

INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

VANIELI APARECIDA DA SILVA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE
MOFO BRANCO (*Sclerotinia sclerotiorum*) NA SOJA**

IVAIPORÃ
2024

VANIELI APARECIDA DA SILVA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE MOFO
BRANCO (*Sclerotinia sclerotiorum*) NA SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia Agrônômica, do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Nayara Norrene Lacerda
Durães

IVAIPORÃ
2024

FOLHA DE APROVAÇÃO

Vanieli Aparecida da Silva

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE MOFO BRANCO (*Sclerotinia sclerotiorum*) NA SOJA

O presente trabalho em graduação foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Documento assinado digitalmente



VANESSA STEGANI

Data: 03/09/2024 16:56:12-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Vanessa Stegani
Instituto Federal do Paraná – Campus Ivaiporã

Documento assinado digitalmente



TAIS MULLER

Data: 03/09/2024 16:02:55-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. M.e Tais Muller
Instituto Federal do Paraná – Campus Ivaiporã

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que
foi julgado adequado como parte das exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Agrônoma pelo Instituto Federal do Paraná, Campus
Ivaiporã.

Documento assinado digitalmente



DENIS SANTIAGO DA COSTA

Data: 06/09/2024 11:42:58-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Coordenação do Curso Engenharia Agrônoma
Prof. Dr. Denis Santiago da Costa
Siape: 1400880

Documento assinado digitalmente



NAYARA NORRENE LACERDA DURAES

Data: 02/09/2024 21:37:56-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Nayara Norrene Lacerda Durães (Orientadora)
Siape: 1068571

Ivaiporã, 24 de Agosto de 2024.

Dedico este trabalho aos meus pais, fundamentais em minha jornada acadêmica, em homenagem ao amor e apoio que sempre me proporcionaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar e iluminar, me conceder força e sabedoria em todos os momentos para concluir esta etapa da minha vida acadêmica.

Agradeço também à Nossa Senhora, cuja intercessão e proteção foram fundamentais em minha jornada. Sua presença me trouxe conforto e esperança, guiando meus passos e iluminando meu caminho.

Aos meus pais, Valdeir e Marlene, pilares da minha caminhada acadêmica, meu eterno agradecimento pelo amor incondicional, compreensão, incentivo e apoio incansável ao longo de toda a jornada tornaram possível cada conquista. Sem o amor e suporte de vocês, eu não estaria aqui.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Nayara Norrene Lacerda Durães, pela orientação precisa, paciência e conhecimento compartilhado. Sua dedicação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos docentes do curso, meu sincero agradecimento pelas contribuições valiosas em sala de aula, por compartilharem seu conhecimento e por contribuírem para a minha formação. Cada um de vocês deixou uma marca significativa na minha trajetória.

Um agradecimento especial à I. Riedi Grãos e Insumos e a Embrapa Soja que gentilmente forneceram as sementes das cultivares e os escleródios de *S. sclerotiorum* utilizados neste experimento. A colaboração de vocês foi essencial para o avanço do trabalho e o alcance dos objetivos.

Agradeço também à Técnica de laboratório, Tainara, por sua assistência e suporte durante o experimento. Sua ajuda foi indispensável para o sucesso do meu projeto.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Cada gesto de apoio foi fundamental para alcançar este objetivo.

Muito obrigado a todos!

*“No fim tudo dá certo, se não deu certo é
porque não chegou ao fim”*

Fernando Sabino

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência e praticidade de diferentes métodos de inoculação de *S. sclerotiorum* na soja, com o intuito de auxiliar estudos de caracterização de resistência de cultivares de soja para fins de seleção. Os escleródios *S. sclerotiorum* foram cedidos pela Embrapa Soja e os testes foram conduzidos em casa-de-vegetação. