividade, visto que ocorreu em pequenas reboleiras, infectando poucas plantas por hectare. Porém, em função de uma série de fatores, tais como monocultivo, sucessão de culturas com espécies suscetíveis (girassol, canola, feijão e algodão), utilização de sementes infectadas e condições ambientais favoráveis, a doença tornou-se um dos principais problemas no Estado do Paraná.

Ferreira et al. (1981) registram que a primeira epidemia severa desse patógeno no Brasil foi em 1976, na cultura da soja no estado do Paraná, causando perdas de até 70% de plantas infectadas em lavouras destinadas à produção de sementes. Homechin (1982) esclarece que, nesse período, as perdas da produção, devido à incidência da doença em lavouras comerciais nos municípios de Castro, Ponta Grossa, Palmeira e Guarapuava, no estado do Paraná, variaram de 70 a 92% no rendimento de grãos, 5,6 a 39,2% para o peso de 100 sementes e 20 a 90% para porcentagem de plantas infectadas. Segundo Nasser et al. (1984), no início da década de 1980, foram registradas perdas de até 30% em lavouras de soja dos municípios de São Gotardo, Rio Parnaíba e Carmo do Parnaíba, em Minas Gerais, devido à ocorrência da doença.

Com a expansão da fronteira agrícola na região dos cerrados, agricultura praticada no período frio do ano e sob sistemas irrigados, essa doença se destacou nas culturas do feijão e da ervilha, pois o patógeno encontrou temperaturas amenas e umidade alta (CAFÉ-FILHO, 1985). Em quase 10 anos, o patógeno se tornou presente em 50% das lavouras de feijão irrigadas com pivô central, causando severas epidemias de mofo branco e tornando-se o principal patógeno em feijão dessas regiões. Registros posteriores mostraram que o patógeno estava, presente em quase todas as áreas irrigadas por pivô central, podendo causar até 100% de perda na produção de seus hospedeiros (LOBO Jr., 2002).

Em 1996, o fungo *S. sclerotiorum* foi identificado, pela primeira vez, como agente patogênico na cultura do algodoeiro, irrigado sob pivô central, em Paracatu - MG. Foram observados sintomas característicos de murcha, necrose e podridão úmida da haste, do pecíolo, da folha e da maçã. No interior do capulho, em

95% das plantas inspecionadas, foram observados micélios brancos de aspecto cottonoso e escleródios escuros irregulares do patógeno (CHARCHAR et al., 1999).

Segundo Campos e Silva (2009), somente no estado de Goiás, na safra de 2008/2009, ficou evidenciado que 45% da área cultivada com soja, cerca de um milhão de hectares, encontravam-se comprometidos com a referida doença. Campos et al. (2005) relataram que, em áreas de 100 a 300 hectares, com incidência de doença superior a 50%, as perdas ultrapassaram 60% do rendimento de grãos. Na região de Chapadão do Sul (MS), o cultivo do girassol safrinha causou grande disseminação da doença, comprometendo outras espécies suscetíveis, entre elas, a soja (PITOL, 2009). Essa doença demonstrou um aumento considerável a partir da safra de 2008, com estimativa de 23,7% da área de cultivo de soja no Brasil infestados pelo patógeno na safra 2012/2013, superando 2,6 milhões de hectares (MEYER et al., 2014). De acordo com a Sociedade Nacional de Agricultura (SNA), nada menos que seis milhões de hectares (de um total de 70 milhões de hectares cultivadas) apresentam a doença no Brasil (MENTEN; CALAÇA; KREYCI, 2012).

LEHNER et al. (2016) realizaram uma meta-análise para avaliar a relação entre a incidência de mofo branco e produtividade da soja (35 ensaios) e entre a incidência e produção de escleródios (29 ensaios) em experimentos realizados em 14 locais ao longo de quatro safras. Concluíram que a cada 10% de aumento na incidência do fungo ocorre uma redução na produtividade da ordem de 172 kg ha^{-1} . Além disso, 10% de aumento na incidência do fungo correspondem à produção de um quilograma a mais de escleródios por hectare. Esta relação (incidência x produção de escleródios) foi mais significativa na região sul e em altitudes mais elevadas. Ainda segundo o estudo, considerando um cenário de 43% de incidência em 22% da área plantada e de ausência de manejo adequado, o prejuízo causado por este fungo pode chegar a 1,47 bilhões de dólares americanos por ano no Brasil.

2.2 Taxonomia e etiologia

O agente causal do mofo branco pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycota, Classe Leotiomycetes, Subclasse Leotiomycetidae, Ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae, Gênero Sclerotinia

(Index fungorum, 2016). Atualmente são taxonomicamente reconhecidas 263 espécies de *Sclerotinia*. Estudos com base no DNA genômico, por meio de técnicas moleculares, separam a maioria dos isolados em três espécies: *S. sclerotiorum*, *S. trifoliorum* e *S. minor*, delineadas, inicialmente, com base em características morfológicas e citológicas (KOHN et al., 1988).

O filo Ascomycota constitui o grupo mais numeroso de fungos. Sua característica básica é a formação, após a meiose, de esporos sexuais, os ascósporos, dentro de uma estrutura em forma de saco, o asco (KRUGNER; BACCHI, 1995). O micélio desse grupo de fungos é constituído por hifas hialinas, septadas, multinucleadas e ramificadas. Na Ordem Helotiales, a característica mais marcante é a formação de escleródios bem desenvolvidos; já a Família Sclerotiniaceae caracteriza-se pela produção, no ciclo sexual, de apotécios com estipe, a partir da germinação dos escleródios (BOLTON et al., 2006).

O micélio de *S. sclerotiorum* é hialino, septado (PURDY, 1979), muito ramificado e formando uma massa cotonosa na superfície dos órgãos atacados (ABAWI; GROGAN, 1979). As hifas vegetativas, inicialmente, desenvolvem-se de forma distanciada umas das outras. À medida que diminui a disponibilidade de nutrientes, ocorre a atração e fusão de hifas, assim, dando início à formação de escleródios, processo que envolve mudanças celulares, mobilização e deposição de muitas substâncias (LE TORNEAU, 1979). Os escleródios formam-se, normalmente, no interior dos tecidos infectados, mas podem formar-se sobre a superfície dos tecidos em condições de alta umidade e, também, sobre ou dentro das flores ou das sementes, por isso, são frequentemente encontrados em amostras de colheita (BOLTON et al., 2006). O fungo produz microconídios em hifas ou no himênio do apotécio (KOHN, 1979). Todavia, esses microconídios não germinam e sua função na biologia do fungo é até agora desconhecida (BOLTON et al., 2006).

O escleródio é composto por três camadas distintas: uma parede grossa e rica em melanina, uma parede fina (córtex) e a medula branca, onde está embutida uma matriz fibrilar composta de hidratos de carbono, principalmente β -glucanos, e proteínas, que nada mais é do que o micélio dormente do fungo (LE TOURNEAU, 1979). De acordo com Townsend e Willetts (1954), os estágios de formação de escleródios podem ser caracterizados em três fases: (i) iniciação: agregação de hifas para formar uma massa branca chamada de iniciais de escleródios; (ii) desenvolvimento: crescimento de hifas e agregação adicional para

aumentar o tamanho; e (iii) delimitação e maturação da superfície: a deposição de melanina nas células da casca e consolidação interna (Figura 1).

Figura 1 - Fases da formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*: (A) iniciação; (B) desenvolvimento; (C) maturação. No detalhe, uma visão ampliada do escleródio típico (seta).

Fonte: Jones; Stewart; Whipps (2011)

A longevidade dos escleródios é muito variável, de acordo com os diferentes autores. Segundo Nelson (1998), a durabilidade dos escleródios se dá pela constituição física dura em razão da presença de uma proteção exterior formada por melanina, altamente resistente à degradação microbiana. Görgen et al. (2010) afirmaram que os escleródios permanecem viáveis por até 11 anos. Segundo Adams e Ayers (1979), esse período seria de até oito anos, e de acordo com Cook et al. (1975), no mínimo, de três anos. Davis (1925) verificou que escleródios próximos à superfície não permanecem viáveis por mais de um ano. Altas temperaturas do solo e alta umidade reduzem significativamente o período de sobrevivência dos escleródios, mas pH e textura do solo mostraram ter efeitos mínimos (CHAVES, 1964). Reis e Tomazini (2005) relataram que o período de sobrevivência de escleródios no solo, em condições de campo, varia com a sua profundidade. Eles apresentam maior viabilidade quando enterrados a 10cm do que aqueles mantidos na superfície do solo.

Os escleródios variam drasticamente em tamanho. Chaves (1964) descreveu os escleródios como estruturas negras, com formas variadas e cujo comprimento fica entre 2 e 20mm, com diâmetro variando de 2 a 10mm. Segundo Bolton et al. (2006), as formas e dimensões dos escleródios variam em função do hospedeiro onde eles são produzidos (Figura 2). Na cmiceliogênicaultura do girassol, os escleródios podem variar de 1 a 35 cm de diâmetro, podendo tomar dimensões semelhantes às de um capítulo floral. Já na cultura do feijão, observam-se escleródios globosos variando de 2 a 10 mm de diâmetro.

Figura 2 - Conjunto de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* formados na medula da soja
Fonte: arquivo pessoal.

Os escleródios podem germinar de forma miceliogênica ou carpogênica. O tipo de germinação dos escleródios tem grande importância no ciclo vital do patógeno. Vários fatores podem determinar o tipo de germinação, entre eles, as condições ambientais e as concentrações de nutrientes disponíveis no escleródio. Venette (1998) observou que, em situações de limitações de nutrientes, pode ser desencadeada a germinação carpogênica, já com a disponibilidade de nutrientes, os escleródios podem germinar formando novo micélio. Segundo Clarkson et al. (2003), a condição ótima para formação de apotécios ocorre quando a umidade do solo for superior a 50% da capacidade de campo e quando a temperatura estiver entre 15°C e 18°C, em um período de 10-14 dias.

Na germinação miceliogênica, hifas individuais podem germinar diretamente por meio do envoltório dos escleródios. Essas hifas parasitam, primeiramente, a matéria orgânica em decomposição, utilizando-a como fonte de nutrientes, para, posteriormente, crescerem e infectarem os hospedeiros (ADAMS; AYERS, 1979; WILLETTS; WONG, 1980). Na germinação carpogênica, os escleródios germinam produzindo apotécios. A germinação se inicia com a ativação do desenvolvimento na região do córtex medular, assim, as células fúngicas crescem formando primórdios que rompem a capa do escleródio e continuam o crescimento como ramificações em forma de tubo, denominadas estipes (BOLTON et. al., 2006). O estipe é delicado, com diâmetro variando de 0,7 a 1,2mm, gradualmente se expandindo no sentido ascendente, com a base mais ou menos alargada; o comprimento varia de 4,0 a 8,0mm, sob boas condições de iluminação, atingindo, porém, mais de 20mm, sob condições deficientes de luz (CHAVES, 1964). A presença de luz, principalmente ultravioleta (<390nm), mesmo que difusa, promove a expansão da ponta do estipe para formar uma superfície superior, dando

origem ao apotécio, uma estrutura em forma de taça (VENETTE, 1998; BOLTON et al., 2006), com diâmetro variando de 3,5 a 7,0mm, coloração pardo-clara, com as margens, inicialmente, involutas, em geral, quase planas e umbelicadas, quando maduros. Chaves (1964) caracteriza o himênio com forma côncava à plana, ligeiramente, mais escura do que a parte externa do apotécio (Figura 3).

Figura 3 - Formação de apotécios. (A) Escleródio com primórdios de estipes. (B) Alongamento e melanização dos primórdios de estipes. (C) Início da diferenciação do himênio (D) Crescimento do apotécio. (E) Apotécio completamente maduro. (F) Ejeção de ascósporos

Fonte: adaptado de SELVARAJ et al. (2015).

Dentro dos apotécios, formam-se os ascos que contêm os ascósporos, que são a principal fonte de inóculo de *S. sclerotiorum* (BOLAND; HALL, 1987). Cada apotécio produz centenas de ascos de forma cilíndrica, nos quais ocorre a recombinação sexual, produzindo os ascósporos perfeitamente alinhados. Nos ascos são produzidos oito ascósporos ou múltiplos de oito, que são ovoides e apresentam de 4 a 10 μm de largura e 9 a 16 μm de comprimento, hialinos e elipsoides (SCHWARTZ; STEADMAN, 1989).

Também, são formadas numerosas hias estéreis, denominadas de paráfises, que servem de estruturas de suporte. Segundo Chaves (1964), as paráfises são filiformes, com extremidade apical ligeiramente dilatada, de 0,8-1,2 μm de diâmetro, que se originam, apical ou lateralmente, sobre as hifas vegetativas. Dentro de cada asco, um vacúolo, que é responsável pelo aumento da pressão hidrostática, forma-se abaixo dos ascósporos e, à medida que a pressão hidrostática aumenta, o asco expande, porém a sua expansão lateral é limitada pela paráfise e

pelos ascos vizinhos. A expansão continua até que cada asco expanda relativamente além da paráfise e, em algum momento, a pressão excedente torne-se insuportável pela parede esticada, e os ascos explodam, liberando os ascósporos para o ambiente (VENETTE, 1998) (Figura 4).

Figura 4 - (I) Representação esquemática da estrutura do apotécio (A) de *Sclerotinia sclerotiorum*. No detalhe (B), ascas e ascósporos; (C) paráfises; (D) asco, contendo oito ascósporos. Adaptado de AGRIOS (1997). (II) Corte transversal de um apotécio alinhado com ascos maduros contendo ascósporos. Fonte: SELVARAJ et al. (2015). (III) Ascósporos de *S. sclerotiorum* visualizados em microscópio ótico

Fonte: Furlan (2015).

O apotécio pode liberar ascósporos continuamente por cinco a onze dias, com uma média de nove dias. A produção máxima de ascósporos ocorre num intervalo de dois a três dias entre o quarto e nono dia de vida ativa do apotécio. O total de ascósporos produzidos por um apotécio atinge ao redor de dois milhões (STEADMAN, 1983). Quando as condições ambientais são ideais, cerca de 1.600 ascósporos por hora são liberados (VENETTE, 1998). CLARKSON et al. (2006) observaram que a liberação de ascósporos ocorre tanto de dia quanto à noite e que a duração do período de liberação pode variar de 38 a 168 horas, declinando quando a umidade relativa do ar diminui e atinge 65 a 75% (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Os ascósporos são cobertos por uma substância mucilaginosa que, além de formar agregados de esporos, auxilia na sua adesão aos tecidos dos hospedeiros ou a outros obstáculos encontrados durante o seu percurso aéreo (CLARKSON et al., 2003).

Segundo Abawi e Grogan (1979), o teor de água no solo, a temperatura e a luz são considerados os fatores mais importantes para a germinação carpogênica. Em geral, escleródios recém-formados precisam passar por um período de condicionamento no solo, antes de serem capazes de germinar

carpogenicamente (ABAWI; GROGAN, 1979). No entanto isolados oriundos dos trópicos não requerem o período de dormência no processo de germinação carpogênica, indicando que a origem geográfica dos isolados é de fundamental importância nos estudos de *S. sclerotiorum* (BOLTON et al., 2006).

2.3 Ciclo de vida, epidemiologia e sintomatologia

O entendimento dos processos relacionados ao desenvolvimento de doenças de plantas está fortemente ligado ao conhecimento das características do patógeno, do hospedeiro e do ambiente. Sabe-se que cada um desses componentes exerce papel fundamental nas epidemias (VALE; JESUS JÚNIOR; ZAMBOLIM, 2004).

O desenvolvimento de doenças infecciosas é caracterizado pela ocorrência de uma série de eventos sucessivos e ordenados. Esses eventos incluem sobrevivência, disseminação, infecção, colonização e reprodução do patógeno. Trata-se de um processo cíclico, designado pelo ciclo das relações patógeno-hospedeiro (AMORIM, 1995). Segue abaixo a representação do ciclo de vida de *S. sclerotiorum* no feijoeiro (Figura 5).

Figura 5 - Ciclo da doença de *Sclerotinia sclerotiorum* no feijoeiro.
Fonte: Santos Marques (2014).

A primeira fase do ciclo das relações patógeno-hospedeiro é a sobrevivência do inóculo. Essa fase caracteriza-se por garantir a sobrevivência do agente patogênico em face de situações adversas, tais como ausência do hospedeiro e/ou condições climáticas desfavoráveis (AMORIM, 1995). *S. sclerotiorum* sobrevive a maior parte de seu ciclo em forma de estruturas de resistência, denominadas escleródios. Essa forma de sobrevivência proporciona longevidade e resistência ao patógeno e permiti-lhe alcançar um elevado potencial de inóculo em áreas infestadas (SCHWARTZ; STEADMAN, 1978).

Sementes de plantas cultivadas podem abrigar patógenos no seu interior ou carregá-los em sua superfície, contribuindo para sua sobrevivência (AMORIM, 1995). Tanto o tegumento como o cotilédone podem ser colonizados por *S. sclerotiorum*. O fungo atinge as vagens com sementes em formação causando a destruição da maioria, porém as colonizadas com pouco micélio, com o embrião viável, passam pela classificação sendo comercializadas (BOLAND; HALL, 1988).

Em áreas livres do patógeno, quando o inóculo não está presente no solo, uma epidemia pode ser iniciada por meio de sementes contaminadas internamente, ou por meio de escleródios associados ao lote de sementes (TU, 1988). Ainda que a taxa de transmissão por micélio dormente seja bastante baixa em um lote de sementes, a sua importância reside na possibilidade da introdução do inóculo em novas áreas de cultivo (HENNING, 2004). Ao considerar-se uma densidade média de 300 mil plantas.ha⁻¹ e a incidência do patógeno de 0,25%, estariam presentes, em um hectare, 750 sementes infectadas. Se cada semente infectada desse origem a um escleródio, seriam 750 escleródios em um hectare, dos quais seriam originados 15 mil apotécios e dispersados 30 bilhões de ascósporos. Ao supor que apenas 1% dos ascósporos liberados fosse capaz de causar infecção, ainda, seria possível darem-se 300 milhões de focos de infecção (CAMARGO, 2013), portanto a detecção de micélio dormente nas sementes é importante não somente na disseminação do fungo, mas, também, na epidemiologia da doença.

Quanto aos escleródios, esses podem ser disseminados por meio de máquinas e implementos agrícolas contaminados ou pela água da irrigação ou de chuvas. Animais alimentados por resíduos vegetais contendo escleródios não inativam o patógeno durante sua digestão, podendo, então, disseminá-los pelas fezes (KORA et al., 2003).

As doenças iniciadas pela germinação miceliogênica dos escleródios ocorrem em poucas culturas, como nos girassóis e em algumas leguminosas, nas quais o micélio pode infectar diretamente tecidos da raiz (LE TOURNEAU, 1979). Já na germinação carpogênica, os escleródios germinam e dão origem a apotécios. Um apotécio pode produzir mais de 2 milhões de novos ascósporos (STEADMAN, 1983). A maioria dos ascósporos é depositada no solo onde é produzida (WEGULO et al., 2000), embora os que se sobrepõem às plantas são facilmente disseminados pelo vento e podem infectar em um raio de 50 a 100m da fonte produtora (ABAWI; GROGAN, 1979). Quando depositados sobre as folhas, os ascósporos podem sobreviver por 12 a 14 dias, dependendo das condições ambientais (VENETTE, 1998).

Os ascósporos são depositados por impacto ou sedimentação sobre os tecidos suscetíveis. O principal sítio de infecção são as pétalas senescentes presas, geralmente sobre axilas. Os ascósporos podem germinar na superfície de tecidos saudáveis, mas não conseguem infectar a planta sem uma fonte de nutriente exógeno e um filme de água. Em condições de alta umidade, *S. sclerotiorum* pode invadir a planta hospedeira a partir de flores colonizadas num período de 12 a 24 horas. Na ausência de condições climáticas favoráveis, o micélio pode permanecer viável em flores colonizadas por até 144 horas, retomando o desenvolvimento quando as condições estiverem favoráveis (SAITO, 1977).

Isso faz com que a fase mais vulnerável na cultura do feijoeiro seja durante os estádios de florescimento e formação de vagens (VIEIRA, 1994; ALMEIDA et al., 2005), momento em que o patógeno encontra fonte exógena de energia para os ascósporos germinarem (VIEIRA, 1994). Nessa fase, o microclima é mais favorável ao patógeno devido ao maior índice de área foliar. Além disso, a maior cobertura foliar durante o fechamento da cultura permite que plantas doentes entrem em contato com plantas saudáveis, com isso, aumentando os focos da doença e/ou a sua disseminação radial (GARCIA, 2008).

A colonização ocorre associada à liberação de enzimas capazes de degradarem a parede celular das células hospedeiras. Acredita-se que a enorme variedade de celulasas, hemicelulasas e pectinases produzida por esse fungo seja um dos fatores que contribui para a sua falta de especificidade de hospedeiros (RIOU et al., 1991). O ácido oxálico produzido por *S. sclerotiorum* durante a infecção altera o funcionamento da célula-guarda, causando abertura do estômato e avanço

da invasão pela hifa (GUIMARÃES; STOTZ, 2004). A pectina é o principal constituinte da parede celular da planta e o fungo produz pectinases que cumpre a função de degradação desse componente. O enfraquecimento da parede celular pela hidrólise da pectina facilita a penetração e colonização da planta no instante que também providencia ao fungo a fonte de carbono necessária para dar origem ao seu crescimento. O patógeno produz várias formas de enzimas pectinolíticas capazes de matar células vegetais, deteriorando os tecidos, assim, indicando sua função na patogenicidade (ALMEIDA; SEIXAS, 2010).

Uma vez tendo a planta sido infectada, o fungo pode atacar folhas, pecíolos, internódios e, também, as plantas próximas mediante o contato com as doentes. Os sintomas do mofo branco são muito semelhantes nas diversas espécies agrícolas suscetíveis e iniciam-se na junção do pecíolo com a haste, onde as flores e folhas desprendidas ficam geralmente retidas, aproximadamente 10 a 15 cm acima do solo (TU, 1989).

Nas folhas, surgem, inicialmente, lesões encharcadas (anasarca) que têm seu tamanho aumentado, podendo tomar todo o órgão afetado, promover a perda da cor, tornando-as amareladas, posteriormente, marrons e culminar com a seca delas, que se tornam leves e quebradiças. Nas vagens e na haste principal, sob condições favoráveis, é possível verificar, primeiramente, manchas de coloração avermelhada a arroxeada, de consistência mole (podridão mole), que evoluem rapidamente recobertas por uma densa massa de micélio branco, de aspecto cotonoso. Em poucos dias, o micélio transforma-se em escleródio, facilmente visível, podendo ser formado tanto na superfície como no interior da haste e das vagens infectadas (ALMEIDA et al., 2005; PAULA JÚNIOR et al., 2006). Com a extensão da necrose, a planta pode perecer e transmitir a doença às plantas vizinhas. As sementes infectadas ficam sem brilho, enrugadas e com menor massa. Frutos, tubérculos e raízes tuberosas, também, são atacados e apodrecem, podendo desenvolver um mofo branco e escleródios na superfície (STEADMAN, 1983; ZAMBOLIM, 2004; LEITE, 2005; KIMATI et al., 2005; BOLTON et al., 2006).

O mofo branco é uma doença endêmica (HARIKRIHSNAN; DEL RIO, 2006), ou seja, está sempre presente em uma área de cultivo e caracteriza-se por não estar em expansão, apresentando balanço neutro entre os processos de infecção e remoção do tecido lesionado. Entretanto, de acordo com as condições climáticas, endemias de mofo branco podem dar início a epidemias, visto que

epidemias de mofo branco são desencadeadas principalmente pelas condições meteorológicas e pelo microclima gerado pelo dossel da planta (HARIKRIHSNAN; DEL RIO, 2006).

2.4 Manejo integrado

O controle de doenças em plantas requer a identificação de componentes-chave na interação planta-patógeno, gerados numa concepção biológica e aplicados para a redução de incidência ou severidade da doença (KIMATI; BERGAMIN FILHO, 1995). No caso de *S. sclerotiorum*, além do ciclo de vida e suas relações com o ambiente, a rota metabólica da formação de estruturas de sobrevivência envolvendo fatores nutricionais, variáveis climatológicas como umidade e temperatura podem servir como objeto de estudo.

O controle do mofo branco é considerado difícil devido à ausência de cultivares resistentes, à produção de estruturas de resistência, à sobrevivência do fungo no solo por vários anos na ausência de hospedeiros ou sob condições desfavoráveis, pela ampla gama de hospedeiros, pelo elevado número de ascósporos produzidos por apotécio e sua rápida e longa disseminação a partir da fonte produtora, pela sua sobrevivência em sementes sob a forma de micélio dormente ou escleródios aderidos a estas e também devido à dificuldade de se atingir os sítios de infecção por meio do controle químico (LEITE, 2005).

Dessa forma, o controle mais efetivo baseia-se em um programa integrado, o chamado manejo integrado de pragas. Segundo a National Academy of Science (NAS, 1969), o conceito do MIP seria a utilização de todas as técnicas disponíveis dentro de um programa unificado de tal modo a manter a população de organismos nocivos abaixo do limiar de dano econômico e minimizar os efeitos colaterais deletérios ao meio ambiente. Nele, está prevista a integração de medidas de manejo legislativo, cultural, genético, biológico, físico e químico (KREYCI; MENTEN, 2013). Destaca-se ainda que o MIP satisfaz as exigências técnicas de sustentabilidade da agricultura (REIS et al., 2011).

2.4.1 Controle cultural

O controle cultural envolve práticas que reduzem o potencial de inóculo e/ou a taxa de progresso da doença tendo como principal objetivo o efeito sobre a fase de sobrevivência do patógeno (REIS; FORCELINI, 1995).

É praticamente impossível erradicar o fungo das áreas infestadas, mas existem práticas culturais que podem auxiliar no manejo integrado do mofo branco, permitindo o cultivo com produtividade (GORGEN et al., 2010). Assim, na ausência do patógeno, devem-se adotar medidas de exclusão, como controle rigoroso da qualidade sanitária da semente, controle de movimentação de pessoas e equipamentos provenientes de áreas infestadas e inspeção no período reprodutivo da cultura, quando ocorre maior predisposição à doença. Os danos decorrentes da associação patógeno/semente resultam de reduções da emergência de plântulas e da produtividade, além de prejuízos a todo o sistema agrícola, com a disseminação do patógeno, ao tornar regiões impróprias para o cultivo de espécies vegetativas. Assim, o aspecto sanitário, a exigir o controle de patógenos transmissíveis pela semente, é relevante na produção agrícola, uma vez que não se refere somente ao dano causado às sementes, mas, também, à própria expressão econômica de cada doença (MENTEN, 1995).

Ao considerar que o mofo branco é uma doença monocíclica, ou seja, apenas o inóculo inicial é responsável pela quantidade de doença, o beneficiamento pode representar um grande passo para a redução deste inóculo e, conseqüentemente, da doença. O beneficiamento torna-se mais importante ainda, sabendo-se que essa não é uma doença tipicamente monocíclica, pois uma planta, após atacada, pode entrar em contato com plantas saudáveis e disseminar o patógeno a partir do contato planta a planta (NAPOLEÃO, 2001). Napoleão (2001), também, observou que o beneficiamento das sementes de feijão, além de eliminar muitos escleródios na pré-limpeza, diminuiu o número de sementes infectadas por *S. sclerotiorum*, pois estas, em geral, mais leves, foram separadas das sementes maiores e de melhor qualidade.

A rotação de culturas é o método mais empregado no controle cultural de muitas doenças. No entanto, para mofo branco, devido à versatilidade ecológica e sobrevivência de escleródios no solo por vários anos, nem todas as rotações são eficientes. Nesse caso, uma forma eficiente de rotação de culturas envolve a

promoção da alteração qualitativa na microflora do solo, dessa forma, favorecendo o crescimento e estabelecimento de micro-organismos antagônicos ao patógeno, induzindo níveis de supressividade à doença (COSTA; RAVA, 2003).

A arquitetura das plantas e o espaçamento entre as fileiras de plantio e entre as plantas nas fileiras podem afetar diretamente a ocorrência e a intensidade da doença. Plantas de hábito de crescimento determinado e dossel mais aberto desfavorecem a produção de apotécios em comparação com as cultivares mais enfolhadas e prostradas (STEADMAN, 1979). Diversos autores (HUANG; KEMP, 1989; CHARCHAR et al., 1991; PARK, 1993) salientam que a maior abertura do dossel das plantas e o maior espaçamento entre as plantas favorecem a circulação do ar e a penetração da luz, o que resulta em períodos menores de orvalho e, conseqüentemente, em menor predisposição à infecção.

A escolha da época de cultivo deve ser realizada de forma a evitar períodos chuvosos durante os estádios mais críticos da cultura, que ocorrem durante o florescimento e a formação de vagens, uma vez que esta é uma condição favorável ao desenvolvimento da doença. Da mesma forma, o controle da água de irrigação deve ser feito, principalmente nesses períodos de maior suscetibilidade das plantas (ESKER et al., 2011). O controle de *S. sclerotiorum* por meio da redução do nível de tensão de água no solo foi estudado por diversos autores (DUNIWAY et al., 1977; STEADMAN, 1983; HUNTER et al., 1984; FERRAZ et al., 1999). Estudo realizado por Ferraz (2001), com a aplicação de diferentes lâminas de água em área cultivada com feijoeiro, evidenciou o potencial do manejo da frequência de irrigação como estratégia de controle de mofo branco.

A intensidade do mofo branco é menor no plantio direto do que no plantio convencional. O plantio direto reduz a intensidade da doença ao impedir o contato da planta com o solo contaminado, além de dificultar que o estipe alcance a superfície e forme os apotécios, bem como dificulta a liberação de ascósporos. Ademais, a palhada acumula mais matéria orgânica e nutrientes, o que estimula a proliferação de antagonistas do patógeno. Estes, auxiliados pelas grandes oscilações de umidade e temperatura, diminuem a viabilidade dos escleródios (PAULA JÚNIOR et al., 2010).

2.4.2 Controle genético

O controle da doença pela resistência genética de plantas é o método mais desejável, principalmente, porque não aumenta os custos de produção e ajuda a diminuir a poluição ambiental. O controle genético do mofo branco é empregado por meio de genótipos com resistência parcial, uma vez que ainda não foram identificados genótipos completamente resistentes (GRAU, 1988).

Há dois mecanismos envolvidos na resistência ao mofo branco: a resistência fisiológica, acarretada pela resistência genética que inibe a infecção e colonização do patógeno nos tecidos da planta hospedeira; e aos mecanismos de “escape” da planta, que incluem caracteres morfológicos como a estrutura ereta da planta, dossel aberto e maturidade precoce (FULLER et al., 1984; SCHWARTZ et al., 1987). A dificuldade em se desenvolver linhagens resistentes a esse fitopatógeno deve-se ao fato de a resistência parcial ser quantitativa, com moderada à baixa herdabilidade, e à imprecisão na avaliação dessa reação de resistência com expressiva influência ambiental nos caracteres morfológicos, que confundem a expressão e detecção desse mecanismo (MIKLAS et al., 2004).

Há controvérsias sobre o nível de resistência de algumas linhagens (GONÇALVES; SANTOS, 2010). Alguns fatores, como método de avaliação utilizado, método de melhoramento utilizado, interação ambiental e diferença de agressividade dos isolados de *S. sclerotiorum*, são responsáveis pela baixa correlação das avaliações das linhagens quanto à resistência a esse fitopatógeno. Segundo Teran e Singh (2009), qualquer método de detecção da resistência fisiológica depende da idade da planta durante a avaliação, parte da planta inoculada, agressividade do patógeno, do tipo de inóculo e tempo entre a inoculação e a avaliação. Alta variação na agressividade de isolados, dentro e entre diferentes campos de coleta, podem influenciar na avaliação fenotípica de linhagens resistentes a esse patógeno (ABREU, 2011; OTTO-HANSON et al., 2011).

Com relação ao melhoramento genético do feijão, há escassez de informação acerca da resistência do germoplasma de feijão mesoamericano quanto ao mofo branco. A maioria das linhagens com alto nível de resistência a esse patógeno deriva do *pool* gênico andino (MIKLAS et al., 1999), que são exóticas e não adaptadas ao Brasil, que, embora com potencial de uso nos programas de

melhoramento, não apresentam possibilidade de utilização direta pelos produtores, sendo necessário o cruzamentos com as linhagens elites (CARNEIRO et al., 2011).

Em soja, girassol e amendoim geneticamente modificados, por exemplo, têm sido incorporadas enzimas de degradação de ácido oxálico e oxalato oxidase, apresentando resistência para *S. sclerotiorum*. Muito embora houvesse efeitos negativos na produtividade dessas culturas com a incorporação dessa enzima, esse é um dos caminhos promissores atualmente percorridos por pesquisadores da área (KESARWANI et al., 2000; DONALDSON et al., 2001; HU et al., 2003; LIVINGSTONE et al., 2005; BOLTON et al., 2006). Mutantes de *S. sclerotiorum*, incapazes de produzir ácido oxálico, não conseguiram produzir escleródios *in vitro*. Apesar de causarem lesões, não há o desenvolvimento da doença (GODOY et al., 1990; DICKMAN; MITRA, 1992).

2.4.3 Controle biológico

Cook e Baker (1983) conceituam controle biológico como redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, pelo uso de um ou mais organismos, realizado naturalmente ou a partir da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista ou, ainda, pela introdução em massa de um ou mais antagonistas.

O controle biológico tem sido considerado uma opção estratégica de controle para *S. sclerotiorum* (BOLTON et al., 2006). O tempo ideal para aplicar o controle biológico se dá no estágio de sobrevivência do fungo, ou seja, quando o escleródio se encontra em repouso na superfície do solo, com pouca mobilidade ou no estágio de germinação, durante o qual o patógeno está mais vulnerável ao ataque (TU, 1997).

Os mecanismos básicos de antagonismo dos agentes de biocontrole de fitopatógenos são: a) antibiose, através da secreção de metabólitos, voláteis ou não voláteis, que podem inibir ou impedir o desenvolvimento de outros organismos (BENÍTEZ et al., 2004; VELUSAMY et al., 2006); b) competição, geralmente os micro-organismos competem uns com os outros para obter fontes à base de carbono, nitrogênio, oxigênio, ferro e outros micronutrientes. Aqueles mais eficientes em usar os recursos disponíveis se multiplicam e colonizam rapidamente a rizosfera. (VINALE et. al., 2008); c) parasitismo, por meio do qual se estabelecem relações

nutricionais favoráveis à existência do micoparasita, que pode ser principalmente: necrotrófica – o micoparasita mata o hospedeiro pelo contato direto, absorvendo seu conteúdo celular como fonte de nutrição; biotrófica – o micoparasita obtém nutrientes das células (INBAR; CHET 1992; CASSIOLATO 1998); d) indução de resistência, quando a planta responde à agressão por patógenos por meio da produção de fitoalexinas, lignina adicional nas células e compostos fenólicos (HORSFALL; COWLING, 1980; BAILEY, 1985).

Mais de 30 espécies de fungos e bactérias foram relatadas como antagonistas ou agentes potenciais de controle biológico de *Sclerotinia* spp. Os gêneros de fungos mais frequentemente citados são *Gliocladium*, *Coniothyrium*, *Trichoderma* e *Paecilomyces*; com relação às bactérias, destaca-se os gêneros *Bacillus* e *Streptomyces* (BETTIOL et al., 2012).

As espécies de *Trichoderma* têm mostrado antagonismo à *Sclerotinia* spp. em condições de laboratório, casa de vegetação e campo. *Trichoderma* spp. é um habitante natural do solo encontrado em todos os ecossistemas (VAN DRIESCHE; BELLOWES, 1996). Imolehin e Grogan (1980) verificaram muitos isolados de *Trichoderma* spp. parasitando escleródios inviáveis de *S. minor* em campos de plantas de alface não infestadas. Lynch (1987) verificou que um isolado de *T. harzianum* apresentava grande atividade de biocontrole *in vitro* contra *S. sclerotiorum*, dependente de inóculo do antagonista e patógeno e também da temperatura. Mueller et al. (1985) observaram *T. viride* parasitando colônias de *S. sclerotiorum* em BDA, indicando ser esse micro-organismo um bom agente de controle biológico.

Na Europa, *Coniothyrium minitans* é usado no controle do mofo branco em diversas áreas, controlando até 78% da doença (FOKKEMA et al., 1992). Esse fungo é resistente à decomposição por luz, porém é altamente sensível a altas temperaturas (acima de 30°C). Portanto, ele pode ser eficaz em condições nas quais espécies de *Trichoderma* spp. não o sejam. A temperatura ótima para o seu desenvolvimento é de 20 a 22°C (DALLA PRIA; SILVA, 2010). Alguns produtos comerciais com esse antagonista são utilizados no controle de *S. sclerotiorum* em vários países, mas ainda não são encontrados no Brasil (DALLA PRIA; SILVA, 2010).

Na base de dados do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT, 2016), observou-se o registro de seis produtos biológicos, dois à base do

fungo *Trichoderma asperellum* (Quality e Trichodermax EC) e três à base de *Trichoderma harzianum* (Ecotrich WP, Predatox, Trichodermil SC 1306), além de um bactericida à base de *Bacillus subtilis* (Serenade) (Anexo D). Apesar de vários projetos e pesquisas no Brasil enfatizarem o controle desse patógeno com uso de produtos biológicos, o registro de produtos biológicos ainda é incipiente, dificultando a adoção dessa prática em larga escala.

2.4.4 Controle químico

O controle químico de doenças de plantas é uma das medidas mais empregadas na agricultura por poder prevenir infecções de patógenos que podem se instalar ou controlar infecções já instaladas nos tecidos da planta hospedeira (ZAMBOLIM et al., 2007). As doenças causadas por fungos formadores de escleródios apresentam grande dificuldade de controle com aplicação de fungicidas, e o custo de aplicação, geralmente, faz com que seu uso seja inviável. Alguns fungicidas considerados eficientes em condições de laboratório e casa de vegetação, quando empregados no campo, podem não apresentar a mesma eficiência, tendo como prováveis causas o contato inadequado do fungicida com os escleródios e necessidade de elevadas dosagens para inviabilizá-los (COLEY-SMITH; COOK, 1971).

O controle químico do mofo branco tem apresentado diferentes níveis 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 da cultura (NATTI, 1971) e incidência e severidade da doença (COYNE et al., 1974).

Segundo Mueller et al. (2002), mesmo com essas dificuldades, a aplicação de fungicidas pode auxiliar no gerenciamento das táticas de controle, reduzindo significativamente o número de escleródios viáveis e podendo ser introduzida como medida preventiva, por meio de tratamento de sementes e aplicação durante o período vegetativo ou reprodutivo. Essa flexibilidade em função das épocas de aplicação pode beneficiar na redução da incidência da doença.

Oliveira (1998) verificou que fluazinam, procimidona e vinclozolim apresentaram controle satisfatório quando aplicados, preventiva ou curativamente,

sobre o mofo branco do feijoeiro. A combinação dos fungicidas fludioxonil + cimoxanil, e iprodione (usado isoladamente) apresentou resultados semelhantes na redução da doença.

Mueller et al. (2004), nos anos de 1998, 1999 e 2000, trabalhando em 12 ambientes, com diferentes cultivares de soja nos estados de Illinois, Ohio e Wisconsin, comprovaram que o tiofanato metílico não apresentou significativos níveis de controle de *S. sclerotiorum*, apenas maiores produtividades de grãos em alguns casos. Em anos com índice superior a 10% de mofo branco, as parcelas tratadas em R1 e R3 (1,12 kg.ha⁻¹ de i.a. por aplicação) apresentaram menores produtividades de grãos.

Miranda e Lobo Júnior (2005) avaliaram o controle preventivo e curativo do mofo branco em feijoeiro com fungicidas fluazinam e procimidona, isoladamente ou combinados em diferentes dosagens. Verificaram, então, que todas as combinações entre fluazinam e procimidona e procimidona isolado, na dose de 1,0 kg.ha⁻¹, foram equivalentes em termos de prevenção do mofo branco, com excelente controle da doença.

Secco et al. (2007) avaliaram os fungicidas tiofanato metílico (300 e 500 g.ha⁻¹) e fluazinam (250 g.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 (500g.ha⁻¹) em três aplicações.

Em um ensaio cooperativo em 11 localidades, coordenado pela Embrapa Soja, nas safras de 2009 a 2012, verificou-se maior eficiência de controle do mofo branco na cultura de soja com os fungicidas fluazinam e procimidona, pulverizados isoladamente ou em associação com tiofanato metílico ou carbendazim, variando de duas a quatro pulverizações em intervalos de 10 dias, iniciando no estágio R1 de desenvolvimento das plantas (início do florescimento). Os autores colocaram que existe ainda a expectativa de que a nova geração dos fungicidas, pertencentes ao grupo das carboxamidas, ofereça novas opções para o controle da doença (MEYER et al., 2015).

Estão disponíveis no Brasil 31 produtos comerciais para o controle químico do mofo branco, sendo 23 indicados para pulverização foliar. Os ingredientes ativos são fluazinam, carbendazim, boscalida, tiofanato metílico, iprodione, procimidona, ciprodinil, cloreto de benzalcônio, e as misturas clorotalonil +

tiofanato metílico, mancozebe + tiofanato metílico, boscalida + dimoxistrobin (Anexo A). Os fungicidas do grupo químico benzimidazol, tais como o tiofanato metílico e carbendazim, têm sido amplamente utilizados em algumas regiões do mundo para aplicações foliares em plantas de soja e feijoeiro, principalmente na China, para o controle do mofo branco, por mais de 20 anos (PAN; WANG; WU, 1997).

O uso contínuo e sistemático de fungicidas com um mecanismo de ação específico pode levar à seleção de populações de fungos resistentes. Das ferramentas disponíveis para se prevenir o processo de resistência dos fungos aos fungicidas, é possível citar algumas estratégias, como aplicar sempre as doses recomendadas pelo fabricante, não fazer o uso contínuo do mesmo produto, limitar o número de aplicações e rotacionar a aplicação de fungicidas de diferentes mecanismos de ação disponíveis (KREYCI; MENTEN, 2013).

O desenvolvimento de resistência ao fungicida benomil por isolado de *Sclerotinia* spp. nas culturas de alface e amendoim foi relatado por Mueller, Derksen e Ozkan (2002). Testes realizados com 91 isolados de *S. sclerotiorum* indicaram potencial para resistência a tiofanato metílico (MUELLER; DERKSON; OKZAN, 2002). Redução da eficácia de benzimidazóis no controle do mofo branco tem sido observada em muitos campos de cultivo e isso tem sido atribuído ao surgimento de novas populações de *S. sclerotiorum* com resistência a esses produtos (LI; ZHOU, 2004).

2.4.4.1 Tratamento de sementes

O uso de sementes tratadas com fungicidas sintéticos e agentes de biocontrole ocasiona redução da disseminação de patógenos para áreas indenidas e reduz a transmissão de doenças no campo, contribuindo para maior densidade de plantas (CARVALHO et al., 2011). Seu efeito de erradicação de patógenos e de proteção contra doenças nas fases de pré e pós-emergência possibilita economia no estabelecimento da lavoura. O tratamento de sementes com fungicidas é uma tecnologia de baixo custo, representando apenas 0,1 a 0,5% do custo total de produção; além disso, oferece pouco risco ambiental e, em geral, apresenta efeito significativo na produtividade (MENTEN et al., 2005).

O tratamento de sementes com fungicidas é uma prática que vem sendo utilizada por um número cada vez maior de sojicultores. De acordo com

Henning et al. (2010), o volume de sementes tratadas com fungicidas, que na safra 1991/92 não atingia 5% da área semeada, em menos de 10 anos, aumentou para 90-95% da área semeada com soja, no Brasil.

Mueller, Hartman e Pedersen (1999) avaliaram o crescimento micelial a partir de sementes tratadas quimicamente e verificaram que os fungicidas fludioxonil, captana + PCNB + tiabendazol, carboxina + tiram e tiabendazol + tiram inibiram completamente o crescimento micelial, enquanto que os tratamentos tiabendazol, tiram e tiabendazol + tiram reduziram em 90%. Os mesmos autores constataram redução superior a 98% na formação de escleródios a partir de sementes tratadas com fludioxonil, tiram e captana + PCNB + tiabendazol.

Rashid e Swanson (2008), comparando os ingredientes ativos tiofanato metílico, vinclozolin, azoxistrobina e fludioxonil, observaram redução da incidência da infecção inicial por *S. sclerotiorum*, evitando perdas no rendimento na proporção de 60 e 84% na cultura do girassol.

Estão registrados dois produtos comerciais para o tratamento de sementes, ambos são misturas (Anexo C). Um deles é fórmulado com fluzinam + tiofanato metílico (Certeza) e está registrado para feijão e soja. O outro é fórmulado com fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol (Maxin Advanced) e está registrado apenas para soja (AGROFIT, 2016). Diante da importância da semente como fonte de inóculo do mofo branco, pesquisas com relação à eficiência de outras moléculas para o tratamento de sementes e o registro desses produtos para o uso comercial são de extrema necessidade (CAMARGO, 2013).

2.4.4.2 Fungigação

A técnica de aplicação de fungicidas via água de irrigação (fungigação) pode ser uma opção eficiente no controle do mofo branco por proporcionar boa cobertura e uniformidade da distribuição (FORSTER, 1983). Além disso, Pinto e Costa (1986) destacaram que a utilização da fungigação apresenta como vantagens a economia de mão de obra; pouco contato do aplicador com os produtos; menor dano físico às plantas pela redução do trânsito de máquinas; maximização dos equipamentos de irrigação, com menor custo de produção.

Kimura et al. (1996), testando a eficiência dos fungicidas procimidone e tiofanato metílico no controle do mofo branco na cultura da ervilha, observou que o

melhor controle foi obtido com o fungicida procimidona, na dose de 1,0kg do i.a ha⁻¹, aplicado via fungigação, seguido pelo mesmo fungicida aplicado via pulverização.

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

Oliveira (1998), estudando o controle químico de *S. sclerotiorum* em feijoeiro, sob sistema de irrigação pivô central, verificou que o uso dos fungicidas fluazinam, procimidona, vinclozolin, benomil, carbendazim e iprodione, nas fases de pré-florescimento e florescimento, resultaram em ganhos de produtividade ao feijoeiro.

Vieira et al. (2001), estudando a aplicação de quatro fungicidas via água de irrigação no controle do mofo branco do feijoeiro, verificaram que o benomil e procimidona foram os mais eficientes no controle da doença, e apenas procimidona não proporcionou rendimento maior que o da testemunha. Porém, a incidência de *S. sclerotiorum* nas sementes foi a menor verificada, sendo 0,25% com o uso de procimidona.

De acordo com Venegas (2006), os melhores resultados de controle do mofo branco, expressos pelo menor número de apotécios por metro quadrado e menor peso dos escleródios residuais na colheita, foram obtidos com a técnica da fungigação. Não houve diferenças significativas entre as diferentes técnicas de aplicação estudadas com relação à produtividade, ao peso de 200 grãos, número de vagens por plantas e estande final. O fungicida procimidona foi eficaz no controle do mofo branco em ambas as técnicas de aplicação.

Apesar dos resultados promissores de outros ingredientes ativos, no Brasil, somente fluazinam e procimidona podem ser recomendados, pois são os únicos registrados para fungigação. Sete produtos comerciais estão registrados para fungigação, sendo seis à base de fluazinam e um à base de procimidona (Anexo B) (AGROFIT, 2016).

2.4.4.3 Herbicidas

Casale e Hart (1986) verificaram que metribuzin e diuron inibiram o crescimento micelial de *S. sclerotiorum in vitro* e reduziram a produção de estipes, quando aplicados no solo. Os autores verificaram ainda que atrazina e simazina não afetaram a produção de estipes, porém os apotécios não se desenvolveram ou não produziram ascósporos. Portanto, em teoria, o uso desses herbicidas em pré-semeadura ou pré-emergência da cultura pode inviabilizar parte do inóculo presente na área na forma de apotécios.

Fernandes et al. (1994) avaliaram vários herbicidas e fungicidas testados *in vitro*, e o EPTC (S-etil-dipropiltiocarbamato) foi capaz de inibir a germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios, quando estes foram imersos em suspensão dos produtos por 30 segundos.

O uso de lactofen em soja induz a síntese e o acúmulo de gliceolina (fitoalexina), assim, protegendo a cultura contra mofo branco, muito embora ocorram reduções de produtividade devido a injúrias foliares causadas pela aplicação, na ordem de 2,5 a 9,8%. Nos Estados Unidos, o rótulo do herbicida indica que o ele pode ser usado no controle de mofo branco (DANN et al., 1999).

O glifosato é um dos produtos que, quando utilizado em subdoses, aumenta a severidade da doença devido à inibição da rota da síntese de fitoalexinas. Após a introdução de plantas transgênicas resistentes a glifosato, observou-se uma maior ocorrência de *S. sclerotiorum* nos Estados Unidos (LEE et al., 2000).

3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE COLÔNIA EM CULTURA PURA E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *S. SCLEROTIORUM*

3.1 Introdução

Sclerotinia sclerotiorum é considerado um patógeno de importância mundial, por ocorrer em diferentes regiões geográficas, e também por ser um fungo de natureza polífaga, tendo mais de 400 espécies hospedeiras pertencentes a mais 200 gêneros botânicos. Entre as mais importantes culturas atacadas pelo fungo estão o feijão, soja, algodão, girassol, tomate e batata (DEMANT, 2010).

O mofo branco é considerado uma doença de difícil controle devido à capacidade do patógeno de produzir elevado número de ascósporos e, principalmente, pela produção abundante de escleródios, os quais possibilitam a sobrevivência do fungo por mais de 10 anos no solo (REIS e TOMAZINI, 2005).

A adoção de estratégias sustentáveis de manejo de doenças é claramente dependente da compreensão do patógeno, representado por sua etiologia, morfologia, patogenicidade e da sua dinâmica populacional (COOK; LEES, 2004), pois estes fatores podem prever como as populações irão desenvolver respostas a diferentes estratégias de controle (ALFONSO et al., 2000).

A maioria dos estudos de populações relata que a reprodução de *S. sclerotiorum* é clonal, no entanto, recombinação ocasional, mudanças genéticas e mutação podem ocorrer (CARBONE; ANDERSON; KOHN, 1999).

Informações relativas à biologia de populações de *S. sclerotiorum* são ainda emergentes e a maioria provém da América do Norte e da Austrália (MERT-TURK et al., 2007). Nesses estudos de populações, alguns marcadores são utilizados a fim de revelar a variabilidade existente. Dentre eles, destacam-se os grupos de compatibilidade micelial e os microsatélites (KOHN et al., 2008), além de características da morfologia da colônia, taxa de crescimento micelial e características dos escleródios formados.

Há vários estudos sobre a caracterização morfológica dos isolados de *S. sclerotiorum*. Dickson (1930) estudou 33 isolados e encontrou diferença entre a densidade do micélio, que variou de ralos a aéreos, além de diferenças na taxa de crescimento. Purdy (1955) utilizou características de micélio e escleródios para diferenciar seus isolados, em três tipos culturais. A cor do micélio variou de branco

ao castanho e o crescimento micelial foi descrito como superficial ao meio ágar ou aéreo, com ou sem áreas nas quais pequenos tufo de hifas se desenvolveram. Os escleródios foram classificados, de acordo com sua forma em lenticular, esférico, irregular a elíptico e achatado.

Em estudo com 114 isolados de *S. sclerotiorum* de 23 hospedeiros, coletados em Saskatchewan, no Canadá, Morral et al. (1972) verificaram variações na cor das colônias, que variou de branco ao marrom, sendo a maioria branca, e entre a taxa de crescimento e abundância do micélio. Além disso, uma grande variação em número, forma, tamanho e textura dos escleródios.

Corradini (1989), em estudo com 19 isolados distintos, provenientes da Região do Alto Paranaíba – MG avaliou “in vitro” o crescimento e diâmetro da colônia, tipo e cor de micélio, produção, peso e distribuição de escleródios e produção de apotécios, e verificou acentuada variabilidade em todos os isolados em estudo.

Tores (1990) estudou a variabilidade “in vitro” da taxa do crescimento micelial, além de tamanho e número de escleródios formados por isolados de *S. sclerotiorum* coletados em feijão, berinjela e tomate. Houve diferença entre a taxa de crescimento e formação de escleródios. No entanto, nenhuma correlação foi encontrada entre o tamanho e número de escleródios e a taxa de crescimento.

A variabilidade entre 16 isolados de *S. sclerotiorum* associados com a podridão de colo do grão de bico, coletados em diferentes localidades do Paquistão foram avaliadas por Akram et al. (2008). Os isolados variaram na morfologia da colônia, na taxa de crescimento micelial, além de formação, tamanho e cor dos escleródios.

Em estudo com 50 isolados de *S. sclerotiorum*, Abreu (2011) avaliou a variabilidade existente entre características da morfologia da colônia, taxa de crescimento micelial, e características dos escleródios formados. E concluiu que a população estudada apresentou ampla variabilidade para as características fisiológicas e morfológicas avaliadas, mesmo entre isolados de uma área restrita de coleta.

Grabicoski (2012) desenvolveu estudo com 57 isolados onde foi avaliado o tempo necessário para o fungo ocupar a placa, a densidade do micélio formado, o tempo para a formação do primeiro escleródio, a quantidade, tamanho, forma e peso dos escleródios. Algumas diferenças morfológicas foram detectadas

entre os isolados. Dois níveis de velocidade de crescimento micelial e de formação de escleródios “in vitro”; quatro níveis quanto à quantidade de escleródios formados e onze níveis quanto ao peso dos escleródios formados foram verificados.

Para avaliação de agressividade dos isolados, existem diversas formas de mensurar: eficiência de infecção, período latente, taxa de produção de esporos e tamanho da lesão (PARIUAD et al, 2009). Kull et al (2004) identificaram diferença na agressividade de isolados em campo de soja em Illinois e destacaram a importância de se examinar a agressividade dentro de campos naturalmente infectados para explicar os resultados controversos obtidos durante as avaliações de linhagens/ cultivares resistentes.

Otto-Hanson et al. (2011) testaram 156 isolados, sendo 138 provenientes dos EUA e 18 da França. Foram avaliados a agressividade dos isolados, além da compatibilidade micelial (MCG). Foram encontradas diferenças significativas na agressividade dos isolados entre alguns MCG, no entanto, isolados que apresentaram compatibilidade micelial não diferiram na agressividade.

Em trabalho para triagem de linhagens de feijoeiro resistente ao mofo branco, na Espanha, quatro isolados de *S. sclerotiorum* foram avaliados quanto à agressividade e diferenças significativas foram encontradas (PASCUAL et al., 2010).

No Brasil, Lehner et al. (2015) compararam a agressividade de 20 isolados *S. sclerotiorum* e determinaram a relação entre agressividade e a variabilidade genética dos isolados. Os níveis de agressividade foram semelhantes entre os isolados coletados em quatro estados brasileiros. Não foi encontrada relação entre a agressividade e as características morfológicas, de pigmentação micelial, taxa de crescimento e produção de escleródios.

Segundo Pratt (1991), varias formas de inóculo podem ser usadas para iniciar a infecção de *S. sclerotiorum* em plantas. A escolha de uma forma de inóculo e método de inoculação irá depender 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 colônia e micélio de colônias liquidas. Ascósporos e escleródios também podem ser usados como inóculo em casa de vegetação e campo.

O inóculo geralmente é aplicado em folhagens, 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 (PRATT, 1991).

O ensaio de folhas destacadas foi utilizado para inocular alfafa, por Pratt e Rowe (1998) e em folhas de soja, por Chun et al. (1987); Kim et al. (2000), Kull et al. (2003), Garcia (2008), entre outros. O método apresenta a vantagem de permitir a avaliação de muitos genótipos rapidamente.

Lehner et al. (2015) compararam o método da folha destacada e o teste da ponteira na avaliação da agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* provenientes de plantas de feijão, e concluíram que a agressividade não se alterou com o método de inoculação. Wegulo et al. (1998) avaliaram vários métodos de inoculação em casa de vegetação utilizando plantas de soja, incluindo inoculação de micélio em folhagem, na haste e em folhas destacadas, entre outros. Concluíram que o método de inoculação de micélio em folha destacada apresentou a maior correlação entre ambiente controlada e campo, com coeficiente de 0,55 ($P < 0,05$).

Segundo Grabicoski (2012), o método de inoculação dos isolados em trifólio apresentou maior diferença significativa entre os isolados e menor variabilidade entre as repetições, sendo, portanto, superior ao método de inoculação na haste.

Diante do exposto, torna-se necessária a realização de estudos para a caracterização morfológica e de agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* obtidos de campos experimentais e de produção no Brasil. Estas informações poderão auxiliar nos programas de manejo do mofo branco.

3.2 Materiais e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética Molecular de Aves, do Departamento de Genética, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, em Piracicaba, SP.

3.2.1 Obtenção dos Isolados

Escleródios de *S. sclerotiorum* foram retirados de plantas e do solo de regiões brasileiras infestadas pelo patógeno; armazenadas e enviadas em sacos de papel em temperatura ambiente, por diversos colaboradores. Sempre que possível, características dos locais de coleta (tipo de vegetação, tipo de solo, temperatura

média), assim como informações sobre o manejo da cultura (cultivar, agrotóxicos, irrigação) foram registrados (Anexo E).

Foram analisados 150 isolados de *S. sclerotiorum* provenientes de seis estados, além do Distrito Federal, sendo eles: Bahia, Goiás, Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Nos mapas apresentados abaixo (Figura 6 e 7), pode-se verificar a quantidade de isolados provenientes de cada estado, além das cidades onde os mesmos foram coletados.

Figura 6 - Demarcação dos estados de origem dos isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* e número de isolados coletados em cada região

Figura 7 - Demarcação das cidades onde foram coletados os isolados de *S. sclerotiorum*

A maior parte dos isolados foi coletada em cultivos de soja e feijão, porém, fizeram parte do estudo, isolados coletados em cultivos de cenoura, couve, girassol e nabo (Gráfico 1). Em relação às safras, os isolados foram coletados entre os anos de 2000 a 2014, sendo a maioria de 2013 (Gráfico 2). Segundo Nasser (comunicação pessoal), a ocorrência de mofo branco nas safras de inverno 2014/2015, e safras de verão 2015/2016, em lavouras de feijão e soja, foram próximas de traços, ou seja, insignificante comparado com os anos anteriores.

Gráfico 1 - Representação gráfica das culturas de origem dos isolados de *S. sclerotiorum*

Gráfico 2 - Representação gráfica das safras em que foram coletados os isolados de *S. sclerotiorum*

Os escleródios foram previamente desinfestados em álcool 70% e água sanitária a 0,5% diluída em água destilada e esterilizada (ADE), nos tempos de 30 e 60 segundos, respectivamente. Posteriormente, foram enxaguados em ADE e transferidos para placas de Petri de 9 cm, contendo meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) (Anexo F).

As placas foram colocadas em câmara de incubação na temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, durante 6 dias. Para assegurar a manutenção da identidade genética de cada isolado, após a germinação dos escleródios e formação da colônia, segmentos únicos de extremidades de hifas foram transferidos assepticamente para novas placas com BDA.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada placa uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no programa SAS M-Agri e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

3.2.2 Desenvolvimento e morfologia de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* em cultura pura

Para caracterização dos isolados de *S. sclerotiorum* foram estabelecidos como parâmetros o desenvolvimento e aspecto morfológico do fungo em cultura pura no meio BDA.

A instalação do ensaio foi realizada com discos de micélio (5mm de diâmetro) oriundos de colônias de 3 dias de idade, obtidas conforme descrito no item 3.2.1, que foram colocados face micelial para baixo, no centro de placas de Petri de

9 cm de diâmetro sobre 20 ml de meio BDA. As placas foram incubadas no escuro, à temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.1 Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM)

Para determinação da velocidade de crescimento micelial (IVCM), os diâmetros das colônias (mm) foram medidos com intervalos de 12 horas, tomando-se dois diâmetros em posições ortogonais entre si na face inferior das placas. O IVCM foi calculado, utilizando-se a fórmula adaptada de OLIVEIRA (1991):

$$IVCM = \frac{\sum(D - Da)}{N}$$

Sendo:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

3.2.2.2 Caracterização micelial das colônias

Após 30 dias de crescimento dos isolados em meio BDA, foi realizada a caracterização micelial das colônias, pela cor, tipo e posição do micélio em relação ao substrato.

A coloração das colônias foi classificada em três categorias, branca, bege e de marrom a preta (ABREU, 2011).

O tipo de micélio foi baseado nos aspectos de densidade e homogeneidade das hifas. Seguiu-se a classificação sugerida por Grabicoski (2012), que classificou os isolados:

- **Ralo:** quando apenas uma fina e homogênea camada se desenvolveu sobre o meio de cultura;
- **Abundante:** quando uma espessa e uniforme camada de micélio se formou sobre o meio;

- **Irregular:** quando não houve um padrão de formação do micélio sobre o meio ou entre as placas do mesmo isolado.

3.2.2.3 Características dos escleródios produzidos

Os escleródios foram caracterizados segundo o tempo de formação do primeiro escleródio, o peso total e individual dos escleródios e a sua forma.

O tempo necessário para a formação do primeiro escleródio na placa foi avaliado em intervalos de 12 horas, considerando como escleródio formado, o que atingiu o terceiro estágio de gênese, conforme Townsend e Willetts (1954).

Nessa mesma época fez-se a contagem do número dos escleródios, sendo estes coletados e acondicionados em envelopes de papel para a avaliação de peso. Os escleródios coletados foram secos à temperatura ambiente por 48 horas e pesados em balança de precisão ($e=0,01$).

Foram ainda classificados quanto à forma em arredondados, irregulares e alongados e diversos, quando os dois tipos ocorriam na mesma placa.

A distribuição de escleródios na colônia foi avaliada e classificada em ausentes, dispersos na colônia, regular próximo à margem, em círculos concêntricos e no centro.

3.2.3 Agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* em trifólios de soja e feijão

Após a caracterização morfológica, a agressividade dos isolados foi caracterizada, por meio da inoculação em folhas destacadas de plantas de feijão (cultivar Pérola/ Carioca) e soja (cultivar BMX Titan RR), ambas suscetíveis ao mofo branco.

Os experimentos foram conduzidos nas estufas do Departamento de Genética e no Laboratório de Genética Molecular de Aves. As plantas utilizadas foram cultivadas em caixas plásticas de 43 x 30 x 11cm, contendo solo esterilizado, composto de cascas de eucalipto, pinus e cinzas (Lupa fertilizantes®).

Os trifólios utilizados foram destacados das plantas com auxílio de uma tesoura, quando se encontravam no estágio fenológico V2 (Anexo G e H), segundo metodologia de FEHR; CAVINESS (1977) e, então, colocados em placas de Petri

esterilizadas contendo duas folhas de papel de filtro saturadas com água destilada esterilizada.

A instalação do ensaio foi realizada com discos de micélio (5mm de diâmetro) oriundos de colônias de 3 dias de idade, obtidas conforme descrito no item 3.2.1, que foram colocados com a face micelial voltada para baixo, sobre o centro de cada um dos três trifólios de soja e feijão. Após a inoculação, as placas foram mantidas a $20 \pm 2^\circ \text{C}$, no escuro. O diâmetro das lesões foi avaliado, a partir de 24 h após a inoculação, em intervalos de 12 horas, até completar 60 horas.

Com os valores do diâmetro das lesões em cada avaliação calcularam-se, para cada isolado, os valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) através do programa AVACPD versão 1.1, desenvolvido por Torres e Ventura (1991), através da equação citada por Shaner e Finney (1977):

$$AACPD = \sum_{i=1}^n \left[\frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} \right] * [(T_{i+1} - T_i)]$$

Onde:

n – é o número de observações.

Y_i – é a severidade da doença na “i”-ésima observação;

T_i – é o tempo em dias na “i”-ésima observação;

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no programa SAS M-Agri e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

3.3 Discussão de Resultados

3.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)

Para caracterização dos isolados quanto à velocidade de crescimento micelial, foram analisados quatro intervalos, sendo eles de 0-12, 12-24, 24-36 e 36-48 horas de incubação. Os isolados com maior crescimento micelial se aproximaram da borda da placa de Petri passadas 48 horas, não sendo possível realizar avaliações posteriores.

No primeiro intervalo compreendido entre o momento de inoculação e às 12 horas seguintes, o isolado com menor crescimento micelial apresentou média de 0,111 mm/h (SS48 - soja, Passo Fundo/RS, 2011) e o isolado com maior índice apresentou média de 1,139 mm/h (SS139 - feijão, Canaã/ MG, 2013). Em relação ao segundo intervalo (12-24 horas) o índice de velocidade de crescimento micelial variou de 0,556 mm/h (SS34 - soja, Correntina/BA, 2010) a 1,792 mm/h (SS149 - soja, Castro/PR, 2014). Para o intervalo de 24-36 horas, o IVCM variou de 0,597 mm/h (SS79 - feijão, Paracatú/MG, 2013) a 2,333 mm/h (SS40 - feijão, Viçosa/MG, 2010). E no intervalo final, a variação foi de 0,127 mm/h (SS15 - soja, Uberlândia/MG, 2009) a 2,111 (SS136 - feijão, Cerquillo/SP - 2013).

A maioria dos isolados apresentou maior incremento no diâmetro da colônia nos intervalos compreendidos entre 24-36 e 36-48 horas. Nenhum isolado teve maior incremento nas primeiras doze horas. No intervalo de 12-24 horas, 16 isolados (10,67%) apresentaram maior desenvolvimento, seguido de 70 isolados (46,67%) no intervalo 24-36 horas e os demais 64 isolados (42,66%) no intervalo entre 36-48.

Corradini (1989), avaliando 19 isolados de *S. sclerotiorum*, observou que 14 isolados apresentaram o maior incremento no diâmetro micelial no período compreendido entre 48-60 horas. E que as colônias atingiram o diâmetro máximo da placa no final de 120 horas de incubação, sendo, portanto, isolados de crescimento mais lento do que o observado nesse trabalho.

A análise da variância dos dados médios do IVCM dos 150 isolados de *S. sclerotiorum* demonstrou que houve diferença estatística entre eles (Tabela 1). O teste de médias de Scott Knott ($P < 0,5$) separou os isolados em nove grupos distintos de acordo com a sua velocidade de crescimento micelial, e apresentou coeficiente de variação de 4,98%. O isolado mais lento (SS79 - Feijão, Paracatú/MG, 2013) apresentou média de crescimento de 0,594 mm/h, o que equivale a 14,25 mm/dia, e o isolado com maior IVCM (SS59 - Feijão, Portofirme/MG, 2012) apresentou média de crescimento de 1,625 mm/h ou 31,167 mm/dia.

Tabela 1 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a velocidade de crescimento micelial, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	IVCM (mm/h)	Nº isolados	% isolados
A	1,625 -1,538	5	3,33
B	1,517 - 1,445	10	6,67
C	1,403 - 1,257	18	12,00
D	1,226 - 1,101	53	35,33
E	1,097 – 0,983	43	28,67
F	0,962 - 0,906	7	4,67
G	0,878 - 0,892	10	6,67
H	0,771 - 0,726	2	1,33
I	0,642 - 0,594	2	1,33

Os índices de velocidade de crescimento micelial encontrados nos 150 isolados analisados foram semelhantes aos encontrados por Abreu (2011), onde os dois isolados mais lentos UFLA 20 e UFLA 23 apresentaram média de crescimento de 14,75 mm/dia. E o ICVM mais elevado variou de 23,83 a 30,17 mm/dia.

Com os dados do IVCM médio foi possível calcular o tempo, em dias, necessário para o fungo ocupar a totalidade da placa de Petri, permitindo a comparação com isolados avaliados por outros autores. O tempo necessário para ocupar a totalidade da placa variou de 2,3 dias (SS59 - Feijão, Portofirme/MG, 2012) a 6,3 dias (SS79 - Feijão, Paracatú/MG, 2013). A maioria dos isolados, 88% demorou até quatro dias para ocupar totalmente a placa.

Grabicoski (2012), avaliando 57 isolados, afirmou que os isolados levaram de 7,6 a 11,2 dias para ocuparem toda a placa de Petri, tendo, portanto, crescimento mais lento que os isolados avaliados no presente experimento. De forma semelhante, Akram et al. (2008), avaliando 16 isolados encontrados em grão de bico, demonstraram que houve variação no crescimento radial dos isolados, avaliados após 5 dias de incubação, os quais foram classificados em três grupos: crescimento rápido, quando o diâmetro da colônia ficou entre 84 e 90 mm, intermediário, entre 54,6 a 44,4 mm e lento, quando menor que 32,8 mm. De acordo com a classificação mencionada acima, nenhum isolado do presente estudo seria classificado como lento, e apenas três, SS34 (Soja, Correntina/BA, 2010), SS119

(Feijão, Planaltina/GO, 2013) e SS79 (Feijão, Paracatú/MG, 2013) seriam classificados com intermediários. Os demais isolados seriam considerados de crescimento rápido.

3.3.2 Caracterização micelial das colônias

Após 30 dias de incubação, os isolados foram caracterizados quanto à coloração predominante da colônia desenvolvida sobre meio BDA. Observaram-se três categorias distintas: branca, bege e de marrom a preta (Figura 8). Dos 150 isolados de *S. sclerotiorum* avaliados, 62% (93 isolados) apresentaram coloração predominantemente branca da colônia, 27,3% (41 isolados) coloração bege, e o restante, 10,7% (16 isolados) coloração variando de marrom a preto.

Em trabalhos anteriores relatados por Kohn (1979), Purdy (1955), Corradini (1989) e Grabicoski (2012), houve predominância de micélio branco entre os isolados de *S. sclerotiorum* cultivados em meio BDA.

Segundo Abreu (2011), a maioria dos isolados apresentou coloração predominantemente bege (58%), seguidos da coloração branca (22%), e o restante (20%) com coloração de marrom a preto. Merk-Turk et al. (2007), avaliando isolados encontrados em colza, também encontraram maioria de colônias predominantemente bege. Esses autores afirmam que a variação na coloração da colônia esta correlacionada a diferenças genéticas dentro da população.

Figura 8 - Coloração predominante das colônias de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo A: branca; B: bege; C: de marrom a preta
Fonte: Corradini (1989).

O tipo de micélio produzido pelos isolados em colônia pura foi avaliado após 30 dias de incubação em meio BDA. Doze isolados (8%) apresentaram crescimento micelial abundante, alguns com presença de pequenos tufo de hifas.

Cinquenta e oito isolados (38,67%) apresentaram crescimento irregular, ou seja, não houve um padrão de formação de micélio sobre o meio de cultura na placa. A maior parte dos isolados, 53,5% (80 isolados) apresentou crescimento micelial ralo, representado por uma fina camada de micélio cobrindo a superfície da placa (Figura 9).

O resultado foi semelhante ao encontrado por Corradini (1989), onde 50% dos isolados apresentaram micélio superficial frouxo e homogêneo, que corresponde a classificação atual como ralo. Grabicoski (2012), avaliando 57 isolados, classificou como irregular, o crescimento micelial de mais de 60% dos isolados.

Figura 9 - Característica do micélio das colônias de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo A: abundante; B: irregular; C: ralo

3.3.3 Características dos escleródios produzidos

Em relação ao tempo necessário para a formação do primeiro escleródios de cada isolado, a análise de variância demonstrou que houve diferença significativa entre os isolados. O teste de médias Scott Knott ($p < 0,05$) separou os isolados em cinco grupos distintos, com coeficiente de variação de 6,96% (Tabela 2). O tempo de formação de escleródios variou de 4,3 dias (SS52 - Feijão, Coimbra/MG, 2012/ SS5 - Soja, Santo Antônio de Posse/SP, 2008) a 7,5 dias (SS79 - Feijão, Paracatú/MG, 2013).

Tabela 2 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o tempo de formação de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	TFE ¹ (dias)	Nº isolados	% isolados
A	7,5	1	0,67
B	7- 6,67	4	2,67
C	6,33 - 5,67	24	16
D	5,5 - 5	80	53,3
E	4,97 - 4,33	41	27,3

¹ TFE – Tempo de formação de escleródios

Dados semelhantes foram encontrados por Abreu (2011), cujos isolados variaram de 4,0 dias a 12,44 dias para a formação do primeiro escleródio. Os isolados avaliados por Grabicoski (2012) foram mais lentos para formação de escleródios e o tempo médio variou de 11,8 a 15,4 dias, sendo diferenciados segundo o teste de Tukey em dois níveis.

Todos os isolados analisados produziram escleródios. Quase a totalidade dos isolados apresentou escleródios distribuídos de forma regular próxima a margem. Apenas os isolados SS52 (Feijão, Coimbra/MG, 2012), SS127 (Feijão, Planaltina/GO, 2013) e SS140 (Soja, Canaã/MG, 2013), apresentaram escleródios dispostos em círculos próximos ao centro e os isolados SS111 (Feijão, Planaltina/GO, 2013) e SS132 (Feijão, Planaltina/GO, 2013) apresentaram escleródios dispersos na colônia (Figura 10).

Figura 10 - Característica da distribuição dos escleródios de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo (A) dispersos na colônia; (B) círculo no centro; (c) regular próximo à margem

A quantidade média de escleródios produzidos por placa apresentou diferença estatística no nível de 5% pelo teste de Scott Knott, e os isolados foram

separados em três grupos distintos, com variação de 19,67% (Tabela 3). O número de escleródios por placa variou de 41,3 (SS64 - Feijão, Viçosa/MG, 2012) a 14,67 (SS52 - Feijão, Coimbra/MG, 2012). Essa variação está dentro do esperado, como descrito por Bag (1999). Segundo o autor, espera-se uma população de 6 a 53 escleródios por placa de cultura artificial de isolados de *S. sclerotiorum* (Figura 11).

Tabela 3 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o tempo de formação de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	Nº de escleródios/placa	Nº isolados	% isolados
A	41,3 - 29,3	83	55,33
B	29 - 24	43	28,67
C	23,33 - 14,67	24	16

Resultados semelhantes foram encontrados por Abreu (2011), onde o teste de médias de Scott Knott separou os isolados em dois grupos, e o número de escleródios variou de 10,33 a 46. Os isolados avaliados por Grabicoski (2012) foram separados em quatro níveis de acordo com Scott Knott a 1% de probabilidade e o número de escleródios por placa variou de 16,6 a 57,2.

O peso total dos escleródios por placa variou de 900mg (SS97 - Feijão, Paracatú/MG, 2013) a 20 mg (SS20 - Soja, Cristalina/GO, 2010). A análise da variância do peso médio individual dos escleródios dos 150 isolados de *S. sclerotiorum* demonstrou que houve diferença estatística entre eles. O teste de médias de Scott Knott ($P < 0,5$) separou os isolados em dois grupos distintos de acordo com o seu peso em mg. O coeficiente de variação foi considerado muito alto, demonstrando que os dados são pouco homogêneos. No grupo A, os isolados produziram escleródios variando de 46,66 a 17,79 mg. No grupo B, os escleródios variaram de 16,96 a 1,22 mg (Tabela 4). Grabicoski (2012) também encontrou diferença entre o peso seco dos escleródios, que foram separados em 11 níveis, segundo Scott Knott ($p < 0,01$). O peso variou de 23,0 a 3,7 mg.

Tabela 4 - Grupos de médias de Scott Knott segundo o peso individual de escleródios, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	Peso (mg)	Nº isolados	% isolados
A	46,66 – 17,79	48	32
B	16,96 – 1,22	102	68

Quanto à forma, a maioria dos isolados apresentou escleródios arredondados (75,3%), apenas 2,7% apresentaram escleródios irregulares e alongados, e os 22% restante, apresentaram escleródios com formatos diversos, ou seja, alguns escleródios arredondados e outros alongados (Figura 11).

Em trabalho semelhante realizado por Abreu (2011) a maioria dos isolados, cerca de 80% apresentou-se regulares e circulares. Apenas nove isolados apresentaram escleródios irregulares e alongados. Já Grabicoski (2012) classificou a maioria dos isolados, cerca de 65% como diversos, com vários formatos.

Figura 11 - Exemplo de quantidade, tamanho e forma dos escleródios de *S. sclerotiorum* em meio BDA, após 30 dias de incubação, sendo (A) muitos escleródios, pequenos, arredondados; (B) poucos escleródios, grandes e com formas diversas; (C) quantidade e tamanhos médios, e formas diversas

3.3.4 Agressividade de isolados de *S. sclerotiorum* em trifólios de soja e feijão

Todos os isolados provocaram lesões nos trifólios de soja e feijão. Cada folha de feijão foi avaliada três vezes, após 24, 36 e 48 horas de incubação (Figura 12). Com esses dados foi possível calcular a área abaixo da curva de

progresso da doença (AACPD). A análise estatística demonstrou que houve diferença de agressividade entre os isolados. O teste de médias de Scott Knott ($p < 0,05$) separou os isolados em nove grupos de acordo com o nível de agressividade, com coeficiente de variação de 6,66% (Tabela 5). O isolado mais agressivo ao feijão foi o SS147 (Soja, Campos/SC, 2014), que provocou uma lesão com média de 45 mm de diâmetro. O isolado menos agressivo foi o SS94 (Feijão, Paracatú/MG, 2013), e a lesão provocada teve média de 13,2 mm (dado não mostrado).

Tabela 5 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em trifólios destacados de feijão, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	AACPD (mm²)	Nº isolados	% isolados
A	673-610	10	6,67
B	596-553	23	15,33
C	550-511	29	19,33
D	508-462	26	17,33
E	459-421	21	14
F	416-368	18	12
G	364-315	14	9,34
H	299-270	6	4
I	246-217	3	2

Figura 12 - Exemplo de lesão causadas em trifólios de feijão após 48 horas de incubação.

Já nos trifólios de soja, uma avaliação a mais foi feita, após 60 horas de incubação, uma vez que as lesões demoraram mais para evoluir. A análise estatística foi significativa a 5% e o teste de médias de Scott Knott separou os isolados em oito grupos, com coeficiente de variação de 8,27%. O isolado mais agressivo a soja foi o SS20 (Soja, Cristalina/GO, 2010), que provocou uma lesão com média de 44,5 mm de diâmetro. O isolado menos agressivo foi o SS87 (Feijão, Paracatú/MG, 2013), e a lesão provocada teve média de 26,2 mm (dado não mostrado).

Tabela 6 - Grupos de médias de Scott Knott segundo a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em trifólios destacados de soja, número e porcentagem de isolados em cada grupo

Grupo - Scott Knott	AACPD (mm²)	Nº isolados	% isolados
A	855-849	4	2,67
B	794-690	12	8
C	678-628	21	14
D	623-568	16	10,67
E	559-511	34	22,67
F	506-450	29	19,32
G	442-379	25	16,67
H	367-287	9	6

A correlação de Pearson entre a AACPD em feijão e soja foi de aproximadamente 0,53, indicando uma correlação positiva e moderada.

Foi gerado um gráfico a fim de comparar a AACPD dos diferentes hospedeiros de origem dos isolados, nas duas culturas (feijão e soja) inoculadas. O número de isolados que compartilhavam a mesma cultura de origem é variável, de forma que não foi possível aplicar a estatística. Graficamente, percebe-se que não há interação entre os fatores avaliados (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes culturas de origem

O gráfico 4 compara a AACPD de isolados de diferentes estados inoculados em feijão e soja. Graficamente os isolados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina parecem ser mais agressivos à soja, porém devido ao número variável de isolados, não se pode fazer a análise estatística.

Gráfico 4 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes estados brasileiros

No gráfico 5 foram comparadas as AACPDs de isolados de diferentes safras inoculados em trifólios destacados de plantas de feijão e soja. Não houve interação entre os fatores avaliados.

Gráfico 5 - Representação gráfica da interação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) inoculados em feijão e soja, provenientes de isolados de diferentes safras

Segundo Zancan et al. (2015) a caracterização de populações de *S. sclerotiorum* e a variabilidade da agressividade pode guiar o desenvolvimento de estratégias de manejo, reduzindo a perda no campo e a qualidade dos cultivos causadas por este patógeno. Diferenças na agressividade tem sido relatadas por diversos autores, em soja (KULL et al., 2004), canola (KOHLE et al., 1995), girassol (EKINS et al., 2011; MARCIANO et al., 1983).

4 SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* A FUNGICIDAS “IN VITRO”

4.1 Introdução

O mofo branco tem aumentado sua importância em diversas culturas anuais no Brasil como soja, algodão e feijão. A ocorrência desta doença tem sido um das principais causas da redução da produtividade, e dependendo das condições ambientais pode causar depreciação da qualidade do produto ou até mesmo inviabilizar determinadas áreas para o cultivo. Os métodos convencionais para o controle da doença incluem o manejo cultural, uso de cultivares resistentes e controle químico (BARDIN e HUANG, 2001).

Com relação ao controle químico, existem alguns relatos sobre resultados inconsistentes devido a algumas dificuldades nas aplicações (HUNTER et al., 1978; FERRAZ et al., 2003).

Hawthorne e Jarvis (1973) estudaram os fungicidas captana, tiram, diclofluanida, benomil, dicloran, diclozolin, quintozene e tiofanato metílico quanto à eficiência na inibição de crescimento micelial, germinação de escleródios e ascósporos e formação de estipe e apotécio em *S. sclerotiorum* e *S. minor*. Os resultados demonstraram que em baixas concentrações, somente, captana, tiram e diclofluanida inibiram completamente a germinação de ascósporos, enquanto que benomil, diclofluanida e tiram foram mais efetivos contra o controle micelial. Benomil foi o único eficiente contra a germinação de escleródios e crescimento micelial das duas espécies.

Gingrat (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 resistência do fungo aos fungicidas dicarboximidas, provavelmente relacionado ao seu micélio heterocariótico.

Oliveira et al. (1994), visando selecionar fungicidas potencialmente eficientes no controle de *S. sclerotiorum*, verificaram que os fungicidas vinclozolin, procimidona, carbendazim, benomil e 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

pririmetanil 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.

Menten et al. (1995) avaliaram a eficiência “in vitro” de fungicidas sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* através da determinação da ED50 e classificaram como altamente eficientes (ED50<1 ppm) clorotalonil, tebuconazol, procimidona, iprodiona, tiofanato metílico + clorotalonil, captana, vinclozolin, tiofanato metílico e benomil; moderadamente eficiente (ED50:1-10 ppm), pouco eficiente (ED50:10-50 ppm) mancozebe e ineficiente (ED50>50 ppm) óxido cuproso.

Costa e Costa (2004) concluíram, em condições controladas, que o fungicida vinclozolin inibiu 100% da germinação de estipes e apotécios e 60% da germinação miceliogênica, após 75 dias de incubação. O fungicida fluazinam permitiu a formação de estipes inviáveis e não foi eficiente na inibição miceliogênica. Já o fungicida tiofanato metílico reduziu, após 15 dias de incubação, 75% da germinação miceliogênica e não apresentou eficiência na inibição da formação de apotécios, apresentando apenas diminuição do tamanho do estipe. O fungicida procimidone, aos 30 dias de incubação, inibiu 60% da germinação miceliogênica, mas não foi eficiente na inibição de estipes e apotécios.

Camargo (2013) avaliou a eficiência de fluazinam, tiabendazol, piraclostribina, metalaxil-M, captana, carbendazim, difenoconazol, fludioxonil, fluquinconazol, flutriafol, tiofanato metílico, tiram e procimidona em *S. sclerotiorum*, e verificou que todos os fungicidas testados foram capazes de reduzir o crescimento micelial, bem como a produção de escleródios, em, pelo menos, 69% e 45%, respectivamente. A maioria dos fungicidas testados apresentaram CI_{50} inferior a 1 mg L⁻¹, com exceção dos ingredientes ativos flutriafol, tiram e captana, os quais mostraram CI_{50} entre 1 e 10 mg L⁻¹, e metalaxil-M, com CI_{50} superior a 50 mg L⁻¹. Os ingredientes ativos piraclostrobina, carbendazim, tiabendazol e tiofanato metílico, além de apresentarem CI_{50} inferior a 1 mg L⁻¹, também inibiram totalmente a formação de escleródios em concentrações inferiores a 5 mg L⁻¹.

Uma variedade de métodos pode ser utilizada na avaliação da sensibilidade a fungicidas em um sistema planta- patógeno. A maioria dos métodos envolvem a transferência de esporos ou discos de micélio de isolados de fungos em meio de cultura alterada com diferentes concentrações de fungicida, a fim de avaliar a inibição de crescimento ou germinação de esporos (RUSSEL, 2004). Lehner

(2015) foi o primeiro a utilizar doses discriminatórias na avaliação de uma população de isolados de *S. sclerotiorum*, em isolados provenientes de cultivos de feijão, no Brasil. Uma dose discriminatória é uma dose única em que, dependendo da reação do isolado, é possível classifica-lo em sensível ou resistente a um fungicida.

O controle químico tem grande importância no manejo do mofo branco, e no Brasil, a aplicação de fungicidas baseia-se na aplicação de três fungicidas mais importantes, fluazinam, procimidona e tiofanato metílico. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência desses fungicidas “in vitro” no controle de 150 isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*. O acompanhamento da sensibilidade dos isolados é fundamental para gestão da doença no campo.

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Descrição dos Produtos Utilizados

4.2.1.1 Fluazinam

Nome Comum: fluazinam

Nome Químico: 3-chloro-N-(3-chloro-5-trifluoromethyl - 2 - pyridyl)- α,α,α -trifluoro-2,6- dinitro-p-toluidine

Fórmula Molecular: [C₁₃H₄Cl₂F₆N₄O₄]

Fórmula Estrutural:

Grupo Químico: fenilpiridinilamina

Produtos Registrados no Brasil: marcas comerciais Agata, Altima, Cignus, Frowncide 500SC, Legacy e Signal (AGROFIT, 2016).

Indicações de Uso: Registrado para *Sclerotinia sclerotiorum* nas culturas de algodão, batata, feijão, girassol, soja e tomate (AGROFIT, 2016).

Mecanismo de ação: este grupo se caracteriza pela inibição ou desacoplamento da fosforilação oxidativa que previne a formação da molécula de ATP. Fluazinam

destrói a conexão de fosforilação oxidativa após a ionização do grupo amino (LYR, 1995; ROBERTS e HUDSON, 1999).

Característica do Grupo: Fluazinam apresenta ação protetora, com pouca atividade curativa e sistêmica, mas com um bom efeito residual e estabilidade à chuva. (LYR, 1995; TOMLIN, 2002).

Risco de Resistência: Apresenta baixo risco de resistência, entretanto isolados resistentes de *Botrytis* foram observadas no Japão desde 2000 (FRAC, 2003).

4.2.1.2 Procimidona

Nome Comum: procymidone

Nome Químico: N-(3,5-dichlorophenyl)-1,2-dimethylcyclopropane-1,2-dicarboximide

Fórmula Molecular: [C₁₃H₁₁Cl₂NO₂]

Fórmula Estrutural:

Grupo Químico: dicarboximida

Produtos Registrados no Brasil: marcas comerciais Sialex 500, Sumiguard 500 WP e Sumilex 500 WP (AGROFIT, 2016).

Indicações de Uso: Registrado para *Sclerotinia sclerotiorum* nas culturas de alface, algodão, batata, feijão, soja e tomate (AGROFIT, 2016).

Mecanismo de ação: Estes fungicidas interferem com respiração bloqueando a atividade da enzima NADH citocromo-c-redutase no processo respiratório. As dicarboximidas também apresentam alguma interação com o núcleo celular. A citocromo-c-redutase e mais algumas enzimas são inibidas, provocando uma peroxidação de lipídios. As membranas internas da mitocôndria são especialmente sensíveis, provavelmente devido a seu alto conteúdo de ácidos graxos insaturados. Os fungicidas dicarboximidas atuam sobre um grupo de gêneros de fungos semelhante, com alguma diferença nas espécies. Três gêneros, *Botrytis*, *Sclerotinia* e *Monilia*, são particularmente sensíveis devido a características de suas membranas (EHR e KEMMITT, 2002).

Características do Grupo: Fungicidas sistêmico com ação protetora e curativa. Procimidona é absorvido pelas raízes com translocação para folhas e flores. (EHR e KEMMITT, 2002).

Risco de Resistência: Médio risco de resistência. Resistência cruzada é comum entre os membros deste grupo. As recomendações de uso em qualquer cultura são de não repetir com frequência a aplicação de carboximidas e outros fungicidas com modo de ação semelhante, nas mesmas áreas. *B. cinerea* é o único fungo com um histórico significativo de resistência. Em outros fungos a resistência tem sido esporádica, sem significado econômico (FRAC, 2003).

4.2.1.3 Tiofanato Metílico

Nome Comum: thiophanate-methyl (tiofanato-metílico)

Nome Químico: methyl benzimidazol-2-ylcarbamate.

Fórmula Molecular: [C₁₂H₁₄N₄O₄S₂]

Fórmula Estrutural:

Grupo Químico: benzimidazol (precursor de)

Produtos Registrados no Brasil: marcas comerciais Capo WG, Cercobin 500 SC, Cercobin 700 WP, Estrela SC, Fiera WG, Metiltiofan, Mofotil, Pomme, Spring WG, Support, Support WG, Tidy 700, Tiofanato-Metílico 500 Helm, Topsin 500 e Topsin 700 (AGROFIT, 2016).

Indicações de Uso: Registrado para *Sclerotinia sclerotiorum* nas culturas de abóbora, berinjela, ervilha, feijão, feijão-vagem, melancia, melão, pepino, soja e tomate (AGROFIT, 2016).

Mecanismo de ação: O mecanismo de ação, igualmente aos benzimidazóis, atua interferindo na armação de β -tubulina para formação dos microtúbulos que fazem parte do citoesqueleto, durante a metáfase no processo de mitose (HEWITT, 1998; TOMLIN, 2002). Benomyl e tiofanato metílico transformam-se no princípio fungitóxico comum, o carbendazim ou MBC (carbamato de metil 2-benzimidazol), motivo porque

o espectro de ação antifúngica dos três é muito semelhante (HEWITT, 1998; HUTSON e MIYAMOTO, 1998; LYR, 1995; TOMLIN, 2002).

Risco de Resistência: Alto risco de resistência, apresentando casos relatados em muitas espécies de fungos. Existem vários alvos de mutação, principalmente E 198A/G/K e F200Y. Apresenta resistência cruzada positiva entre os membros do grupo dos benzimidazóis. Apresenta resistência cruzada negativa para os N-fenilcarbamatos. O FRAC apresenta recomendações específicas para manejo de resistência dos membros deste grupo (FRAC, 2003).

4.2.2 Sensibilidade “in vitro” de isolados de *S. sclerotiorum* a fungicidas

Vinte e cinco isolados foram aleatoriamente selecionados e utilizados nos testes iniciais de sensibilidade a fungicidas (Tabela 7). As seguintes formulações fungicidas comerciais foram usadas em todos os testes: Frowncide 500SC - fluazinam (50% IA), e Sumilex 500 WP - procimidona (50% AI), Cercobim 700WP - tiofanato metílico (70% de ingrediente ativo).

Tabela 7 - Caracterização do local, hospedeiro de origem e safra de coleta de isolados de *S. sclerotiorum* utilizados para teste de sensibilidade “in vitro” a fungicidas

ID	SAFRA	LOCAL	CULTURA
SS3	2003	Brasília - DF	Cenoura
SS4	2006	Montividiu - GO	Soja
SS9	2009	Uberlândia - MG	Soja
SS16	2010	Jataí - GO	Soja
SS20	2010	Cristalina - GO	Soja
SS22	2010	Formosa - GO	Soja
SS39	2010	Correntina - BA	Soja
SS40	2010	Viçosa - MG	Feijão
SS43	2011	Goiânia - GO	Girassol
SS45	2011	Coxilha -RS	Soja
SS46	2011	Coxilha -RS	Soja
SS52	2012	Coimbra - MG	Feijão
SS53	2012	Coimbra - MG	Feijão
SS54	2012	Presidente Bernardes - MG	Feijão
SS55	2012	Oratórios - MG	Feijão
SS56	2012	Coimbra - MG	Feijão
SS57	2012	Coimbra - MG	Feijão
SS67	2013	Paracatú - MG	Feijão
SS105	2013	Paracatú - MG	Feijão
SS126	2013	Planaltina - GO	Feijão
SS135	2013	Brasília - DF	Feijão
SS136	2013	Cerquilha - SP	Feijão
SS138	2013	Portofirme - MG	Feijão
SS141	2014	Formosa - GO	Feijão
SS142	2014	Wenceslau Braz - PR	Feijão

Os fungicidas foram dissolvidos em água destilada esterilizada para se obter 10.000 ppm (partes por milhão) para a solução estoque. Para se obter as concentrações desejadas de cada fungicida, diluições em série foram preparadas a partir da solução de reserva.

Os fungicidas foram adicionados à solução arrefecida (42 a 50° C), de meio de cultura BDA (batata + dextrose + ágar). As concentrações utilizadas para cada fungicida foram: fluazinam a 0 (somente o meio BDA), 0,0025, 0,005, 0,01, 0,05, e 0,1 ppm; procimidona, a 0, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, e 1,0 ppm; tiofanato metílico a 0, 1, 2,5, 5, 10 e 50 ppm;

Discos de micélio (5 mm de diâmetro) de uma cultura de 3 dias de idade dos 25 isolados foram colocados no centro de placas de petri (9 cm de diâmetro) contendo 20 ml de meio BDA alterado com os fungicidas em cada uma das concentrações acima. Após 48 horas de incubação a $20 \pm 2^\circ \text{C}$, no escuro, o diâmetro das colônias de cada isolado foi medido em duas direções perpendiculares utilizando um paquímetro digital.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por concentração de fungicida. Cada placa de petri foi considerada como uma unidade experimental. A experiência foi realizada duas vezes. Os diagramas de caixa foram utilizados para analisar os dados de crescimento micelial em cada fungicida.

4.2.3 Avaliação da sensibilidade fungicida “in vitro” utilizando concentrações discriminatórias

A partir dos diagramas de caixa obtidas no item 4.2.2 foram estabelecidas as doses discriminatórias, como sendo a dose em que os isolados sensíveis cresceram menos do que 25% do diâmetro do crescimento medido no tratamento controle.

Os 150 isolados foram testados quanto à sensibilidade à tiofanato metílico, fluazinam e procimidona, incluindo os 25 isolados que foram previamente testados.

Discos de micélio (5 mm de diâmetro) de uma cultura de 3 dias de idade de cada isolado foram colocadas no centro de placas de petri (9 cm de diâmetro) contendo 20 ml de meio de cultura BDA alterado com a dose discriminatória de tiofanato metílico a 5 ppm; fluazinam a 0,05 ppm e procimidona a 0,5 ppm, respectivamente.

O diâmetro do crescimento micelial de cada isolado foi medido, após 48 h de incubação a $20 \pm 2^\circ \text{C}$ no escuro, utilizando um paquímetro digital. O

experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. Para cada isolado foram utilizadas três repetições com e sem fungicidas. A experiência foi realizada duas vezes.

Os isolados foram considerados resistentes se eles cresceram sem alterações na testemunha e se o crescimento foi mais de 50% em comparação com o controle no BDA alterado com as doses discriminatórias. De forma análoga, os isolados foram considerados sensíveis se eles cresceram menos de 50% em comparação com o controle no BDA alterado com a dose discriminatório de cada fungicida.

A fim de determinar a variação nos índices de CI_{50} para os 150 isolados de *S. sclerotiorum*, o isolado com maior crescimento micelial na dose discriminatória, bem como o isolado com menor crescimento foram caracterizados utilizando as 6 dosagens de fungicida. As concentrações utilizadas para cada fungicida foram: fluazinam a 0 (somente o meio BDA), 0,0025, 0,005, 0,01, 0,05, e 0,1 ppm; procimidona, a 0, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, e 1,0 ppm; tiofanato metílico a 0, 1, 2,5, 5, 10 e 50 ppm;

Para cada um dos isolados, uma regressão linear da porcentagem de inibição [(diâmetro do crescimento controle – diâmetro do crescimento nas concentrações de fungicida/ diâmetro do crescimento no controle] versus o $\log_{10}$ da concentração do fungicida foi realizado para estimar a concentração que resulta em 50% de inibição do crescimento micelial (CI_{50}), utilizando o programa Excel. Foi feita uma regressão para cada repetição e depois se tirou a média.

4.3 Discussão de resultados

4.3.1 Sensibilidade “in vitro” de isolados de *S. sclerotiorum* a fungicidas

Em relação ao fluazinam, na dose de 0,0025 ppm, o crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum* variou de 57,06% a 86,67% quando comparado ao controle, com mediana de 72,94%. A 0,005 ppm a variação foi de 36,47% a 74,51%. Na dose seguinte (0,01 ppm), os isolados cresceram entre 12,55% e 42,35%, em relação ao controle. A 0,05 ppm de fluazinam, a mediana foi de 15,29% e todos os isolados cresceram menos do 25%, sendo portanto, a dose

escolhida como discriminatória. Na dose final (0,1 ppm), o crescimento micelial variou de 3,53% a 16,67%, em relação ao controle (Gráfico 6)

Gráfico 6 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de *S. sclerotiorum* em cada concentração de Fluazinam

Comparado com o controle, o crescimento micelial dos isolados de *S. sclerotiorum* variou de 64,70% a 100% com 0,05 ppm de procimidona. Na dose de 0,1 ppm, a variação foi de 40,78% a 90,19%. Na dose seguinte (0,25 ppm) o crescimento micelial ficou entre 23,92% e 74,31%, quando comparados ao controle. A 0,5 ppm de procimidona, a mediana foi de 12,94% e mais de 70% dos isolados apresentaram crescimento abaixo de 25%, sendo portanto a dose selecionada como discriminatória. Na dose de 0,5 ppm, o crescimento micelial ficou entre 3,13% e 7,05% (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de *S. sclerotiorum* em cada concentração de Procimidona

Na dose mínima de tiofanato metílico (1ppm) o crescimento micelial ficou entre 54,12 e 82,86%, quando comparado com o controle. Na dose seguinte (2,5 ppm), o crescimento ficou entre 30,20% e 66,86%. Já na dose de 5 ppm de tiofanato metílico, a mediana foi de 23,52%, e mais de 60% dos isolados apresentou crescimento menor que 25% quando comparado com o controle, sendo portanto, a dose selecionada. Na dose de 10 ppm, o crescimento variou entre 5,88% e 26,67% e na dose máxima (50 ppm) entre 0 e 8,62% (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Diagrama de caixa mostrando o percentual de crescimento micelial de 25 isolados de *S. sclerotiorum* em cada concentração de Tiofanato Metílico

4.3.2 Avaliação da sensibilidade fungicida “in vitro” utilizando doses discriminatórias

Nenhum isolado avaliado se mostrou resistente a Fluazinam. Segundo a classificação do FRAC (2003), esse fungicida apresenta baixo risco de desenvolvimento de isolados resistentes, uma vez que age em vários locais. Entretanto, uma redução na sensibilidade foi relatada por Attanayake et al. (2012) e já se conhecem populações resistentes de *Botrytis cinerea* em culturas de feijão no Japão (TAMURA, 2000).

Utilizando a dose discriminatória de 0,05 ppm, o crescimento micelial dos 150 isolados variou de 6,85-48,88%, quando comparados com o controle. A fim de determinar a variabilidade da CI_{50} na população, determinaram-se os valores das extremidades. O valor da CI_{50} para Fluazinam na população analisada variou de

0,00173 ppm (SS18 - Soja, Jataí/GO, 2010) a 0,01284 ppm (SS77 - Feijão, Paracatú/MG, 2013), com média de 0,007 ppm.

Os valores encontrados no presente estudo foram semelhantes ao apresentado por Lehner (2015) que encontrou valores de CI_{50} variando de 0,003-0,007 mg L⁻¹, com média de 0,005 mg L⁻¹. Diferentes estudos envolvendo a sensibilidade de isolados de *S. sclerotiorum* a este fungicida já haviam comprovado sua eficiência. KOMYOJI et al. (1995) observaram CI_{50} e CI_{90} inferiores a 0,1 mg L⁻¹ para *S. sclerotiorum*, além de verificar seu efeito fungitóxico a diversas outras espécies de fungos. A dose de 0,01 mg L⁻¹ causou inibição do crescimento de *S. minor* e *S. sclerotiorum* na ordem de 80%, segundo MATHERON; PORCHAS, 2004). A dose foi testada anos mais tarde por Paula Junior et al. (2009) e Garcia et al. (2012) e comprovaram a sua eficiência. Camargo (2013) determinou CI_{50} próximo de 0,001 mg L⁻¹. Fluazinam foi capaz de inibir praticamente 100% do crescimento micelial em uma concentração inferior a 0,1 mg L⁻¹.

Nenhum isolado avaliado se mostrou resistente a Procimidona. Até o momento não existe nenhum relato de resistência a procimidona em *S. sclerotiorum* em condições de campo; no entanto, segundo Liu et al. (2010), isolados resistentes tem sido induzidos em condições laboratoriais com certa facilidade, o que implica em risco de desenvolvimento de resistência.

Dicarboximidas apresentam alto risco de desenvolvimento de resistência devido ao seu mecanismo de ação (MA e MICHAILIDES, 2005). Em espécies geneticamente relacionadas com *S. sclerotiorum*, resistência a dicarboximidas foram relatadas em condições de campo em *Botrytis cinerea* (LAMONDIA e DOUGLAS, 1997), *Monillinia fructicola* (LIM e CHA, 2003) e *Sclerotinia minor* (HUBBARD et al., 1997). Zhou et al. (2013) identificaram isolados de *S. sclerotiorum*, em condições de campo, na China, resistentes ao fungicida dimethachlon.

Utilizando a dose discriminatória de 0,5 ppm de procimidona, a variação no crescimento micelial dos isolados foi de 9,35% (SS112 - Feijão, Planaltina/GO, 2013) a 49,25% (SS82 - Feijão, Paracatú/MG, 2013) comparados ao controle. A CI_{50} desses isolados foi de 0,12223 ppm e 0,35916 ppm, respectivamente, com média de 0,21834 ppm. A variação encontrada, em trabalho semelhante, por Lehner (2015) foi maior, com valores variando de 0,11-0,72 µg/mL, com média de 0,35 µg/mL. Ma et al. (2005), encontraram valores de CI_{50} variando de

0,08 a 0,22 mg L⁻¹. Outros autores indicaram que a Cl₅₀ seria inferior a 1 mg L⁻¹ e, nesta concentração, a inibição seria de praticamente 100% do crescimento micelial (GARCIA et al., 2010; CAMARGO, 2013).

A resistência a benzimidazóis, tais como carbendazim e tiofanato metílico tem sido relatadas em diversos agentes fitopatogênicos (KOENRAADT et al., 1992). No presente estudo, foram encontrados sete isolados resistentes a tiofanato metílico na população de 150 isolados de *S. Sclerotiorum* analisados. São eles: SS76, SS77, SS78, SS84, SS86, SS99 e SS103, todos provenientes de campos de cultivo de feijão, em Paracatú/MG, da safra de 2013 e serão objetos do capítulo seguinte.

Na população suscetível, testada com a dose discriminatória de 5 ppm, a porcentagem de crescimento em relação ao controle, variou de 10,31 (SS31 – Soja, Correntina/BA, 2010) a 49,09 (SS7 – soja, Uberlândia/MG, 2009). O valor da Cl₅₀ variou de 0,49 - 3,73 ppm. Dados semelhantes foram apresentados por Lehner (2015) avaliando 31 isolados suscetíveis, nos quais o Cl₅₀ variou de 0,38 ug / ml a 2,23 ug / mL. FIGUEIREDO et al. (2010) observaram redução do crescimento micelial na concentração de 1 mg L⁻¹ de tiofanato metílico e inibição completa a 10 mg L⁻¹. Outros estudos mostraram inibição de 50% do crescimento micelial com a concentração de 2,2 mg L⁻¹ (MUELLER et al., 2002) e inferior a 5 mg L⁻¹ (ZANCAN et al., 2012) de tiofanato metílico.

5 RESISTÊNCIA DE ISOLADOS DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* A TIOFANATO METÍLICO

5.1 Introdução

Os organismos vivos possuem a capacidade de se adaptarem às condições do meio ambiente. Assim, a adaptabilidade dos fungos a certas moléculas de fungicidas pode ocorrer em função das condições impostas pelo próprio homem como, por exemplo, o uso de subdoses ou o uso do mesmo ingrediente ativo em aplicações contínuas (DEKKER, 1977). A resistência é definida como um ajuste estável e hereditário de um fungo a um fungicida, resultando em redução na sensibilidade do patógeno (EUROPEAN, 1988).

De acordo com Dekker (1977), organismos resistentes são aqueles que exibem redução da sensibilidade para um produto tóxico, por exemplo, um fungo que não tem seu desenvolvimento reduzido ou inibido em concentrações de um produto onde se verificava inibição para outros fungos ou outras raças do mesmo. Cita ainda que deve-se considerar que pode existir uma resistência natural existente em uma população, espécie, família, classe ou ordem de um fungo, ou resistência adquirida em raças de uma espécie normalmente sensível.

Vários fatores podem contribuir para o desenvolvimento de isolado não sensível como: produto aplicado, intensidade de uso e características do organismo, tais como: taxa de reprodução do fungo, disseminação dos esporos e a duração da alta pressão de seleção em virtude de condições climáticas (ZAMBOLIM et al., 2007). A aplicação de fungicida pode ser manipulada em função de estratégias anti-resistência. Estas estratégias são baseadas no princípio de que quando há aplicação do fungicida, também é exercida uma pressão de seleção sobre a população do patógeno, podendo, a longo ou curto prazo, dependendo da resistência genética envolvida, resultar na seleção e predominância de indivíduos não sensíveis na população do fungo alvo (GHINI & KIMATI, 2000).

Atualmente, a resistência de fungos vem sendo um dos maiores problemas do controle químico das doenças de plantas. Estudos da resistência de fungos a fungicidas são justificados pelo amplo uso desses produtos nos sistemas agrícolas, pela grande diversidade de grupos químicos e pela introdução de novos produtos; dessa forma, os trabalhos que venham a fortalecer o conhecimento da

sensibilidade de populações fúngicas, diante do tratamento químico, são de grande importância (AZEVEDO, 2007).

Até 1970, os casos de resistência a fungicidas, em condições de campo, limitavam-se a menos de 10 gênero de fungos; no entanto, a partir de 1977, com o uso mais frequente dos fungicidas sistêmicos, 64 gêneros de fungos resistentes a fungicidas já foram relatados (DELP, 1980). No Brasil, os primeiros casos relatados surgiram em 1974 (GHINI & KIMATI, 2000). Reis et al. (2010) citaram que a maior parte dos casos de redução de sensibilidade surgiu após a introdução dos grupos químicos benzimidazol, fenilamida, carboxanilida, dicarboximida, aminopirimidina e inibidores da desmetilação (IDM). O principal motivo para o elevado risco de resistência de fungicidas se dá devido à toxicidade para um único sítio de ação do fungo, sendo que, uma única alteração neste, pode resultar em resistência ao fungicida (EDGINGTON et al., 1980; BRENT, 1995).

O grupo de fungicidas sistêmicos dos benzimidazóis compreende os fungicidas benomil, carbendazim, tiabendazole, tiofanato metílico e fuberidazole. Esses fungicidas apresentam grande similaridade, tanto em seu aspecto fungistático como em suas estruturas químicas (NENE e THAPLYIAL, 1979). Outro fator que indica essa semelhança é o fato de um mutante resistente a um benzimidazol pode ser resistente aos demais.

A resistência ao fungicida benomil foi observada por Schroeder e Provvidenti (1969), apenas um ano após sua introdução, em *Sphaerotheca fuliginea*. Em 1971, Bollen e Scholten relataram a resistência de *Botrytis cinerea*, na cultura do cíclame, na Alemanha. Reportaram ainda resistência cruzada também aos fungicidas tiabendazole, fuberidazole e tiofanato metílico. Resultados semelhantes foram obtidos por Vargas Jr. (1973) com *Erysiphe graminis*. No mesmo ano, Clark et al. (1974), analisando isolados de *Cercospora arachidicola* e *Cercosporidium personatum* em campos de amendoim infectados, observaram tolerância ao benomil em doses 10 vezes mais elevadas que as normais.

No Brasil, relatos sobre a resistência de fungos aos benzimidazóis também têm sido observados. Mariotto (1985) detectou redução da eficácia de benomil no controle de *Cercosporidium personatum*. Ghini e Kimati (1989) observaram resistência de *Botrytis squamosa*, agente causal da queima das pontas da cebola, a benomil e iprodione.

Segundo Delp (1980), os problemas de resistência aos benzimidazóis iniciaram-se devido ao uso intensivo dos produtos, pelo fato de atuarem um sítio específico do metabolismo do patógeno, mas, também pela maioria dos fungos possuírem estirpes resistentes em sua população original.

O surgimento de populações de *S. sclerotiorum* resistentes a fungicidas foi notificado com menor frequência do que outras espécies relacionadas de Sclerotiniaceae, tais como *Botrytis cinerea* e *Monilinia fructicola*. Ao contrário destas espécies, *S. sclerotiorum* é um fungo homotático, com ciclo de vida assexuado e não produz conídios (AMSELEM et al., 2011). De acordo com McDonald e Linde (2002), fitopatógenos com estas características biológicas têm menor risco potencial de desenvolver resistência a fungicidas.

Os benzimidazóis tiofanato metílico e carbendazim foram amplamente utilizados na China no controle de *S. sclerotiorum* na canola, durante os anos de 1980 e 1990. Como resultado, o surgimento de resistência a carbendazim passou a ser registrado na província de Jiangsu, em 1995, com uma frequência de 12,2% (PAN et al., 1997). Nos dois anos subsequentes, a frequência aumentou para 41% e 65,8%, respectivamente. A partir de 1998 a 2001, as frequências de isolados resistentes variaram de 80,4% a 85,8%, e a prevalência de isolados resistentes causaram inúmeras falhas no controle, e resultaram na suspensão de carbendazim nos programas de controle de mofo branco na província de Jiangsu (PAN, 1998; SHI et al., 2000; ZHANG et al., 2003). A frequência de isolados resistentes permaneceu com níveis elevados no leste da China até 2007. Kuang et al. (2011) relataram que as frequências anuais de isolados resistentes foram de 63,9%, 24,0%, 27,1%, 16,7%, 9,8%, respectivamente de 2006 a 2010, na província de Jiangsu. O declínio da frequência de isolados resistentes pode ser atribuído a substituição do carbendazim por outros fungicidas, como iprodiona e dimethachlon.

A resistência de fungos aos benzimidazóis já foi detectada em muitas espécies de fungos e é resultante da mutação do gene da β -tubulina causando alteração na sequência de aminoácidos, o que determina a resistência ou suscetibilidade ao fungicida (MCKAY e COOK, 1997; MCKAY et al., 1998). Em *S. sclerotiorum*, estas mutações resultam na substituição de glutamina (GAG) por alanina (GCG) no códon 198 (E198A) ou de fenilalanina (TTC) por tirosina (TAC) no códon 200 (F200Y) no gene β - tubulina (YANG et al., 2004).

Em 2015, Lehner fez o primeiro relato de resistência de um isolado brasileiro de *S. sclerotiorum* a tiofanato metílico. O isolado resistente identificado no estudo apresentou uma mutação que substitui uma leucina (CTC) por uma fenilalanina (TTC) no codão 240 do gene β -tubulina. Segundo Baraldi et al. (2003) esta substituição pode ser fenotipicamente silenciosa e não causar grandes alterações na estrutura e função das proteínas. A mutação L240F já havia sido relatada em *Tapesia yallundae* (ALBERTINI et al. 1999) e *M. laxa* (MA et al., 2005).

Devido às falhas de controle em campo, provocadas pelo desenvolvimento de resistência aos benzimidazóis, os fungicidas do grupo das dicarboximidas (dimethachlon, iprodiona e procimidona) passaram a ser comumente utilizado no controle do mofo branco na China. Depois de uma década aplicando dimethachlon, uma redução na sensibilidade foi observada na província de Jiangsu. (MA et al., 2009). Em 2014, ZHOU et al. encontraram resistência a dimethachlon na província de Shannxi no noroeste da China, em Heilongjiang, no nordeste e em Hunan China, na China central.

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo determinar os isolados que apresentam resistência a tiofanato metílico.

5.2 Materiais e métodos

Nessa fase do estudo, foi caracterizado o CI_{50} dos isolados a tiofanato metílico. Os isolados foram coletados na cidade de Paracatú – MG, em duas propriedades: Fazenda Engenho Velho e Fazenda Nova Holanda, em cultivos de feijão, irrigados com pivô central, na safra de 2013 (Figura 13, Tabela 8).

Figura 13 - Mapa de Minas Gerais, com destaque para áreas da Fazenda Nova Holanda e Engenho Velho, em Paracatú

Tabela 8 - Lista de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, propriedades onde foram coletado e coordenadas GPS do local da coleta

Identificação	Fazenda	Coordenada GPS
SS75	Fazenda Engenho Velho	S17 09 50.2 W46 37 30.2
SS76	Fazenda Engenho Velho	S17 09 50.2 W46 37 29.7
SS77	Fazenda Engenho Velho	S17 09 49.1 W46 37 28.9
SS78	Fazenda Engenho Velho	S17 10 9.26 W46 37 57.12
SS79	Fazenda Engenho Velho	S17 09 47.7 W46 37 27.5
SS80	Fazenda Engenho Velho	S17 09 45.6 W46 37 24.9
SS81	Fazenda Engenho Velho	S17 09 45.4 W46 37 24.6
SS82	Fazenda Engenho Velho	S17 09 46.2 W46 37 25.6
SS83	Fazenda Engenho Velho	S17 09 44.4 W46 37 23.4
SS84	Fazenda Engenho Velho	S17 09 44.4 W46 37 23.6
SS85	Fazenda Engenho Velho	S17 09 43.7 W46 37 22.6
SS86	Fazenda Engenho Velho	S17 09 43.7 W46 37 22.7
SS87	Fazenda Nova Holanda	S17 01 01.9 W47 02 09.8
SS88	Fazenda Nova Holanda	S17 01 12.1 W47 02 29.3
SS89	Fazenda Nova Holanda	S17 01 06.6 W47 02 07.7
SS90	Fazenda Nova Holanda	S17 01 06.6 W47 02 07.7
SS91	Fazenda Nova Holanda	S17 01 06.6 W47 02 07.7
SS92	Fazenda Nova Holanda	S17 01 06.6 W47 02 07.7
SS93	Fazenda Nova Holanda	S17 01 10.9 W47 02 06.1
SS94	Fazenda Nova Holanda	S17 01 13.2 W47 02 05.2
SS95	Fazenda Nova Holanda	S17 01 19.3 W47 02 02.2
SS96	Fazenda Nova Holanda	S17 01 19.39 W47 02 02.10
SS97	Fazenda Nova Holanda	S17 00 52.8 W47 01 45.6
SS98	Fazenda Nova Holanda	S17 00 48.7 W47 01 47.0
SS99	Fazenda Nova Holanda	S17 00 46.1 W47 01 47.9
SS100	Fazenda Nova Holanda	S17 00 50.0 W47 01 33.7
SS101	Fazenda Nova Holanda	S17 00 48.1 W47 01 34.3
SS102	Fazenda Nova Holanda	S17 00 43.8 W47 01 35.8
SS103	Fazenda Nova Holanda	S17 00 43.8 W47 01 35.9

As doses selecionadas para os isolados foram baseadas no item 3.2.3 do Capítulo II. Para os isolados considerados sensíveis, as concentrações utilizadas de tiofanato metílico foram 0, 1, 2,5, 5, 10 e 50 ppm. Os isolados considerados resistentes foram testados nas doses de 0, 500, 1000, 1500, 3000 e 4500 ppm. O fungicida foi adicionado à solução arrefecida (42 a 50° C) de meio de cultura BDA.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por concentração de fungicida. Cada placa de Petri foi considerada como uma unidade experimental. A experiência foi realizada duas vezes. Para cada um dos isolados, uma regressão linear da porcentagem de inibição

[(diâmetro do crescimento controle – diâmetro do crescimento nas concentrações de fungicida/ diâmetro do crescimento no controle] versus o log10 da concentração do fungicida foi realizado para estimar a concentração que resulta em 50% de inibição do crescimento micelial (CI₅₀), utilizando o programa Excel.

5.3 Discussão de Resultados

Dos 29 isolados de *S. sclerotiorum* analisados, sete apresentaram resistência a tiofanato metílico, o que representa 24% das amostras. Em relação a Fazenda Engenho Velho, 12 isolados foram analisados e 5 apresentaram resistência ao tiofanato metílico, ou seja, 42%. Na fazenda Nova Holanda, 17 isolados foram analisados e 2 apresentaram resistência, o que corresponde a 12%. As curvas de regressão linear da porcentagem de inibição do crescimento micelial para cada isolado estão disponíveis no anexo K.

O coeficiente de determinação, ou R², variou de 0,8051 a 0,9978. O coeficiente de determinação é uma medida de ajustamento de um modelo estatístico linear generalizado, como a regressão linear, em relação aos valores observados. O R² varia entre 0 e 1, indicando, em porcentagem, o quanto o modelo consegue explicar os valores observados. Quanto maior o R², mais explicativo é modelo, melhor ele se ajusta à amostra.

Na Fazenda Engenho Velho, a CI₅₀ dos isolados sensíveis variou de 1,64 a 3,29 ppm, com média de 2,93 ppm. Os isolados resistentes variaram de 989,82 a 2666,76 ppm, com media de 1544,22 ppm. Na Fazenda Nova Holanda, a CI₅₀ dos isolados sensíveis variou de 1,13 a 10,53 ppm, com média de 2,88 ppm, e os isolados resistentes variaram de 1386,43 a 1509,49 ppm, com media de 1447,96 ppm (Tabela x).

O valor da CI₅₀ do isolado avaliado por Lehner (2015) resistente a tiofanato metílico foi estimado em mais de 100 ppm. Valores muito mais altos foram encontrados no presente trabalho. Zhu et al. (2015) avaliaram isolados resistentes a carbendazim de diferentes regiões da China e encontraram valores de EC₅₀ variando de 98,7 a >1000 ppm. Segundo Mizobuti (comunicação pessoal), a resistência a tiofanato metílico geralmente é de natureza qualitativa. Portanto, isolados serão resistentes independentemente da dose. A partir de certas concentrações pode

haver inibição de crescimento causada por diferença de potencial osmótico (aumento das concentrações dos inertes, por exemplo).

Tabela 9 - Relação dos isolados, equação da reta da regressão linear da porcentagem de inibição do crescimento micelial, R^2 da equação da reta, concentração do fungicida que inibe 50% do crescimento micelial e diagnóstico da resistência

ID	Equação da Reta	R^2	CI50	Diagnóstico
75	$y = 24,578x + 30,43$	0,8732	6,26	Sensível
76	$y = 51,543x - 104,4$	0,9264	989,82	Resistente
77	$y = 45,951x - 92,193$	0,8824	1242,94	Resistente
78	$y = 46,308x - 96,672$	0,9566	1469,99	Resistente
79	$y = 40,935x + 41,32$	0,9056	1,63	Sensível
80	$y = 47,704x + 37,384$	0,8051	1,84	Sensível
81	$y = 19,83x + 42,013$	0,9081	2,53	Sensível
82	$y = 18,774x + 41,387$	0,9111	2,88	Sensível
83	$y = 47,341x + 35,024$	0,8895	2,07	Sensível
84	$y = 46,591x - 109,62$	0,86	2666,76	Resistente
85	$y = 17,563x + 40,925$	0,9553	3,29	Sensível
86	$y = 56,186x - 125,91$	0,9899	1351,61	Resistente
87	$y = 31,818x + 17,468$	0,9123	10,53	Sensível
88	$y = 40,89x + 37,211$	0,9094	2,05	Sensível
89	$y = 23,759x + 35,52$	0,842	4,07	Sensível
90	$y = 40,969x + 36,871$	0,9093	2,09	Sensível
91	$y = 42,287x + 39,728$	0,8273	1,75	Sensível
92	$y = 39,467x + 29,94$	0,986	3,22	Sensível
93	$y = 38,533x + 31,821$	0,9143	2,96	Sensível
94	$y = 43,889x + 36,1$	0,9127	2,07	Sensível
95	$y = 43,823x + 31,78$	0,9216	2,66	Sensível
96	$y = 43,527x + 35,269$	0,9329	2,18	Sensível
97	$y = 42,018x + 38,542$	0,8855	1,87	Sensível
98	$y = 46,973x + 31,31$	0,9225	2,50	Sensível
99	$y = 63,753x - 152,66$	0,9755	1509,49	Resistente
100	$y = 40,577x + 41,398$	0,889	1,63	Sensível
101	$y = 39,778x + 47,864$	0,8073	1,13	Sensível
102	$y = 38,377x + 35,403$	0,9978	2,40	Sensível
103	$y = 68,204x - 164,29$	0,9005	1386,43	Resistente

Foram avaliadas características do micélio, cor, velocidade de crescimento, densidade da colônia na placa de Petri, tempo para formação de escleródios, quantidade, peso e forma dos escleródios formados, além de agressividade em trifólios destacados de feijão e soja. Nenhuma característica permitiu separar os isolados resistentes a tiofanato metílico do resto da população.

(Tabela 10). Isso sugere que possuem aptidão parasitaria suficiente para competir com os isolados sensíveis em condições de campo.

Tabela 10 - Relação dos isolados, características de micélio, escleródios, agressividade, concentração de tiofanato metílico que inibe 50% do crescimento micelial e diagnostico da resistência.

ID	<i>Micélio</i>			<i>Escleródios</i>			<i>Agressividade</i>			<i>CI50</i>	<i>D*</i>
	IVCM	Cor	Dens.	TFE	Nº	Peso (mg)	Forma	Feijão	Soja		
SS75	1,02	BE	IR	5,0	23,0	170,0	AR	399	402	6,26	S
SS76	1,12	M/P	IR	5,2	28,0	336,7	AR	364	408	989,82	R
SS77	1,12	BR	RA	5,3	38,3	286,7	AR	574	669	1242,94	R
SS78	1,05	BR	IR	4,8	35,7	193,3	AR	522	393	1469,99	R
SS79	0,59	BE	AB	7,5	36,7	186,7	AR	315	395	1,63	S
SS80	1,14	BR	RA	4,7	32,3	183,3	AR	645	619	1,84	S
SS81	1,19	M/P	IR	5,2	32,0	136,7	AR	505	632	2,53	S
SS82	1,06	BR	IR	5,8	28,7	173,3	DI	270	532	2,88	S
SS83	1,12	BE	RA	5,3	31,7	170,0	AR	519	617	2,07	S
SS84	1,11	BE	IR	5,5	25,3	283,3	AR	648	663	2666,76	R
SS85	1,32	BR	RA	4,7	35,3	220,0	AR	455	506	3,29	S
SS86	1,06	BR	RA	5,0	27,0	243,3	AR	327	318	1351,61	R
SS87	1,05	BR	RA	5,3	26,7	146,7	AR	413	287	10,53	S
SS88	1,10	BR	RA	4,7	24,3	343,3	AR	496	316	2,05	S
SS89	1,09	BE	IR	4,8	30,7	833,3	AR	425	574	4,07	S
SS90	1,05	BR	RA	5,3	36,7	320,0	AR	416	485	2,09	S
SS91	1,04	BR	RA	5,3	40,3	536,7	AR	289	412	1,75	S
SS92	1,09	BR	RA	6,0	33,7	126,7	AR	453	469	3,22	S
SS93	1,05	BE	IR	5,3	33,3	313,3	AR	246	529	2,96	S
SS94	1,28	BR	RA	4,7	35,7	353,3	AR	217	526	2,07	S
SS95	0,79	BE	IR	6,3	31,7	116,7	DI	276	450	2,66	S
SS96	1,07	BE	IR	5,3	29,7	116,7	DI	421	500	2,18	S
SS97	0,86	M/P	IR	5,8	30,0	900,0	DI	448	577	1,87	S
SS98	1,18	M/P	IR	5,2	20,3	766,7	IR	585	534	2,50	S
SS99	1,29	BR	RA	4,7	22,0	333,3	AR	468	639	1509,49	R
SS100	1,05	BR	IR	6,0	33,7	373,3	DI	246	485	1,63	S
SS101	0,94	BR	RA	5,8	26,3	543,3	DI	289	531	1,13	S
SS102	1,07	BE	IR	5,3	30,0	340,0	AR	325	528	2,40	S
SS103	1,15	BR	IR	4,8	36,0	603,3	AR	553	538	1386,43	R

* Diagnostico em relação ao tiofanato metílico – S = suscetível; R = resistente

Nas áreas onde foram encontrados isolados resistentes, há necessidade de acompanhamento, a fim de reduzir a probabilidade de aumento na frequência de isolados resistentes, para isso, devem ser aplicadas as estratégias anti-resistencia criadas pelo FRAC, que incluem: não utilizar fungicidas com mecanismo de ação específico isoladamente e sequencialmente; restringir o número de aplicações dos fungicidas sistêmicos a um mínimo por safra e aplicar somente quando estritamente necessário, concentrando-se em períodos de alto risco de infecção; alternância de fungicidas sistêmicos com fungicidas protetores; manter a dose recomendada pelo fabricante; realizar o manejo integrado de doenças;

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- a) A população avaliada apresentou ampla variabilidade para as características morfológicas e fisiológicas avaliadas. No entanto, não havia nenhuma indicação de existência de grupos ou categorias comuns que pudessem ser relacionadas com a origem dos isolados;
- b) Os isolados avaliados apresentaram diferentes níveis de agressividade; a utilização dos isolados mais agressivos nos programas de melhoramento genético é fundamental para discriminar as linhagens quanto à resistência ao mofo branco;
- c) Não foi encontrado nenhum isolado resistente ao fluazinam. Na população a variação na CI_{50} foi de 0,00173 ppm a 0,01284 ppm;
- d) Não foi encontrado nenhum isolado resistente a procimidona. Na população a variação na CI_{50} de 0,12223 ppm a 0,35916 ppm;
- e) Foram encontrados sete isolados resistentes ao tiofanato metílico, com CI_{50} variando de 990-2667 ppm. Na população sensível o valor variou de 0,49 - 3,73 ppm. Os isolados resistentes possuem aptidão parasitária suficiente para competir com os isolados sensíveis em condições de campo.

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v.69, n.8, p.899-903, 1979.
- ABREU, M.J. **Caracterização de isolados do agente causal do mofo branco do feijoeiro**. 73p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.8, p.896-899, 1979.
- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4th . ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.246-406.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- AKRAM, A.; IQBAL, S.M.; AHMED, N.; IQBAL, U.; GHAFOR, A. Morphological variability and mycelial compatibility among the isolates of *Sclerotinia Sclerotiorum* associated with stem rot of chickpea. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi. v.40, p.2663-2668, 2008.
- ALBERTINI, C.; GREDT, M.; LEROUX, P. Mutations of the β -tubulin gene associated with different phenotypes of benzimidazole resistance in the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, Massachusetts. v.64, p.17-31, 1999.
- ALFONSO, C.R.; RAPOSO, R.E.; MELGAREJO, P. Genetic diversity in *Botrytis cinerea* populations on vegetable crops in greenhouse in south eastern Spain, **Plant Pathology**, Oxford, v.49, p.243-251, 2000.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. E. V.; HENNING, A. A. Doenças de Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2. p.569-588.
- ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.S. (Ed.). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 339p.
- AMORIM, L. Sobrevivência do inóculo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1995. v.1, p.246-267.
- AMSELEM, J.; CUOMO, C.A.; VAN KAN, J.A.L. Genomic Analysis of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. **PLoS Genetics**, San Francisco. v. 7, p.1-27.,2011.
- ATTANAYAKE, R.N.; PORTER, L.; JOHNSON, D.A.; CHEN, W. Genetic and phenotypic diversity and random association of DNA markers of isolates of the fungal

plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* from soil on a fine geographic scale. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford. v. 55 p.8–36, 2012.

AZEVEDO, L.A.S. **Fungicidas sistêmicos**: teoria e prática. Fundamentos para o uso racional. Campinas: Emopi Gráfica Editora , 2007. 290p.

BAG, T.K. Notes on the variation of sclerotial structure of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary, incitant of cabbage head rot. **ENVIS Bulletin**: Himalayan Ecology, Uttarakhand, , v. 7, n. 1, 41p. 1999 . Disponível em: <<http://gbpihedenviis.nic.in/html/vol71/NOTES%20ON%20THE%20VARIATION.pdf>>. Acesso em: 12 mai 2013.

BAILEY, J.A. (Ed.). **Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. 467 p.

BARALDI, E.; MARI, M.; CHIERICI, E.; PONDRELLI, M.; BERTOLINI, P.; PRATELLA, G.C. Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. **Plant Pathology**, Oxford. v. 52, p.362–370, 2003.

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

BEN-YEPHET, Y.; GENIZI, A.; SITI E. Sclerotial survival and apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum* following outbreaks of lettuce drop. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, p.509-513, 1993

BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v.7, p.249-260, 2004.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2012. (Documentos,88)

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

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

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plants of hostes *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Pathology, Ontario** v.16, n.1, p.93-108, 1994. BOLLEN, G.J.; SCHOLTEN, G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen. v.77, p.83-90, 1971.

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

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., **Resumos...** Poços de Caldas: [s.n.], 1997.p. 252.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília: MAPA, 2009.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. **Fungicide resistance in crop pathogens**: How can it be managed? FRAC. Brussels, Belgium. 2007. 56p.

BRENT, K.J. **Fungicide resistance in crop pathogens**: how can it be managed? Brussels: FRAC, 1995. 56 p. (Monograph ,1)

CAFÉ FILHO, A.C. Alerta aos produtores de ervilha - podridão-de-sclerotinia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.3, n.2, p.57, 1985.

CAMARGO, M.P. **Sclerotinia sclerotiorum em sementes de soja**: sobrevivência, efeito na germinação, tamanho de amostra para análise e eficiência *in vitro* de fungicidas. 2013. 77p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.C.P. **Manejo do mofo branco na cultura da soja**. (2009) Disponível em: <<http://www.fundacaomt.com.br/eventos/download.php>>. Acesso em: 4 jun. 2016.

CAMPOS, H.D.; SILVA, L.H.C.P.; SILVA, J.R.C. Manejo das principais doenças fúngicas da soja. **Atualidades Agrícolas**, São Bernardo dos Campos, v.5, n.2, p.20-28, ago.2005.

CARBONE, I.; ANDERSON, J.B.; KOHN, L.M. Patterns of descent in clonal lineages and their multilocus fingerprints are resolved with combined gene genealogies. **Evolution**, Brussels, v.53, p.11-21, 1999.

CARNEIRO, F.F.; SANTOS, J.B.; GONÇALVES, P.R.C. ANTONIO, R.P.; SOUZA, T.P. 2011. Genetics of common bean resistance to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Viçosa. v. 11, p.165-173, 2011.

CARVALHO, M. L. M.; PINHO, E. V.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. **Manual do amostrador de sementes**. Lavras -MG: Associação Brasileira de Tecnologia de Semente, Comitê de Vigor de Sementes. 2011. 91p.

CASALE, W.L.; HART, L.P. Influence of Four Herbicides on Carpogenic Germination and Apothecium Development of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.76, p.980-984, 1986.

CASSIOLATO, A.M.R. Ecologia de fungos fitopatogênicos formadores de escleródios. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna-SP: Embrapa – CNPDA, 1998. 488p.

CHARCAR, M. J. D. A.; NASSER, L. C. B.; BARRETO, A. J. L.; VIVALDI, L.H. Efeito de diferentes praticas culturais no controle de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do feijoeiro irrigado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16, suplemento 20, 1991. 23p.

CHARCHAR, M.J.D.; ANJOS, J.R.N.; OSSIP, O. Ocorrência de nova doença do algodoeiro irrigado, no Brasil, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.34, p.1101-1106, 1999.

CHAVES, G.M. Estudos sobre *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Experientiae**, Viçosa, v.4, n.2, p.69-133, 1964.

CHUN, D.; KAO, L. B.; LOCKWOOD, J. L.; ISLEIB, T. G.. Laboratory and field assessment of resistance in soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.71, p.811-814, 1987.

CLARK, E.M.; BACKMAN, P.A. ; KABANA, R.R. Cercospora and Cercosporidium tolerance to benomyl and related fungicides in Alabama peanuts fields. **Phytopathology** , Saint Paul, v.64,p.1476-1477, 1974.

CLARKSON, J.; SCRUBY, A.; MEAD, A.; WRIGHT, C.; SMITH, B.; WHIPPS, J. M. Integrated control of Allium white rot with *Trichoderma viride*, tebuconazole and composted onion waste. **Plant Pathology**, Saint Paul, v.55, p. 375-386, 2006.

CLARKSON, J. P.; STRAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C. S.; WHIPPS, J. M. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Cambridge, v.107, p. 213-222, 2003.

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

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. Minnesota, U.S.A.: The American Phytopathological Society, 1983. 539p.

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, p. 250- 255, 1975.

COOK, D.E.L.; LEES, A.K. Markes, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p. 692-704, 2004.

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 Parnaíba – MG**. 1989. 59p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1989.

COSTA, G.R.; COSTA, J.L. da S. Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.4, p.133-138, 2004.

COSTA NETO, J.P. Fungos do Rio Grande do Sul observados nos anos 1940-41. Boletim da Secretaria de Agricultura, Porto Alegre, n.99.p.11, 1943.

COSTA NETO, J.P. Ocorrência e forma apotecial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) Mass. No Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Agronomia**, Porto Alegre, v.17, p.109-112, 1954.

_____. **Parasitos de plantas cultivadas no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1947. 16p.

COSTA, J.L.; RAVA, C. A Influência da braquiária no manejo de doenças do feijoeiro com origem no solo. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F.; AIDAR, H. (Ed.). **Integração Lavoura-Pecuária**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p.523-534.

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.

DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. Antracnose. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. (Ed.). **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: UEPG, 2010. p.49-56.

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

DANN, E.K.; DIERS, B.W.; HAMMERSCHMIDT, R. Suppression of *sclerotinia* stem rot of soybean by lactofen herbicide treatment. **Phytopathology**, Lancaster, v.89, n.7, p.598- 602, 1999.

DAVIS, W.H. Drop of Chinese cabbage and our common cabbage caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) massee (*Sclerotinia libertiana* Fckl.). **Phytopathology**, Lancaster v.15, p.249-259, 1925.

DEKKER, J. Resistance. In: MARSH, R.W.(Ed). **Systemic fungicides**, 2nd ed. London, Logeman, 1977. p. 176-197.

DELP, C.J. Coping with resistance to plant disease control agents. **Plant Diseases**, Saint Paul, v. 64, p.652-657, 1980.

DELP, C.P. **Fungicide resistance in North America**. Saint Paul: APS Press, 1988.

DEMANT, C.A.R. Mofo branco e seu manejo no Oeste baiano. **Boletim Passarela da Soja**. Luis Eduardo Magalhães, v.2, n.2, 2010. 32p.

DICKMAN, M.B.; MITRA, A. Arabidopsis thaliana as a model for studying *Sclerotinia sclerotiorum* pathogenesis. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.41, p.255-263, 1992.

DICKSON. **Studies on *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB) de Bary**. 1930. Cornell Univ., Ithaca-NY, 1930. 91p.

DONALDSON, P. A.; ANDERSON, T.; LANE, B. G.; DAVIDSON, A. L.; SIMMONDS, D. H. Soybean plants expressing an active oligomeric oxalate oxidase from the wheat *gf-2.8* (germin) gene are resistant to the oxalate-secreting pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiological Molecular Plant Pathology**, London, v.59, p.297-307, 2001.

DUNIWAY, J.M.; ABAWI, G.S.; STEADMAN, J.R. Influence of soil moisture on the production of apothecia by *Whetzelinia sclerotiorum*. (Abstr). **Proceedings of the American Phytopathological Society**, Saint Paul, v.4, p.115, 1977.

EDGINGTON, L.V.; MARTIN, R.A.; BRUIN, G.C.; PARSONS, I.M. Systemic Fungicides: A Perspective After 10 Years. **Plant Disease**, Saint Paul v. 64, n1, p. 19-23, 1980.

EHR, R.J.; KEMMITT, G. **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosciences, 2002.136p.

EKINS, M.; HAYDEN, H.; AITKEN, E.; GOULTER, K. Population structure of *Sclerotinia sclerotiorum* on sunflower in Australia. **Australasian Plant Pathology**, Murdoch, v.40, p.99-108, 2011.

ESKER, P.; PELTIER, A.; BRADLEY, C.; CHILVERS, M.; MALVICK, D.; MUELLER, D.; WISE, K. **Management of White mold in soybean**. [S.l.]: North Central Soybean Research Program, 2011. Disponível em: http://planthealth.info/pdf_docs/whitemold_NCSRP.pdf. Acesso em: 28 maio 2016.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Fungicide resistance: definitions and use of terms. **OEPP/EPPO Bulletin**, Paris, v. 18, n. 4, p. 569-571, 1988.

FERNANDES, N. T.; PAULA JÚNIOR, T. J.; ZAMBOLIN, L.; SILVA, A. A.; CHAVES, G. M. Efeito de herbicidas e fungicidas sobre a germinação de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, Supl., p.327, 1994.

FERRAZ, L.C.L. **Práticas culturais para o manejo de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em feijoeiro**. 2001. 154p. Tese (Doutorado em Ciências) -Escola Superior de Agricultura "Luiz de Quieróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 2001.

FERRAZ, L. C. L.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; NASSER, L. C. B. Viabilidade de *Sclerotinia sclerotiorum* após a solarização do solo na presença de cobertura morta. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.17-26, 2003.

FERRAZ, L. C. L.; CAFÉ FILHO, A. C.; NASSER, L. C. B.; AZEVEDO, J. Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, Chichester, v.48, n.1, p.77-82, 1999.

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

FIGUEIREDO, G. S.; FIGUEIREDO, L. C.; CAVALCANTI, F. C. N.; SANTOS, A. C.; COSTA, A. F.; OLIVEIRA, N. T. Biological and chemical control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. And *Ulocladium atrum* and pathogenicity to bean plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 56, n.1, p.1-9. 2010.

FOKKEMA, N.J.; GERLAGH, M.; KOHL, J. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis* spp. In: TJAMOS, E.C.; PAPAVIZAS, G.C.; COOK, R.J. **Biological control of plant disease: progress and challenges for the future**. New York: Plenum Press, 1992. p.267-271.

FORSTER, R.L. Delayed applications of Topsin M fungicide via center-pivot sprinkler for white mold control in dry beans, 1982. **Fungicide and Nematicide Tests**, Ithaca, v.38, p.90, 1983.

FRAC. Fungicide **Resistance Action Committe. FRAC fungicide list (2). Sorted by mode of action**. Disponível em: <http://www.frac.info/publications/frac_list02.html>. Acesso em: 18 jul. 2003.

FUCKEL, L. **Symbolae Mycologicae**. Jahrbuecher des Nassaurischen Vereins fuer Naturkund, 1869. 42p.

FURLAN, S.H. Mofo branco. In: LEMES, E.; CASTRO, L.; ASSIS, L. **Doenças da Soja: Melhoramento genético e técnicas de manejo**. Campinas: Editora Millennium, 2015, 384p.

GARCIA, R.A. **Produção de inóculo, efeitos de extratos vegetais e de fungicidas e a reação de genótipos de soja a *Sclerotinia sclerotiorum***. 2008. 154p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; CASSEMIRO, T. A. Produção de escleródios de *sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary em meio de cultura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, p. 1-7, 2012.

GHINI, R. KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GHINI, R. KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de *Botrytis squarrosa* resistentes a fungicidas do grupo dos benzimidazóis e dicarboximidas. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.15,p.246-256 1989.

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

GODOY, G.; STEADMAN, J. R.; DICKMAN, M. R.; DAM, R. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.37, p.179-191, 1990.

GONÇALVES, P.R.C.; SANTOS, J.B. dos. Physiological resistance of common bean cultivares and lines to White mold based on oxalic acid reaction. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v.53, p.236-237, 2010.

GÖRGEN, C. A.; HIKISHIMA, M.; SILVEIRA NETA, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. **Soja: Doenças radiculares e de hastes e inter-relações como o manejo do solo e da cultura**. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2010. p.73-104.

GRABICOSKI, E.M.G. **Caracterização morfológica e patogênica de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary e detecção em sementes de soja**. 2012. 138p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

GRAU, C.R.; RADKE, V.L. Effects of cultivars and cultural practices on *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Plant Disease**, Saint Paul, v.68, p.56-58, 1984.

GRAU, C.R. *Sclerotinia* stem rot of soybean. In: Soybean Diseases of the North Central Region WYLLIE, T.D.; SCOTT, D.H. **The American Phytopathological Society**, Saint Paul, p. 56-66, 1988.

GUIMARÃES, R.L.; STOTZ, H.U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Physiology**, Washington, v.136, p.3703-3711, 2004.

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

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

HENNING, A. A.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LORINI, I. **Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La Niña”**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8p. (Circular Técnica, 82).

_____. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 51p. (Documentos, 235).

HEWITT, H.G. **Fungicides in crop protection**. Oxon, UK: CAB International, 1998. 200p.

HOFFMAN, D. D.; HARTMAN, G. L.; MUELLER, D. S.; LEITS, R. A.; NICKELL, C. D.; PEDERSEN, W, L. Yield and seed quality of soybean cultivars infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, p.826-829, 1998.

HOMECHIN, M. Antagonismo do fungo *Trichoderma* sp., sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, "IN VITRO". In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de soja 1981/82**. Londrina: Embrapa, 1982. p.213-215.

HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. **Plant Disease: An Advanced Treatise**. How diseases develop in populations. New York: Academic Press, 1980. v.2.

HU, X.; BIDNEY, D. L.; YALPANI, N.; CRASTA, O.; LU, G. H. Overexpression of a gene encoding hydrogen peroxide-generating oxalate oxidase evokes defense responses in sunflower. **Plant Physiology**. Washington, v.133, p.170-181, 2003.

HUANG, H.C.; KEMP, G.A. Growth habitat of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and incidence of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Plant Protection Bulletin**, Taiwan, v.31, n.3, p.304-309, 1989.

HUNTER, J.E.; ABAWI, G.S.; CROSIER, D.C. Effects of timing, coverage, and spray oil content on control of white mold of snap bean with benomyl. **Plant Disease**, Saint Paul, v.62, p.633-322, 1978.

HUNTER, E.; PEARSON, R. C.; SEEM, R. C.; SMITH, C. A.; PALUMBO, D.R. Relationship between soil moisture and occurrence of *Sclerotinia* and white disease on snap beans. **Journal of Environmental Protection and Ecology**, Thessaloniki, v.7, p.269-280, 1984.

HUTSON, D.; MIYAMOTO, J. **Fungicidal activity – chemical and biological approaches to plant protection**. West Sussex, UK: John Wiley, 1998. 266p.

IMOLEHIN, E.D.; GROGAN, R.G. Factors affecting survival of sclerotia and effects of inoculum density, relative position and distance of sclerotia from the host on infection of lettuce by *Sclerotinia minor*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, p.1162-1167, 1980.

INBAR J.; CHET, I. Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibers. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.174, p.1055-1059, 1992.

Index fungorum. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org>>, acessado em julho de 2016.

JONES, E.E.; STEWART, A.; WHIPPS, J.M. Water potential affects *Coniothyrium minitans* growth, germination and parasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **Fungal Biology**, Scotland, v.115, p.871-881, 2011.

KERR, E.D.; STEADMAN, J.R.; NELSON, L.A. Estimation of White mold disease reduction of yield and yield components of edible beans. **Crop Science**, Madison, v.18, n.2, p.275-279, Mar./Apr. 1978.

KESARWANI, M.; AZAM, M.; NATARAJAN, K.; MEHTA, A.; DATTA, A. Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*. Molecular cloning and its overexpression to confer resistance to fungal infection in transgenic tobacco and tomato. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.275, p.7230-7238, 2000.

KIM, H. S.; HARTMAN, G. L.; MANANDHAR, J. B.; GRAEF, G. L.; STEADMAN, J. R.; DIERS, B. W. Reaction of soybean cultivars to *sclerotinia* stem rot in field, greenhouse, and laboratory evaluations. **Crop Science**, Madison, v.40, p.665-669, 2000.

KIM, H.S.; Diers, B.W. Inheritance of partial resistance to sclerotinia stem rot in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 40, p.55–61, 2000.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. R. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2.

KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. cap. 35.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. Princípios Gerais de Controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. cap. 34, p. 692-709.

KIMURA, Y.; TANI, K.; KOJIMA, A.; SOTOMA, G.; OKADA, K.; SHIMADA, A. citar todos et al. Cyclo-(L-tryptophyl-L-phenylalanyl), a plant growth regulator produced by the fungus *Penicillium* sp. **Phytochemistry**, New York, v.41, n.3, p.665-669, 1996.

KOENRAADT, H.; SOMERVILLE, S.C.; JONES, A.L. Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, p.1348-1354, 1992.

KOHLI, Y.; BRUNNER, L.; YOELL, H.; MILGROOM, M.; ANDERSON, J.; MORRALL, R.; KOHN, L. Clonal dispersal and spatial mixing in populations of the plant pathogenic fungus, *Sclerotinia sclerotiorum*. **Molecular Ecology**, Oxford, v.4, p.69-77, 1995.

KOHN, L.M. A monographic of the genus *Sclerotinia*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 9, p.365-444, 1979.

KOHN, L. M.; SCHAFFER, M. R.; ANDERSON, J. B.; GRUNWALD, N. J. Marker stability throughout 400 days of in vitro hyphal growth in the filamentous ascomycete, *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v.45, p.613-617, 2008.

KOHN, L.M.; PETSCHKE, D.M.; BAILEY, S.R.; VAK, L.A.; ANDERSON, J. B. Restriction fragment length polymorphisms in nuclear and mitochondrial DNA of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 78, p. 1047-105, 1988.

KOMYOJI, T.; SUGIMOTO, K.; MITANI, S.; MATSUO, N.; SUZUKI, K. Biological properties of a new fungicide, fluazinam. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.20, n.2, p.129-135, 1995.

KORA, C.; McDONALD, M.R.; BOLAND, G.J. Sclerotinia rot of carrot: an example of phenological adaptation and bicyclic development by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.87, p.456-470, 2003.

KREYCI, P.K.; MENTEN, J.O. Limitadoras de produtividade. **Technical Report**, São Paulo, v.167, , 2013.

KRUGNER, T.L.; BACHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. cap.19, p. 46-95.

KULL, L. S.; VUONG, T. D.; POWERS, K. S.; ESKRIDGE, K. M.; STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, Saint Paul, v.87, p.1471-1476, 2003.

KULL, L. S.; PEDERSEN, W. L.; PALMQUIST, D.; HARTMAN, G. L. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.88, p.325-332, 2004.

LAMONDIA, J.; DOUGLAS, S. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from Connecticut greenhouses to benzimidazole and dicarboximide fungicides. **Plant Disease**, Saint Paul, v.81, p.729-732, 1997.

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

LEE, C.D.; PENNER, D.; HAMMERSCHMIDT, R. Influence of formulated glyphosate and activator adjuvants on *Sclerotinia sclerotiorum* in glyphosate-resistant and susceptible *Glycine max*. **Weed Science**, Lawrence, v.48, n.6, p.710-715, 2000.

LEHNER, M.S. **Analysis of the population structure of *Sclerotinia sclerotiorum* causing white mold on common bean in Brazil**. 82p.Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2015.

LEHNER, M.S.; PAULA JUNIOR, T.J.; HORA JUNIOR, B.T.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R.F.; CARNEIRO, J.E.S.; MIZUBUTI, E.S.G. Low genetic variability in *Sclerotinia sclerotiorum* populations from common bean fields in Minas Gerais State, Brazil, at regional, local and micro scales. **Plant Pathology**, Oxford, v.64, p.921-931, 2015.

LEHNER, M.S.; PETHYBRIDGE, S.J.; MEYER, M.C.; DEL PONTE, E.M. Meta-analytic model of the incidence yield and incidence sclerotial production relationship in soybean white mold epidemics. **Plant Pathology**, Oxford, 2016.

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

LI, H.; ZHOU, M. Rapid identification of carbendazim resistant strain of *Sclerotinia sclerotiorum* using allele specific oligonucleotide (ASO)- PCR. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v.37, n.9, p.1396-1399, 2004.

LIM, T.H.; CHA, B. Distribution of *Monilinia fructicola* isolates resistant to dicarboximide or to both procymidone and carbendazim in Korea. **Plant Pathology**, Oxford, v. 19 p. 46–50, 2003.

LIU, Y.; LIU, H.; LI, X.; HAN, J.; LIU, H. Biological, physiological and biochemical characteristics of procymidone-resistant *Sclerotinia sclerotiorum*. **Chinese Agriculture Science Bulletin**, Taiwan, v. 26, p. 277-281, 2010.

LIVINGSTONE, D. M.; HAMPTON, J. L.; PHIPPS, P. M.; GRABAU, E. A. Enhancing resistance to *Sclerotinia minor* in peanut by expressing a barley oxalate oxidase gene. **Plant Physiology**, Washington, v.137, p.1354-1362, 2005.

LOBO JR.,M. Alien plant pathogens in Brazil. In Pimentel, D. Biological Invasions Economic and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species. **CRC PRESS**, Boca Raton, v.5, p. 69-88, 2002.

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

LUMSDEN, R.D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Lancaster, v.69, p.890-896, 1979.

LYNCH, J.M. In vitro identification of *Trichoderma harzianum* as a potential antagonist of plant pathogens. **Current Microbiology**, New York, v.16, p.49-53, 1987.

LYR, H. **Modern selective** fungicides – properties, applications, mechanisms of action. New York: Gustav Fischer Verlag, 1995. 387p.

MA, H.X.; FENG, X.J.; CHEN, Y.; CHEN, C.J.; ZHOU, M.G. Occurrence and characterization of dimethachlon insensitivity in *Sclerotinia sclerotiorum* in Jiangsu Province of China.**Plant Disease**, Saint Paul, v. 93,p.36–42, 2009.

MA, Z.; MICHAILIDES, T.J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, Guildford, v. 24,p.853–863, 2005.

MARCIANO, P.; DI LENNA, P.; MAGRO, P. Oxalic acid, cell wall-degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. **Physiological Plant Pathology**, London, v.22, p.339-345, 1983.

MARIOTTO, P.R. Ocorrência de resistência a Benomil em *Cercosporidium personatum* (Berk & Kurt) Delghton, no Estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, v.51,p.315-317, 1985.

MATHERON; M.E.; PORCHAS, E. Activity of boscalid, fenhexamid, fluazinam, fludioxonil, and vinclozolin on growth of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* and development of lettuce drop. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 6, p. 665-668, 2004.

MCDONALD, B.A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica** , Wageningen, v.124, p.163-180, 2002.

MCKAY, G.J.; COOK, LR. A PCR-based method to characterize and identify benzimidazole resistance in *Helminthosporium solani*. **FEMS Microbiology**, Amsterdam, v.152, p.371-378, 1997.

MCKAY, G.J.; EGAN, D.; MORRIS, E.; BROWN, A.E. Identification of benzimidazole resistance in *Cladobotryum dendroides* using a PCR-based method. **Mycological Research**, Cambridge, , v. 102, p.671-676,1998.

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

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. Evolução dos produtos fitossanitários para tratamento de sementes no Brasil. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV; DFP, 2005. cap. 12, p.333-374.

MENTEN, J.O.M. **Prejuízo causado por patógenos associados às sementes in Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Agro, 1995. 321p.

MENTEN, J.O.M.; CALAÇA, H.; KREYCI, P. Situação atual e perspectivas do uso de produtos químicos no manejo do “mofo branco”. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO.2012. Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa - Paraná. 16-19 jul. 2012. 1CD-ROM.

MERT-TÜRK, F.; IPEK, M.; MERMER, D.; NICHOLSON, P. Microsatellite and morphological markers reveal genetic variation within a population of *Sclerotinia sclerotiorum* from oilseed rape in the Çanakkale Province of Turkey. **Journal of Phytopathology**,Berlin, v.155, p.182-187, 2007.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MACHADO, A. Q.; PIMENTA, C. B.**Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2013/2014 – resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. p.1-4 (Circular Técnica, 109).

MEYER, M.C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo-branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100p.

MICHEREFF, S.J.; PERUCH, L.A.M.; ANDRADE, D.E.G.T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. (Ed.). **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. 368p.

MIKLAS, P. N.; HAUF, D. C.; HENSON, R. A.; GRAFTON, K. F. Inheritance of ICA Bunsiderived resistance in a navy x pinto bean cross. **Crop Science**, Madison, v.44, p.1584-1588, 2004.

MIKLAS, P.N.; DELORME, R.; HANNAN, R.; DICKSON, M. Using a subsample of the core collection to identify new sources of resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 2, p. 569-573, 1999.

MIRANDA, E.R.R.; LOBO JUNIOR, 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.

MORRALL, R.A.A.; DUCZEK, J.; SHEAR, J.W. Variations and correlations within and between morphology, pathogenicity, and pectolytic enzyme activity in *Sclerotinia* from Saskatchewan. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.50, p.767-786, 1972.

MUELLER, J. D.; CLINE, M. N.; SINCLAIR, J. B.; JACOBSEN, B. J. An in vitro test for evaluating efficacy of mycoparasites on sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.69, n.7, p.584-587, 1985.

MUELLER, D.S.; HARTMAN, G.L.; PEDERSEN, W. L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**, Saint Paul, v.83, p.1113-1115, 1999.

MUELLER, D.S.; DERKSEN, R.C.; OZKAN, E. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential for control of *Sclerotinia* stem rot on soybean. **Plant Disease**, Saint Paul, v.86, n.1, p.26-31, jan. 2002.

MUELLER, D. S.; BRADLEY, C. A.; GRAU, C. R.; GASKA, J. M.; KURLE, J. E.; PEDERSEN, W. L. Application of thiophanate-methyl at different host growth stages for management of sclerotinia stem rot in soybean. **Crop protection**, Guildford, v.23, p.983-988, 2004.

NAPOLEÃO, R.L. **Efeito do sistema de plantio, da irrigação e do espaçamento sobre o mofo-branco do feijoeiro, causado por *Sclerotinia sclerotiorum***. 2001. 70p.. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - UNB, Instituto de Ciências Biológicas, Brasília, 2001.

NAS. **Insect pest management and control**. Publ. 1695. Washington: National Academy of Sciences, 1969.424p.

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

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

NELSON, B.1998. Biology of *Sclerotinia*. In: **Proceedings of the 10th International Sclerotinia workshop**, Fargo, ND, USA. North Dakota State University Department of Plant Pathology, Fargo, ND, pp. 1–5, 1988.

NENE, Y.L. ;THAPLIYAL, P.N. Sistemic fungicides. In: **FUNGICIDES IN PLANT DISEASE CONTROL**. 2nd .ed. New Delhi, Oxford & IBH Publishing1979.. p.212-349.

OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino** (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). 1991. 111p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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, eficiência e modo de aplicação em campo**. 1998. 74p. Tese (Doutorado em Agricultura) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, 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. **Resumo...** Itajaí: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1994. p.316.

OTTO-HANSON, L. et al. Variation in *Sclerotinia sclerotiorum* bean isolates from multisite resistance screening locations. *Plant Disease*, v.95, p.1370-1377, 2011.

PAN, Y.L.; WANG, Z.; WU, Z.H. Resistance to carbendazim in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Chinese Journal of Oil Crop Science**, Beijing, v.19, n.1, p.67-68, 1997.

PARIUAD, B; RAVIGNÉ, V.; HALKETT, F.; GOYEAU, H.; CARLIER, J.; LANNOU, C. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. **Plant Pathology**, Oxford, v.58, p.409-424, 2009.

PARK, S.J. Response of bush and upright plant type selections to white mold and seed yield of common beans grown in various row widths in southern Ontario. **Canadian Journal of Plant Science**, Ontario, v.73, n.1, p.265-272, 1993.

PASCUAL, A.; CAMPA, A.; PEREZ-VEGA, E.; GIRALDEZ, R.; MIKLAS, P. N.; FERREIRA, J. J. Screening common bean for resistance to four *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected in Northern Spain. **Plant Disease**, Saint Paul, v.94, p.885-890, 2010.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. A. B.; CARNEIRO, J. E. S. Mofo-Branco. In: PRIA, M.D.; SILVA, O.C. **Cultura do Feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: UEPG, 2010. p.101-299.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; MORANDI, M. A. B.; CARNEIRO, J. E. S.; ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado do mofo-branco do feijoeiro**. Viçosa: Epamig, 2006. 48p.

PAULA JÚNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; ROCHA, P.R.R.; BERNARDES, A.; COSTA, E.L.; CARNEIRO, J.E.S.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.35, p.44-48, 2009.

PELTIER, A.J.; BRADLEY, C.A.; CHILVERS, M.I.; MALVICK, D.K.; MUELLER, D. S.; WISE, K.A.; ESKER, P.D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, Annapolis, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012.

PINTO, N.F.J.A.; COSTA, E.F. Aplicação de fungicida via água de irrigação por aspersão. In: RELATÓRIO Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de **Milho e Sorgo**, 1985-1987. Sete lagoas: Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1986. p. 134.

PITOL, C. Relatos por estado sobre o comportamento da cultura de soja na safra 2007/2008: Mato Grosso do Sul. In: REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 30., 2009. **Ata...** Londrina:EMBRAPA-Soja, 2009. Sessão 2.3. p.24.

PRATT, R.G. Evaluation of foliar clipping treatments for cultural control of *Sclerotinia* crown and stem rot in crimson clover. **Plant Disease**. Saint Paul, p.75:59-62, 1991.

PRATT, R.G.; ROWE, D.E. Evaluation of simplified leaf inoculation procedures for identification of quantitative resistance to *Sclerotinia trifoliorum* in alfalfa seedlings. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, p.1161-1164, 1998.

PURDY, L.H. A broader concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. **Phytopathology**, Saint Paul, v.45, p.421-427, 1955.

_____. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, disease and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. **Phytopathology**, Saint Paul, v.69, n.8, p.875-880, Aug. 1979.

RASHID, K.T.; SWANSON, J. **Seed treatment for the control of sclerotinia basalstalk rot/wilt in sunflower**. Manitoba: Agriculture and Agri-Food Canada, 2008. 2p.

REIS, E.; FORCELINI, C.A. Controle cultural. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1995. p. 710-716.

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

REIS, E. M.; BARUFFI, D.; REMOR, L.; ZANATTA, M. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.1, p.65-67, 2011.

REIS, E.M.; TOMAZINI, S.L. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, no campo, em duas profundidades do solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.1, p.97-99, 2005.

RIOU, C.; FREYSSINET, G.; FEVRE, M. Production of cell wall-degrading enzymes by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v.57, n.5, p.1478-1484, 1991.

ROBERTS, T.; HUDSON, D. **Metabolic pathways of agrochemicals**. Part two, insecticides and fungicides. London: The Royal Society of Chemistry, 1999. 352p.

RUSSEL, P.E. Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management., Cambridge CB2 5AN, UK, 2004. 56p. (FRAC Monograph,3)

SACCÁ, A.R. Algumas moléstias novas e outras pouco conhecidas da batatinha (*Solanum tuberosum*). **Boletim da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo**, São Paulo, v.21, p.741, 1920.

SACCÁ, A. R. Algumas moléstias cryptogâmicas do tabaco. **Boletim Agrônômico**, São Paulo, v.23, p.201-268, 1922.

SACCARDO, P.A. PA 1882-1931. **Sylloge Fungorum**, v. 1, 1987. 25p.

SAITO, I. Studies on the maturation and germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, a causal fungus of bean stem rot. **Report of Hokkaido Prefectural Agricultural Experiment Stations**, Hokkaido, v.26, p.1-106, 1977.

SANTOS MARQUES, J. Compostos ativos de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos contra mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de feijoeiro. 81p. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

SCHROEDER, W.T.; PROVVIDENTI, R. Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 53, p.271-275, 1969.

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

SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R. White mold. In: SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). **Bean production problems in the tropics**. 2nd ed. Cali: CIAT, 1989. 739p.

SCHWARTZ, H.F.; CASCIANO, D.H.; ASENGA, J.A.; WOOD, D.R. Measurement of white mold effects upon dry beans with genetic resistance or upright plant architecture. **Crop Science**, , Madison, v. 27, p.699–702, 1987.

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, Maringá, PR. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. 299p.

SELVARAJ. V.K.; RAJESHKUMAR, P.; NAKKEERAN, S. Developmental biology and infection cycle of *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem rot of carnation in India. **African Journal of Microbiology Research**, Grahamstown, v. 9, p.2328-2336, 2015.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effects of nitrogen fertilization on the expression of slowmildwing in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v.67, p.1051-1055, 1977.

SHI, Z.; ZHOU, M.; YE, Z.; SHI, J.; CHEN, H.; WANG, Y. Resistance monitoring of *Sclerotinia sclerotiorum* to carbendazim. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, Nanjing, v.16, p.226-229, 2000.

STEADMAN, J.R. Control of plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v.69, n.1, p.904-907, 1979.

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

TAMURA, O. Resistance development of grey mould on beans towards fluazinam and relevant countermeasures. In: Abstract of the 10th Symposium of Research Committee of Fungicides Resistance, **The Phytopathological Society of Japan**, Okayama, Japão. p.7-16. 2000.

TERÁN, H.; SINGH, S.P. Efficacy of three greenhouse screening methods for the identification of physiological resistance to white mold in dry bean. **Canadian Journal Plant Pathology**, Ontario, v.89, p.755-762, 2009.

TOMLIN, C.D.S. **The pesticide manual**: a world compendium. 12th ed. Surrey, UK: British Crop Protection Council, 2002.1-CD-ROM.

TORRES, J.C.; VENTURA, J.A. AVACPD: um programa para calcular a área e o volume abaixo da curva de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.16, Suplemento, p.8, 1991.

TOWNSEND, B.B.; WILLETTS, H.J. The development of sclerotia in certain fungi. *Transactions of the British Mycological Society*. v. 37, p. 213-221, 1954.

TU, J.C. Control of white mold of beans. *Agriculture and Agri-Food Canada, Greenhouse and Processing Crops Research Centre, Harrow, Ontario N0R 1G0, Canada*. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v.38, p.73-76, 1997.

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

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

URECH, P.A.; EGLI, T. A. **FRAC: Grupo de Ação de Resistência a Fungicidas: reflexão dez anos após sua criação**. Summa Pthytopathologica, v. 17, p.85-90, 1991.

VALE, F.X.R.; JESUS JÚNIOR, C.D.J.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia Aplicada ao Manejo de Doenças de Plantas**. Belo Horizonte: Perffil, 2004. 532p.

VELUSAMY, P.; IMMANUEL, J. E.; GNANAMANICKAM, S. S.; THOMASHOW, L. Biological control of rice bacterial blight by plant-associated bacteria producing 2,4-diacetylphloroglucinol. **Canadian Journal Microbiology**, Ontario, v.52, p.56-65, 2006.

VENEGAS, F. **Controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do feijoeiro com o fungicida procimidone aplicado em pulverização e fungigação.2006. 62p.** Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

VENETTE, J. *Sclerotinia* spore formation, transport, and infection. In: *Sclerotinia Workshop. Proceedings...*, 1998. Disponível em: <<http://www.ndsu.nodak.edu/plantpath/sclero.htm>> Acesso em: 05jun.2016.

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

_____. Introdução à quimigação. In: COSTA, E.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, P.A. (Ed.). **Quimigação: aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação**. Brasília: EMBRAPA, SPI, 1994. P.13-40.

VIEIRA, R. F.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PERES, A. P.; MACHADO, J. C. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.770-773, 2001.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. Trichoderma-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.40, p.1-10, 2008.

WILLETS, H.J.; WONG, J.A.L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, Bronx, v.46, n.13, p.10-165, Sept. 1980.

WEGULO, S.N.; SUN, P.; MARTINSON, C.S.; YANG, X.B. Spread of *Sclerotinia* stem rot of soybean from area and point sources of apothecial inoculum. **Canadian Journal of Plant Science**, Ontario, v.80, p.389-402, 2000.

WRATHER, J.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; TAN, Y.; PLOPER, L. D.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Burnaby, v.23, n.2, p.115-121, 2001.

YANG JH, PAN YL, ZHU GM, ZHOU YJ, 2004. Mechanism of resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* to carbendazim and diethfencarb. **Journal of Plant Protection**, Kuala Lumpur, v.31, p.74–78, 2004.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W.S.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da resistência de fungos a fungicidas**. Viçosa: UFV; DPF, 2007.168p.

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

ZHANG, X.L.; SUN, X.M.; ZHANG, G.F. Preliminary report on the monitoring of the resistance of *Sclerotinia libertinia* to carbendazim and its internal management. **Chinese Journal Pesticide Science Administration**, Beijing, v.24, p. 18-22, 2003.

ZHOU, F.; ZHU, F.X.; ZHANG, X.L.; ZHANG, A.S. First report of dimethachlon resistance in field isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape in Shaanxi Province of northwestern China. **Plant Disease**, Saint Paul, v.98, n. 4, p.568. 2014

ANEXOS

Anexo A. Relação dos produtos comerciais, ingrediente ativo, e cultura com indicação de uso, registrados para aplicação foliar no controle do mofo branco no Brasil, segundo o Agrofit (2016).

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Cultura
Agata	Fluazinam	Batata, feijão, girassol, soja, tomate
Altima	Fluazinam	Batata, feijão, girassol, soja, tomate
Cantus	Boscalida	Alface, almeirão, batata, berinjela, chicória, feijão, melão, melancia
Carbendazim Nortox	Carbendazim	Soja
Cercobin 700WP	Tiofanato metílico	Berinjela, feijão, melão, melancia, pepino, soja, tomate
Cerconil WP	Clorotalonil + tiofanato metílico	Feijão, melão, melancia, pepino
Cignus	Fluazinam	Batata, feijão, girassol, soja, tomate
Derox	Carbendazim	Soja
Dithiobin 700WP	Mancozebe + tiofanato metílico	Feijão
Fegatex	Cloreto de benzalconio	Feijão, soja
Frowncide 500SC	Fluazinam	Algodão, batata, feijão, girassol, soja, tomate
Legacy	Fluazinam	Batata, feijão, girassol, soja, tomate
Metiltiofan	Tiofanato metílico	Abobora, berinjela, ervilha, feijão-vagem, feijão, girassol, melão, melancia, pepino, tomate
Rovral	Iprodiona	Alface, almeirão, batata, berinjela, chicória, feijão, fumo
Rovral SC	Iprodiona	Alface, feijão
Sialex 500	Procimidona	Algodão, batata, feijão, soja, tomate
Spot SC	Boscalida + dimoxistrobin	Algodão, feijão, girassol, soja
Sumiguard	Procimidona	Alface, soja
Sumilex	Procimidona	Alface, algodão. soja, tomate
Topsin 500SC	Tiofanato metílico	Berinjela, ervilha, feijão-vagem, feijão, melão, melancia, pepino, tomate
Topsin 700	Tiofanato metílico	Berinjela, feijão, melão, melancia, pepino, tomate
Unix 750WG	Ciprodinil	Algodão, feijão, girassol, soja
Signal	Fluazinam	Batata, feijão, soja

Anexo B. Relação dos produtos comerciais, ingrediente ativo, e cultura com indicação de uso, registrados para fungigação no controle do mofo branco no Brasil, segundo o Agrofit (2016).

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Cultura
Agata	Fluazinam	Feijão
Altima	Fluazinam	Feijão
Cignus	Fluazinam	Feijão
Frowncide 500SC	Fluazinam	Feijão
Legacy	Fluazinam	Feijão
Sialex 500	Procimidona	Batata, feijão, tomate
Signal	Fluazinam	Feijão

Anexo C. Relação dos produtos comerciais, ingrediente ativo, e cultura com indicação de uso, registrados para tratamento de sementes no controle do mofo branco no Brasil, segundo o Agrofit (2016).

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Cultura
Certeza	Fluazinam + tiofanato metílico	Feijão, soja
Maxim Advanced	Fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol	Soja

Anexo D. Relação dos produtos comerciais biológicos, ingrediente ativo, e cultura com indicação de uso, registrados para controle do mofo branco no Brasil, segundo o Agrofit (2016).

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Cultura
Ecotrich	<i>Trichoderma harzianum</i>	Alface, soja
Predatox	<i>Trichoderma harzianum</i>	Alface, soja
Quality	<i>Trichoderma asperellum</i>	Soja
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i> linhagem QST 713	Todas as culturas
Trichodermax EC	<i>Trichoderma asperellum</i>	Feijão, soja
Trichodermil SC 1306	<i>Trichoderma harzianum</i>	Soja

Anexo E. Relação dos isolados de *S. sclerotiorum*, safra e local de coleta, cultura de origem e nome do fornecedor.

ID	SAFRA	LOCAL	CULTURA	FORNECEDOR
SS1	2000	Brasília - DF	Feijão	Vitabrás
SS2	2001	Cristalina - GO	Cenoura	Nasser
SS3	2003	Brasília - DF	Cenoura	Nasser
SS4	2006	Montividiu - GO	Soja	Ériston
SS5	2008	Santo Antônio de Posse - SP	Soja	BASF
SS6	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS7	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS8	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS9	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS10	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS11	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS12	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS13	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS14	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS15	2009	Uberlândia - MG	Soja	Nasser
SS16	2010	Jataí - GO	Soja	Marcos Freitas
SS17	2010	Jataí - GO	Soja	Marcos Freitas
SS18	2010	Jataí - GO	Soja	Marcos Freitas
SS19	2010	Cristalina - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS20	2010	Cristalina - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS21	2010	Formosa - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS22	2010	Formosa - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS23	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS24	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS25	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS26	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS27	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS28	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS29	2010	Castelândia - GO	Soja	Marcos / Nasser
SS30	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS31	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS32	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS33	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS34	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS35	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS36	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS37	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS38	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS39	2010	Correntina - BA	Soja	Marcos Freitas
SS40	2010	Viçosa - MG	Feijão	Miller
SS41	2010	Santo Antônio de Posse - SP	Soja	BASF

ID	SAFRA	LOCAL	CULTURA	FORNECEDOR
SS42	2010	Santo Antônio de Posse - SP	Feijão	BASF
SS43	2011	Goiânia - GO	Girassol	Jair
SS44	2011	Coxilha -RS	Soja	Thomas/ Ricardo
SS45	2011	Coxilha -RS	Soja	Thomas/ Ricardo
SS46	2011	Coxilha -RS	Soja	Thomas/ Ricardo
SS47	2011	Passo Fundo - RS	Soja	Thomas
SS48	2011	Passo Fundo - RS	Soja	Thomas
SS49	2011	Campinas - SP	Feijão	Inst. Biológico
SS50	2012	São Miguel do Passa Quatro- GO	Feijão	Meyriele
SS51	2012	São Miguel do Passa Quatro - GO	Soja	Meyriele
SS52	2012	Coimbra - MG	Feijão	Miller
SS53	2012	Coimbra - MG	Feijão	Miller
SS54	2012	Presidente Bernardes - MG	Feijão	Miller
SS55	2012	Oratórios - MG	Feijão	Miller
SS56	2012	Coimbra - MG	Feijão	Miller
SS57	2012	Coimbra - MG	Feijão	Miller
SS58	2012	Viçosa - MG	Feijão	Miller
SS59	2012	Portofirme - MG	Feijão	Miller
SS60	2012	Brasília - DF	Soja	Josi
SS61	2012	Ivaiporã - PR	Couve	Basf
SS62	2012	Vacaria - RS	Soja	Basf
SS63	2012	Cistalina - GO	Soja	Basf
SS64	2012	Viçosa - MG	Feijão	Miller
SS65	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS66	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS67	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS68	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS69	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS70	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS71	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS72	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS73	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS74	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS75	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS76	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS77	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS78	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS79	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS80	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS81	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS82	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS83	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS84	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian

ID	SAFRA	LOCAL	CULTURA	FORNECEDOR
SS85	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS86	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS87	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS88	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS89	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS90	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS91	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS92	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS93	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS94	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS95	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS96	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS97	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS98	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS99	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS100	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS101	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS102	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS103	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS104	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos/ Willian
SS105	2013	Paracatú - MG	Feijão	Nasser/ Willian
SS106	2013	Paracatú - MG	Feijão	Marcos
SS107	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS108	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS109	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS110	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS111	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS112	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS113	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS114	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS115	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS116	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS117	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS118	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS119	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS120	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS121	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS122	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS123	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS124	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS125	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS126	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS127	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian

ID	SAFRA	LOCAL	CULTURA	FORNECEDOR
SS128	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS129	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS130	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS131	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS132	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS133	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS134	2013	Planaltina - GO	Feijão	Nasser/ Willian
SS135	2013	Brasília - DF	Feijão	Nasser
SS136	2013	Cerquilho - SP	Feijão	Gilson/ Valter
SS137	2013	Campos Novos - SC	Soja	Meyriele
SS138	2013	Portofirme - MG	Feijão	Miller
SS139	2013	Canaã - MG	Feijão	Miller
SS140	2013	Vacaria - RS	Soja	Basf
SS141	2014	Formosa - GO	Feijão	Nasser
SS142	2014	Wenceslau Braz - PR	Feijão	Taurino
SS143	2014	Wenceslau Braz - PR	Feijão	Taurino
SS144	2014	Palmas - PR	Feijão	Basf
SS145	2014	Palmas - PR	Feijão	Basf
SS146	2014	Campos - SC	Soja	Ceres
SS147	2014	Campos - SC	Soja	Ceres
SS148	2014	Cristalina - GO	Nabo	David
SS149	2014	Castro - PR	Soja	Basf
SS150	2014	Taquarivai - SP	Soja	Basf/ Fund. ABC

Anexo F. Protocolo de meio de cultura: Batata + Dextrose + Ágar (BDA)

Ingredientes para preparo de 1 litro de meio de cultura:

Batatas cruas – 200g

Dextrose – 20g

Ágar – 18g

Água destilada – 1 litro

Procedimentos:

Descascar, fatiar e pesar 200g de batata e ferver em 0,5 litro de água destilada, até que fique macia. Filtrar o líquido, reservando-o e descartar as batatas cozidas. Colocar o filtrado em frasco Erlenmeyer e adicionar a dextrose e o ágar. Completar o volume para 1 litro, com água destilada. Tampar o frasco com rolha termo-resistente ou algodão, misturar e dissolver o conteúdo. Autoclavar por 20 minutos (121° C, 1 atm). Resfriar a 50° C e verter em placas de Petri estéril em câmara de fluxo laminar.

Anexo G. Estádios fenológicos vegetativos das plantas de soja. Fonte: FERH e CAVINESS (1977), adaptado por CÂMARA (1998).

Estádio	Denominação	Descrição
VE	Emergência	Cotilédones estão acima da superfície do solo.
VC	Cotilédone desenvolvido	Cotilédones apresentam-se bem abertos e as folhas unifolioladas estão superficialmente abertas, de tal modo que os bordos de cada folíolo não estão se tocando.
V1	Primeiro nó maduro	Folhas unifolioladas estão estendidas e a primeira folha trifoliolada esta suficientemente aberta, de tal modo que os bordos de cada folíolo não estão se tocando.
V2	Segundo nó maduro	Primeira folha trifoliolada está estendida, isto é, com os três folíolos expandidos e a segunda folha trifoliolada esta suficientemente aberta, de tal modo que os bordos de cada folíolo não estão se tocando.
V3	Terceiro nó maduro	Segunda folha trifoliolada está estendida, isto é, com os três folíolos expandidos e a terceira folha trifoliolada esta suficientemente aberta, de tal modo que os bordos de cada folíolo não estão se tocando.
VN	“Enésimo” nó maduro	“Enésima” folha trifoliolada está estendida, isto é, com os três folíolos expandidos e a folha trifoliolada “n+1” esta suficientemente aberta, de tal modo que os bordos de cada folíolo não estão se tocando.

Anexo H. Esquema do ciclo vegetativo contendo fases mais importantes das plantas de soja. Adaptado de Iowa State University, 1988.

Anexo I. Características morfológicas dos isolados de *S. sclerotiorum*, índice de velocidade de crescimento micelial, cor e aspecto do micélio e características dos escleródios, tempo para formação, tamanho, peso e forma.

ID ¹	Características do Micélio										Características dos Escleródios								
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS1	0,93	1,63	1,99	1,65	1,55	37,17	a	2,4	BR	IR	4,7	e	41,0	a	133,3	b	3,2	b	AR
SS2	0,68	1,44	1,81	1,42	1,34	32,08	c	2,8	BR	IR	4,5	e	36,3	a	205,3	b	5,7	b	AR
SS3	0,47	0,71	1,01	0,89	0,77	18,50	h	4,9	BR	AB	6,2	c	33,0	a	233,7	b	7,2	b	AR
SS4	0,50	1,49	1,68	1,50	1,29	31,00	c	2,9	BR	RA	5,0	d	20,7	c	106,7	b	5,1	b	AR
SS5	0,92	1,78	2,31	1,15	1,54	36,92	a	2,4	BR	RA	4,3	e	39,7	a	130,0	b	3,3	b	AR
SS6	0,42	0,88	1,22	1,33	0,96	23,08	f	3,9	M/P	AB	5,3	d	34,7	a	196,7	b	6,1	b	IR
SS7	0,71	1,14	1,40	1,54	1,20	28,75	d	3,1	BR	RA	5,3	d	26,7	b	143,3	b	5,3	b	AR
SS8	0,64	1,14	1,50	1,36	1,16	27,83	d	3,2	BE	RA	5,3	d	23,0	c	66,7	b	2,9	b	DI
SS9	0,78	1,29	1,32	1,33	1,18	28,33	d	3,2	BE	RA	5,3	d	26,3	b	270,0	b	9,9	b	DI
SS10	0,47	0,57	1,18	1,18	0,85	20,42	g	4,4	M/P	IR	6,3	c	23,3	c	633,3	a	26,9	a	DI
SS11	0,78	1,08	1,08	0,99	0,98	23,58	e	3,8	BE	IR	5,3	d	27,3	b	466,7	a	16,6	b	DI
SS12	0,93	1,19	1,35	1,24	1,18	28,25	d	3,2	BR	IR	5,2	d	32,3	a	346,7	b	11,5	b	AR
SS13	0,58	0,94	0,96	1,15	0,91	21,83	f	4,1	BR	RA	6,0	c	16,0	c	200,0	b	13,7	b	AR
SS14	0,36	0,97	1,19	1,31	0,96	23,00	f	3,9	BR	RA	5,5	d	39,7	a	146,7	b	3,8	b	AR
SS15	0,49	1,18	1,53	0,13	0,83	19,93	g	4,5	BR	RA	6,7	b	31,7	a	306,7	b	12,6	b	AR
SS16	0,46	1,10	1,19	1,43	1,05	25,08	e	3,6	M/P	RA	5,5	d	30,3	a	613,3	a	23,5	a	AR
SS17	0,61	1,25	1,32	1,38	1,14	27,33	d	3,3	BR	IR	5,2	d	28,7	b	600,0	a	22,3	a	AR
SS18	0,60	1,15	1,49	1,32	1,14	27,33	d	3,3	BE	IR	5,2	d	26,7	b	536,7	a	20,9	a	AR
SS19	0,35	1,06	1,21	0,83	0,86	20,67	g	4,4	BE	RA	5,8	c	26,3	b	366,7	b	14,5	b	AR
SS20	0,86	1,06	1,38	1,17	1,11	26,75	d	3,4	BE	IR	5,7	c	29,0	b	200,0	b	7,0	b	AR
SS21	0,65	0,94	0,89	0,72	0,80	19,25	g	4,7	BR	RA	6,0	c	17,3	c	20,0	b	1,2	b	AR
SS22	0,88	1,28	1,39	1,49	1,26	30,17	c	3,0	BR	RA	5,0	d	20,7	c	373,3	b	15,0	b	AR

ID ¹	Características do Micélio							Características dos Escleródios											
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS23	0,74	1,11	1,47	1,28	1,15	27,58	d	3,3	BR	RA	6,0	c	35,3	a	570,0	a	15,6	b	AR
SS24	0,76	1,21	1,46	1,24	1,17	28,00	d	3,2	BE	RA	5,3	d	32,7	a	543,3	a	16,5	b	AR
SS25	0,71	1,24	1,32	1,10	1,09	26,17	e	3,4	BR	RA	5,0	d	29,3	a	640,0	a	21,4	a	AR
SS26	0,82	1,15	1,28	1,24	1,12	26,92	d	3,3	BE	IR	5,3	d	28,0	b	503,3	a	19,7	a	AR
SS27	0,47	1,24	1,28	1,36	1,09	26,08	e	3,5	BE	RA	4,5	e	24,0	b	666,7	a	31,3	a	DI
SS28	0,46	1,35	1,96	1,56	1,33	31,92	c	2,8	BE	RA	4,7	e	15,0	c	600,0	a	42,2	a	AR
SS29	0,58	0,94	1,24	1,22	1,00	23,92	e	3,8	M/P	IR	5,8	c	26,0	b	566,7	a	22,2	a	DI
SS30	0,78	1,00	1,17	1,24	1,05	25,08	e	3,6	BE	IR	5,0	d	26,3	b	570,0	a	23,4	a	AR
SS31	0,71	1,76	1,87	1,56	1,47	35,33	b	2,5	BR	RA	4,5	e	27,3	b	606,7	a	23,7	a	AR
SS32	0,58	1,19	1,46	1,46	1,17	28,17	d	3,2	BR	IR	4,7	e	36,0	a	146,7	b	4,1	b	AR
SS33	0,97	1,11	1,36	1,46	1,23	29,42	d	3,1	BE	RA	5,2	d	35,3	a	71,0	b	2,3	b	DI
SS34	0,46	0,56	0,92	0,97	0,73	17,42	h	5,2	BE	RA	7,0	b	28,3	b	336,7	b	11,7	b	AR
SS35	0,99	1,04	1,10	1,36	1,12	26,92	d	3,3	M/P	IR	5,3	d	34,3	a	403,3	b	11,0	b	DI
SS36	0,89	1,15	0,97	1,22	1,06	25,42	e	3,5	BR	AB	5,0	d	30,3	a	766,7	a	25,5	a	IR
SS37	0,94	1,04	1,04	1,35	1,09	26,25	e	3,4	BR	RA	4,8	e	25,3	b	716,7	a	28,2	a	AR
SS38	0,81	1,10	1,22	1,33	1,11	26,75	d	3,4	M/P	RA	5,3	d	29,0	b	400,0	b	16,3	b	AR
SS39	0,65	1,17	1,26	1,35	1,11	26,58	d	3,4	BE	IR	4,5	e	28,0	b	353,3	b	16,0	b	IR
SS40	0,22	1,40	2,33	1,82	1,44	34,67	b	2,6	BR	IR	5,0	d	40,0	a	616,7	a	14,6	b	AR
SS41	1,01	1,39	1,78	1,06	1,31	31,42	c	2,9	BR	RA	4,7	e	22,0	c	133,3	b	6,0	b	AR
SS42	0,43	1,31	2,04	1,50	1,32	31,67	c	2,8	BR	IR	5,0	d	26,0	b	530,0	a	20,4	a	AR
SS43	0,17	1,33	1,63	1,36	1,12	26,92	d	3,3	BR	RA	5,5	d	25,0	b	503,3	a	22,8	a	AR
SS44	0,32	1,43	1,71	1,64	1,27	30,58	c	2,9	BR	RA	4,7	e	28,3	b	436,7	a	17,0	b	AR
SS45	0,14	1,06	1,44	1,03	0,92	22,00	f	4,1	BR	RA	5,5	d	21,3	c	103,3	b	4,8	b	AR
SS46	0,49	1,46	1,33	1,43	1,18	28,25	d	3,2	BR	IR	5,3	d	21,3	c	733,3	a	37,8	a	AR
SS47	0,49	1,51	1,68	1,51	1,30	31,17	c	2,9	BR	RA	4,7	e	26,3	b	336,7	b	14,7	b	AR

ID ¹	Características do Micélio							Características dos Escleródios											
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS48	0,11	0,90	1,50	1,14	0,91	21,92	f	4,1	BE	IR	6,0	c	26,7	b	130,0	b	4,9	b	DI
SS49	0,99	1,35	1,58	1,44	1,34	32,17	c	2,8	BR	RA	4,7	e	27,0	b	666,7	a	25,4	a	AR
SS50	0,82	0,82	1,51	1,64	1,20	28,75	d	3,1	BE	RA	5,2	d	30,3	a	340,0	b	11,6	b	AR
SS51	0,47	1,31	1,67	1,85	1,32	31,75	c	2,8	BR	RA	5,0	d	26,7	b	163,3	b	6,5	b	AR
SS52	0,36	1,28	1,29	1,46	1,10	26,33	e	3,4	BR	RA	4,3	e	14,7	c	173,3	b	11,9	b	AR
SS53	0,13	1,21	1,51	1,42	1,07	25,58	e	3,5	BR	IR	5,3	d	34,7	a	143,3	b	4,3	b	AR
SS54	0,18	1,22	1,38	1,32	1,02	24,58	e	3,7	BE	RA	6,2	c	30,0	a	220,0	b	7,7	b	AR
SS55	0,32	1,04	0,94	0,93	0,81	19,42	g	4,6	BE	RA	6,7	b	34,7	a	286,7	b	8,3	b	AR
SS56	0,17	0,64	1,58	2,00	1,10	26,33	e	3,4	BR	IR	5,0	d	32,7	a	196,7	b	6,0	b	DI
SS57	0,56	1,73	1,40	1,03	1,18	28,29	d	3,2	BE	IR	5,0	d	31,0	a	133,3	b	4,3	b	AR
SS58	1,01	1,40	1,92	1,54	1,47	35,25	b	2,6	BR	RA	4,5	e	36,7	a	168,3	b	4,5	b	AR
SS59	1,08	1,61	2,24	1,57	1,63	39,00	a	2,3	BR	RA	4,5	e	38,3	a	140,0	b	3,6	b	AR
SS60	0,89	1,25	1,07	1,49	1,17	28,17	d	3,2	BR	IR	5,0	d	30,7	a	106,7	b	3,4	b	AR
SS61	0,89	1,29	1,31	1,17	1,16	27,92	d	3,2	M/P	IR	5,5	d	38,7	a	346,7	b	9,0	b	DI
SS62	0,61	1,25	1,72	1,67	1,31	31,50	c	2,9	BR	AB	4,5	e	33,0	a	300,0	b	9,0	b	DI
SS63	0,47	1,79	2,06	1,75	1,52	36,42	b	2,5	BR	RA	4,5	e	34,7	a	253,3	b	7,8	b	AR
SS64	0,17	0,56	1,63	1,76	1,03	24,67	e	3,6	BR	RA	5,5	d	41,3	a	183,3	b	4,7	b	AR
SS65	0,90	1,24	1,13	1,28	1,14	27,25	d	3,3	BR	RA	5,2	d	33,7	a	103,3	b	3,1	b	AR
SS66	0,97	1,19	1,10	1,28	1,14	27,25	d	3,3	BR	IR	5,3	d	30,0	a	210,0	b	7,3	b	DI
SS67	0,92	1,11	1,33	1,42	1,19	28,67	d	3,1	BE	RA	4,7	e	28,3	b	166,7	b	5,9	b	AR
SS68	1,00	1,11	1,15	1,25	1,13	27,08	d	3,3	BE	IR	5,3	d	35,0	a	146,7	b	4,2	b	AR
SS69	1,07	1,22	1,14	1,26	1,17	28,17	d	3,2	BR	IR	5,0	d	25,0	b	90,0	b	3,7	b	AR
SS70	0,88	1,04	1,32	1,08	1,08	25,92	e	3,5	BE	IR	5,3	d	38,3	a	253,3	b	6,7	b	DI
SS71	0,94	1,24	1,14	1,28	1,15	27,58	d	3,3	BR	RA	4,8	e	32,0	a	256,7	b	7,9	b	AR
SS72	0,94	1,24	1,14	1,28	1,15	27,58	d	3,3	BR	RA	5,2	d	21,0	c	110,0	b	5,2	b	AR

ID ¹	Características do Micélio							Características dos Escleródios											
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS73	0,90	1,07	1,24	1,21	1,10	26,50	d	3,4	BR	RA	5,3	d	19,3	c	146,7	b	7,7	b	AR
SS74	1,00	1,21	1,13	1,28	1,15	27,67	d	3,3	M/P	IR	5,2	d	19,0	c	133,3	b	7,3	b	DI
SS75	0,81	1,11	1,03	1,13	1,02	24,42	e	3,7	BE	IR	5,0	d	23,0	c	170,0	b	7,0	b	AR
SS76	1,01	0,99	1,22	1,26	1,12	26,92	d	3,3	M/P	IR	5,2	d	28,0	b	336,7	b	11,8	b	AR
SS77	0,90	1,26	1,11	1,19	1,12	26,83	d	3,4	BR	RA	5,3	d	38,3	a	286,7	b	7,6	b	AR
SS78	0,94	1,06	1,17	1,03	1,05	25,17	e	3,6	BR	IR	4,8	e	35,7	a	193,3	b	5,5	b	AR
SS79	0,22	0,61	0,60	0,94	0,59	14,25	i	6,3	BE	AB	7,5	a	36,7	a	186,7	b	5,1	b	AR
SS80	0,97	1,04	1,24	1,31	1,14	27,33	d	3,3	BR	RA	4,7	e	32,3	a	183,3	b	5,7	b	AR
SS81	0,89	1,13	1,31	1,44	1,19	28,58	d	3,1	M/P	IR	5,2	d	32,0	a	136,7	b	4,3	b	AR
SS82	0,68	1,18	1,15	1,22	1,06	25,42	e	3,5	BR	IR	5,8	c	28,7	b	173,3	b	5,9	b	DI
SS83	0,86	1,19	1,07	1,35	1,12	26,83	d	3,4	BE	RA	5,3	d	31,7	a	170,0	b	6,7	b	AR
SS84	0,88	1,14	1,19	1,25	1,11	26,75	d	3,4	BE	IR	5,5	d	25,3	b	283,3	b	11,2	b	AR
SS85	0,68	1,46	1,33	1,79	1,32	31,58	c	2,8	BR	RA	4,7	e	35,3	a	220,0	b	6,2	b	AR
SS86	0,90	1,06	1,22	1,07	1,06	25,50	e	3,5	BR	RA	5,0	d	27,0	b	243,3	b	8,8	b	AR
SS87	0,85	1,13	1,00	1,22	1,05	25,17	e	3,6	BR	RA	5,3	d	26,7	b	146,7	b	5,5	b	AR
SS88	0,89	1,14	1,17	1,21	1,10	26,42	d	3,4	BR	RA	4,7	e	24,3	b	343,3	b	16,2	b	AR
SS89	0,89	1,26	1,10	1,11	1,09	26,17	e	3,4	BE	IR	4,8	e	30,7	a	833,3	a	28,4	a	AR
SS90	0,69	1,58	1,04	0,86	1,05	25,08	e	3,6	BR	RA	5,3	d	36,7	a	320,0	b	7,9	b	AR
SS91	0,89	1,07	1,18	1,01	1,04	24,92	e	3,6	BR	RA	5,3	d	40,3	a	536,7	a	12,8	b	AR
SS92	0,90	1,11	1,22	1,14	1,09	26,25	e	3,4	BR	RA	6,0	c	33,7	a	126,7	b	3,8	b	AR
SS93	0,69	1,14	1,19	1,15	1,05	25,08	e	3,6	BE	IR	5,3	d	33,3	a	313,3	b	11,5	b	AR
SS94	1,00	1,28	1,39	1,47	1,28	30,83	c	2,9	BR	RA	4,7	e	35,7	a	353,3	b	9,7	b	AR
SS95	0,53	0,72	0,92	1,00	0,79	19,00	g	4,7	BE	IR	6,3	c	31,7	a	116,7	b	3,7	b	DI
SS96	1,04	1,13	1,15	0,96	1,07	25,67	e	3,5	BE	IR	5,3	d	29,7	a	116,7	b	3,9	b	DI
SS97	0,61	0,75	1,04	1,03	0,86	20,58	g	4,4	M/P	IR	5,8	c	30,0	a	900,0	a	30,6	a	DI

ID ¹	Características do Micélio							Características dos Escleródios											
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS98	0,96	1,24	1,21	1,33	1,18	28,42	d	3,2	M/P	IR	5,2	d	20,3	c	766,7	a	39,9	a	IR
SS99	0,82	0,83	1,60	1,93	1,29	31,08	c	2,9	BR	RA	4,7	e	22,0	c	333,3	b	46,7	a	AR
SS100	0,79	1,17	1,22	1,01	1,05	25,17	e	3,6	BR	IR	6,0	c	33,7	a	373,3	b	12,4	b	DI
SS101	0,75	1,03	1,01	0,99	0,94	22,67	f	4,0	BR	RA	5,8	c	26,3	b	543,3	a	22,7	a	DI
SS102	0,92	1,07	1,26	1,03	1,07	25,67	e	3,5	BE	IR	5,3	d	30,0	a	340,0	b	10,3	b	AR
SS103	0,78	1,17	1,33	1,32	1,15	27,58	d	3,3	BR	IR	4,8	e	36,0	a	603,3	a	18,5	a	AR
SS104	0,76	1,08	0,97	1,33	1,04	24,92	e	3,6	M/P	AB	5,3	d	28,3	b	566,7	a	20,0	a	DI
SS105	0,46	0,99	1,04	0,90	0,85	20,33	g	4,4	BR	RA	6,2	c	18,7	c	646,7	a	37,8	a	AR
SS106	0,51	1,18	1,46	1,38	1,13	27,17	d	3,3	BR	IR	5,0	d	28,0	b	266,7	b	12,3	b	AR
SS107	0,82	1,00	1,17	1,13	1,03	24,67	e	3,6	BR	RA	5,3	d	33,3	a	330,0	b	9,5	b	AR
SS108	0,57	1,22	0,99	1,19	0,99	23,83	e	3,8	BR	RA	5,7	c	23,0	c	633,3	a	28,1	a	AR
SS109	0,81	1,08	1,22	1,10	1,05	25,25	e	3,6	M/P	IR	5,5	d	40,0	a	156,7	b	3,9	b	DI
SS110	0,63	1,18	1,18	1,19	1,05	25,08	e	3,6	BR	RA	5,2	d	28,7	b	143,3	b	5,0	b	AR
SS111	0,63	1,00	0,89	0,97	0,87	20,92	g	4,3	BR	RA	5,3	d	26,0	b	500,0	a	19,2	a	AR
SS112	0,31	0,83	1,29	1,19	0,91	21,75	f	4,1	M/P	IR	5,5	d	29,0	b	833,3	a	28,8	a	DI
SS113	0,76	1,06	1,15	1,33	1,08	25,83	e	3,5	BR	AB	5,2	d	30,7	a	136,7	b	4,4	b	DI
SS114	0,72	1,18	1,31	1,26	1,12	26,83	d	3,4	BR	AB	5,3	d	30,0	a	300,0	b	9,6	b	DI
SS115	0,65	1,11	1,14	1,17	1,02	24,42	e	3,7	BE	AB	5,3	d	30,7	a	766,7	a	26,1	a	AR
SS116	0,54	1,08	1,51	0,90	1,01	24,25	e	3,7	BR	RA	5,0	d	38,3	a	633,3	a	16,4	b	AR
SS117	0,75	1,01	1,24	1,15	1,04	24,92	e	3,6	BE	AB	5,8	c	28,0	b	700,0	a	24,7	a	DI
SS118	0,54	1,11	1,17	1,19	1,00	24,08	e	3,7	BE	IR	4,8	e	29,3	a	600,0	a	21,0	a	AR
SS119	0,21	0,89	0,69	0,78	0,64	15,42	i	5,8	BR	IR	7,0	b	30,0	a	356,7	b	14,8	b	AR
SS120	0,83	1,06	1,11	1,17	1,04	25,00	e	3,6	BR	RA	5,5	d	30,0	a	150,0	b	5,0	b	AR
SS121	0,74	1,18	1,31	1,21	1,11	26,58	d	3,4	BR	RA	5,0	d	35,3	a	376,7	b	11,2	b	AR
SS122	0,57	1,42	1,11	1,38	1,12	26,83	d	3,4	BR	RA	5,0	d	30,7	a	603,3	a	19,0	a	AR

ID ¹	Características do Micélio							Características dos Escleródios											
	IVCM ²							TC ⁴	CC ⁵	CM ⁶	TF ⁷	SK ³	NE ⁸	SK ³	PE ⁹	SK ³	PI ¹⁰	SK ³	FE ¹¹
	0-12	12-24	24-36	36-48	$\bar{X}$	$\bar{X}$	SK ³												
SS123	0,71	1,15	1,19	1,14	1,05	25,17	e	3,6	BE	IR	5,2	d	23,0	c	800,0	a	40,9	a	AR
SS124	0,75	1,19	0,97	1,24	1,04	24,92	e	3,6	BR	RA	5,3	d	21,7	c	333,3	b	16,3	b	AR
SS125	0,82	1,22	1,19	1,40	1,16	27,83	d	3,2	M/P	IR	5,0	d	20,7	c	700,0	a	33,9	a	DI
SS126	0,71	1,17	1,33	1,57	1,19	28,67	d	3,1	BR	RA	4,7	e	29,7	a	566,7	a	19,5	a	AR
SS127	0,53	1,19	1,40	1,33	1,11	26,75	d	3,4	BE	IR	5,8	c	33,0	a	633,3	a	19,1	a	DI
SS128	0,74	1,28	1,33	1,38	1,18	28,33	d	3,2	BR	IR	5,3	d	27,7	b	766,7	a	27,9	a	AR
SS129	0,75	1,21	1,25	1,38	1,15	27,50	d	3,3	BE	AB	5,0	d	28,7	b	566,7	a	20,4	a	AR
SS130	0,78	1,08	1,24	1,28	1,09	26,25	e	3,4	BE	IR	5,5	d	30,7	a	353,3	b	12,9	b	DI
SS131	0,47	1,13	1,32	1,24	1,04	24,92	e	3,6	BR	RA	6,0	c	25,3	b	610,0	a	23,3	a	AR
SS132	0,79	1,26	1,33	1,19	1,15	27,50	d	3,3	BE	IR	6,0	c	25,7	b	156,7	b	6,8	b	AR
SS133	0,93	1,24	1,33	1,25	1,19	28,50	d	3,2	BR	RA	5,3	d	32,7	a	136,7	b	4,3	b	AR
SS134	0,63	1,04	1,28	1,15	1,02	24,58	e	3,7	BR	RA	6,3	c	33,7	a	393,3	b	11,4	b	AR
SS135	0,61	1,14	1,31	1,72	1,19	28,67	d	3,1	BR	AB	5,0	d	37,0	a	116,7	b	3,2	b	AR
SS136	0,49	1,26	1,21	2,11	1,27	30,42	c	3,0	BR	RA	4,5	e	29,3	a	600,0	a	21,9	a	AR
SS137	0,53	0,98	2,00	1,02	1,13	27,17	d	3,3	BR	RA	4,7	e	21,0	c	636,7	a	40,2	a	AR
SS138	0,58	1,54	2,11	1,69	1,48	35,58	b	2,5	BR	IR	5,0	d	31,3	a	566,7	a	20,1	a	AR
SS139	1,14	1,75	1,65	1,50	1,51	36,25	b	2,5	BR	RA	4,7	e	32,3	a	570,0	a	17,8	a	DI
SS140	0,72	1,63	1,99	1,68	1,50	36,08	b	2,5	BR	RA	4,7	e	31,7	a	570,0	a	18,7	a	AR
SS141	0,56	1,14	1,13	0,69	0,88	21,08	g	4,3	BR	RA	6,0	c	25,3	b	146,7	b	5,8	b	AR
SS142	0,69	1,75	1,97	1,50	1,48	35,50	b	2,5	BE	IR	4,7	e	32,3	a	376,7	b	12,7	b	AR
SS143	0,89	1,53	1,68	1,83	1,48	35,58	b	2,5	BR	IR	5,2	d	37,0	a	116,7	b	3,1	b	AR
SS144	0,79	1,63	2,17	1,75	1,58	38,00	a	2,4	BR	RA	4,7	e	33,7	a	120,0	b	3,6	b	AR
SS145	0,63	1,42	1,76	1,74	1,39	33,25	c	2,7	BR	RA	5,0	d	29,3	a	616,7	a	23,2	a	AR
SS146	0,67	1,46	2,26	1,64	1,51	36,17	b	2,5	BR	IR	4,7	e	33,0	a	733,3	a	22,4	a	DI
SS147	0,69	0,84	1,72	1,38	1,16	27,75	d	3,2	BR	RA	5,0	d	33,7	a	103,3	b	3,1	b	DI

SS148	0,69	1,26	1,83	1,47	1,32	31,58	c	2,8	BE	RA	4,8	e	31,3	a	106,7	b	3,4	b	AR
SS149	0,88	1,79	1,81	1,71	1,55	37,08	a	2,4	BR	RA	4,7	e	17,0	c	570,0	a	38,8	a	AR
SS150	0,72	1,53	1,79	1,57	1,40	33,67	c	2,7	BR	RA	4,7	e	32,7	a	370,0	b	20,3	a	AR

¹ Identificação do isolado, segundo item

² IVCN – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial, em 4 intervalos de tempo: 0-12, 12-24, 24-26, 36-48 horas, expresso em mm/h; $\bar{X}$ - Média do IVCN dos 4 intervalos expresso em mm/h e mm/dia.

³SK – Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($P < 0,05$)

⁴TC – Tempo de Crescimento, refere-se ao tempo, em dias, necessário para o micélio ocupar toda a superfície da placa de Petri, com 09 cm de diâmetro.

⁵CC- Cor da Colônia - refere-se a coloração predominante na colônia pura cultivada em meio BDA. Sendo BR - branco; BE – bege; M/P – marrom a preto.

⁶CM – Características do micélio. Sendo AB – abundante; IR – irregular; RA – ralo;

⁷TF – Tempo médio necessário para a formação do primeiro escleródio na placa, em dias.

⁸NE – Número de escleródios formados por placa.

⁹PE – Peso dos escleródios formados por placa

Anexo J. Características dos isolados de *S. sclerotiorum*, identificação, safra, local e cultura de coleta, agressividade em feijão e soja.

ID	Safra	Local	Cultura	Feijão			Soja		
				Φ Lesão	AACPD	SK	Φ Lesão	AACPD	SK
SS1	2000	Brasília - DF	Feijão	41,83	570	b	21,00	382	g
SS2	2001	Cristalina - GO	Cenoura	34,33	527	c	30,50	517	e
SS3	2003	Brasília - DF	Cenoura	26,67	351	g	26,33	474	f
SS4	2006	Montividiu - GO	Soja	37,33	536	c	26,67	388	g
SS5	2008	Santo Antônio de Posse - SP	Soja	41,83	570	b	32,83	605	d
SS6	2009	Uberlândia - MG	Soja	31,33	467	d	29,67	410	g
SS7	2009	Uberlândia - MG	Soja	30,17	390	f	33,33	484	f
SS8	2009	Uberlândia - MG	Soja	38,67	556	b	36,50	675	c
SS9	2009	Uberlândia - MG	Soja	39,33	540	c	35,83	710	b
SS10	2009	Uberlândia - MG	Soja	21,00	318	g	35,17	581	d
SS11	2009	Uberlândia - MG	Soja	38,50	540	c	38,00	608	d
SS12	2009	Uberlândia - MG	Soja	28,67	441	e	32,00	532	e
SS13	2009	Uberlândia - MG	Soja	41,83	577	b	36,50	631	c
SS14	2009	Uberlândia - MG	Soja	29,17	406	f	30,17	473	f
SS15	2009	Uberlândia - MG	Soja	31,83	409	f	37,67	606	d
SS16	2010	Jataí - GO	Soja	39,17	578	b	33,83	639	c
SS17	2010	Jataí - GO	Soja	28,67	388	f	28,67	352	h
SS18	2010	Jataí - GO	Soja	39,17	567	b	37,67	671	c
SS19	2010	Cristalina - GO	Soja	31,17	450	e	30,17	505	f
SS20	2010	Cristalina - GO	Soja	40,50	583	b	44,50	855	a
SS21	2010	Formosa - GO	Soja	36,83	521	c	32,50	550	e
SS22	2010	Formosa - GO	Soja	41,67	596	b	39,67	730	b
SS23	2010	Castelândia- GO	Soja	41,00	591	b	37,17	722	b
SS24	2010	Castelândia- GO	Soja	35,67	506	d	36,50	549	e
SS25	2010	Castelândia- GO	Soja	40,17	577	b	32,33	472	f
SS26	2010	Castelândia- GO	Soja	21,33	292	h	26,83	357	h
SS27	2010	Castelândia- GO	Soja	32,50	437	e	36,67	558	e
SS28	2010	Castelândia- GO	Soja	33,17	479	d	39,50	663	c
SS29	2010	Castelândia- GO	Soja	42,67	626	a	31,50	465	f
SS30	2010	Correntina - BA	Soja	26,50	347	g	30,00	424	g
SS31	2010	Correntina - BA	Soja	30,50	411	f	31,67	492	f
SS32	2010	Correntina - BA	Soja	27,33	368	f	27,33	454	f
SS33	2010	Correntina - BA	Soja	38,17	537	c	31,00	458	f
SS34	2010	Correntina - BA	Soja	37,50	534	c	32,67	558	e
SS35	2010	Correntina - BA	Soja	39,83	557	b	38,00	678	c
SS36	2010	Correntina - BA	Soja	29,17	439	e	30,00	406	g
SS37	2010	Correntina - BA	Soja	36,00	511	c	37,33	723	b
SS38	2010	Correntina - BA	Soja	24,67	343	g	25,83	359	h

ID	Safr	Local	Cultura	Feijão			Soja		
				Φ Lesão	AACPD	SK	Φ Lesão	AACPD	SK
SS39	2010	Correntina - BA	Soja	32,17	430	e	30,83	543	e
SS40	2010	Viçosa - MG	Feijão	40,00	591	b	28,33	442	g
SS41	2010	Santo Antônio de Posse - SP	Soja	33,17	584	b	32,17	647	c
SS42	2010	Santo Antônio de Posse - SP	Feijão	30,33	435	e	28,17	403	g
SS43	2011	Goiânia - GO	Girassol	39,50	568	b	26,33	396	g
SS44	2011	Coxilha -RS	Soja	41,17	559	b	31,83	629	c
SS45	2011	Coxilha -RS	Soja	33,00	549	c	33,00	618	d
SS46	2011	Coxilha -RS	Soja	35,50	484	d	35,83	657	c
SS47	2011	Passo Fundo-RS	Soja	37,33	518	c	32,50	529	e
SS48	2011	Passo Fundo-RS	Soja	32,33	478	d	32,33	522	e
SS49	2011	Campinas - SP	Feijão	28,33	402	f	28,67	410	g
SS50	2012	São Miguel do Passa Quatro- GO	Feijão	25,17	357	g	29,83	473	f
SS51	2012	São Miguel do Passa Quatro - GO	Soja	33,83	501	d	33,83	647	c
SS52	2012	Coimbra - MG	Feijão	34,33	459	e	32,50	503	f
SS53	2012	Coimbra - MG	Feijão	31,67	496	d	31,00	468	f
SS54	2012	Presidente Bernardes - MG	Feijão	40,33	546	c	34,17	559	e
SS55	2012	Oratórios - MG	Feijão	44,17	658	a	32,67	690	b
SS56	2012	Coimbra - MG	Feijão	42,67	610	a	32,33	662	c
SS57	2012	Coimbra - MG	Feijão	33,33	508	d	38,00	656	c
SS58	2012	Viçosa - MG	Feijão	30,50	425	e	32,67	596	d
SS59	2012	Portofirme - MG	Feijão	41,17	578	b	32,00	610	d
SS60	2012	Brasília - DF	Soja	34,83	539	c	32,17	585	d
SS61	2012	Ivaiporã - PR	Couve	37,00	544	c	40,00	726	b
SS62	2012	Vacaria - RS	Soja	31,50	516	c	30,00	580	d
SS63	2012	Cristalina - GO	Soja	32,83	530	c	25,50	411	g
SS64	2012	Viçosa - MG	Feijão	32,83	526	c	31,00	538	e
SS65	2013	Paracatú - MG	Feijão	39,50	592	b	40,67	849	a
SS66	2013	Paracatú - MG	Feijão	32,67	456	e	33,67	568	d
SS67	2013	Paracatú - MG	Feijão	35,33	507	d	33,83	547	e
SS68	2013	Paracatú - MG	Feijão	31,83	424	e	31,33	542	e
SS69	2013	Paracatú - MG	Feijão	40,17	554	b	37,67	716	b
SS70	2013	Paracatú - MG	Feijão	29,33	415	f	28,00	394	g
SS71	2013	Paracatú - MG	Feijão	27,83	351	g	29,17	415	g
SS72	2013	Paracatú - MG	Feijão	27,33	378	f	29,33	398	g
SS73	2013	Paracatú - MG	Feijão	28,67	408	f	28,50	379	g
SS74	2013	Paracatú - MG	Feijão	33,67	476	d	25,17	337	h
SS75	2013	Paracatú - MG	Feijão	28,50	399	f	29,67	402	g
SS76	2013	Paracatú - MG	Feijão	27,33	364	g	28,67	408	g

ID	Safr	Local	Cultura	Feijão			Soja		
				Φ Lesão	AACPD	SK	Φ Lesão	AACPD	SK
SS77	2013	Paracatú - MG	Feijão	41,00	574	b	40,50	669	c
SS78	2013	Paracatú - MG	Feijão	35,67	522	c	28,17	393	g
SS79	2013	Paracatú - MG	Feijão	22,00	315	g	29,17	395	g
SS80	2013	Paracatú - MG	Feijão	43,33	645	a	34,50	619	d
SS81	2013	Paracatú - MG	Feijão	36,17	505	d	38,33	632	c
SS82	2013	Paracatú - MG	Feijão	16,67	270	h	31,67	532	e
SS83	2013	Paracatú - MG	Feijão	38,33	519	c	34,83	617	d
SS84	2013	Paracatú - MG	Feijão	45,00	648	a	36,83	663	c
SS85	2013	Paracatú - MG	Feijão	33,00	455	e	32,67	506	f
SS86	2013	Paracatú - MG	Feijão	23,33	327	g	26,33	318	h
SS87	2013	Paracatú - MG	Feijão	31,83	413	f	26,17	287	h
SS88	2013	Paracatú - MG	Feijão	36,33	496	d	22,33	316	h
SS89	2013	Paracatú - MG	Feijão	30,00	425	e	32,00	574	d
SS90	2013	Paracatú - MG	Feijão	30,50	416	f	29,83	485	f
SS91	2013	Paracatú - MG	Feijão	21,33	289	h	27,33	412	g
SS92	2013	Paracatú - MG	Feijão	31,50	453	e	31,17	469	f
SS93	2013	Paracatú - MG	Feijão	21,00	246	i	31,83	529	e
SS94	2013	Paracatú - MG	Feijão	13,17	217	i	29,00	526	e
SS95	2013	Paracatú - MG	Feijão	21,17	276	h	30,00	450	f
SS96	2013	Paracatú - MG	Feijão	28,17	421	e	31,00	500	f
SS97	2013	Paracatú - MG	Feijão	32,83	448	e	30,83	577	d
SS98	2013	Paracatú - MG	Feijão	41,67	585	b	33,33	534	e
SS99	2013	Paracatú - MG	Feijão	32,83	468	d	36,50	639	c
SS100	2013	Paracatú - MG	Feijão	19,17	246	i	31,83	485	f
SS101	2013	Paracatú - MG	Feijão	20,50	289	h	32,17	531	e
SS102	2013	Paracatú - MG	Feijão	24,83	325	g	32,33	528	e
SS103	2013	Paracatú - MG	Feijão	39,83	553	b	32,67	538	e
SS104	2013	Paracatú - MG	Feijão	22,00	323	g	28,17	455	f
SS105	2013	Paracatú - MG	Feijão	39,50	563	b	36,00	694	b
SS106	2013	Paracatú - MG	Feijão	31,17	478	d	28,33	466	f
SS107	2013	Planaltina - GO	Feijão	22,83	321	g	30,00	496	f
SS108	2013	Planaltina - GO	Feijão	31,50	457	e	32,83	511	e
SS109	2013	Planaltina - GO	Feijão	33,33	442	e	32,67	492	f
SS110	2013	Planaltina - GO	Feijão	29,50	381	f	25,67	362	h
SS111	2013	Planaltina - GO	Feijão	28,00	385	f	29,83	417	g
SS112	2013	Planaltina - GO	Feijão	25,33	299	h	32,67	552	e
SS113	2013	Planaltina - GO	Feijão	32,83	448	e	27,50	405	g
SS114	2013	Planaltina - GO	Feijão	34,83	503	d	31,33	530	e
SS115	2013	Planaltina - GO	Feijão	32,17	462	d	25,50	385	g
SS116	2013	Planaltina - GO	Feijão	37,50	546	c	32,67	548	e
SS117	2013	Planaltina - GO	Feijão	34,33	515	c	38,50	707	b
SS118	2013	Planaltina - GO	Feijão	26,67	348	g	27,83	395	g

ID	Safr	Local	Cultura	Feijão			Soja		
				Φ Lesão	AACPD	SK	Φ Lesão	AACPD	SK
SS119	2013	Planaltina - GO	Feijão	35,50	484	d	30,83	513	e
SS120	2013	Planaltina - GO	Feijão	40,83	611	a	34,67	632	c
SS121	2013	Planaltina - GO	Feijão	28,67	347	g	31,17	475	f
SS122	2013	Planaltina - GO	Feijão	32,17	542	c	31,67	556	e
SS123	2013	Planaltina - GO	Feijão	33,67	513	c	31,00	516	e
SS124	2013	Planaltina - GO	Feijão	37,17	515	c	40,00	794	a
SS125	2013	Planaltina - GO	Feijão	36,83	498	d	32,83	537	e
SS126	2013	Planaltina - GO	Feijão	32,70	469,2	d	29,50	463	f
SS127	2013	Planaltina - GO	Feijão	44,00	621	a	34,17	631	c
SS128	2013	Planaltina - GO	Feijão	30,17	425	e	31,67	488	f
SS129	2013	Planaltina - GO	Feijão	32,17	463	d	37,50	727	b
SS130	2013	Planaltina - GO	Feijão	27,50	380	f	34,50	547	e
SS131	2013	Planaltina - GO	Feijão	36,67	546	c	31,00	546	e
SS132	2013	Planaltina - GO	Feijão	36,17	502	d	27,17	367	h
SS133	2013	Planaltina - GO	Feijão	30,50	392	f	30,17	439	g
SS134	2013	Planaltina - GO	Feijão	36,50	486	d	31,17	477	f
SS135	2013	Brasília - DF	Feijão	32,17	430	e	31,17	491	f
SS136	2013	Cerquilha - SP	Feijão	35,00	496	d	30,33	542	e
SS137	2013	Campos Novos - SC	Soja	26,83	401	f	30,50	461	f
SS138	2013	Portofirme - MG	Feijão	33,50	550	c	32,67	628	c
SS139	2013	Canaã - MG	Feijão	44,00	639	a	34,00	668	c
SS140	2013	Vacaria - RS	Soja	44,83	633	a	34,00	716	b
SS141	2014	Formosa - GO	Feijão	35,50	482	d	37,00	588	d
SS142	2014	Wenceslau Braz - PR	Feijão	36,67	521	c	34,00	660	c
SS143	2014	Wenceslau Braz - PR	Feijão	39,50	573	b	26,83	401	g
SS144	2014	Palmas - PR	Feijão	33,83	512	c	34,17	623	d
SS145	2014	Palmas - PR	Feijão	34,67	450	e	32,33	512	e
SS146	2014	Campos - SC	Soja	39,17	515	c	32,33	522	e
SS147	2014	Campos - SC	Soja	45,00	673	a	43,50	814	a
SS148	2014	Cristalina - GO	Nabo	33,83	494	d	29,33	478	f
SS149	2014	Castro - PR	Soja	38,17	525	c	37,33	714	b
SS150	2014	Taquarivai - SP	Soja	31,50	486	d	31,50	519	e

Anexo K. Curvas de regressão linear da porcentagem de inibição do crescimento micelial para cada isolado.

Gráfico 1. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS75, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 2. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS76, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 3. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS77, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 4. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS78, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 5. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS79, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 6. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS80, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 7. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS81, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 8. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS82, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 9. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS83, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 10. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS84, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 11. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS85, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 12. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS86, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 13. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS87, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 14. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS88, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 15. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS89, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 16. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS90, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 17. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS91, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 18. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS92, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 19. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS93, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 20. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS94, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 21. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS95, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 22. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS96, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 23. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS97, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 24. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS98, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 25. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS99, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 26. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS100, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 27. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *sclerotinia Sclerotiorum* identificado com SS101, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 28. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS102, equação da reta e valor de R^2 .

Gráfico 29. Representação gráfica da interação entre a Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) e o Log das doses de Tiofanato Metílico para o isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* identificado com SS103, equação da reta e valor de R^2 .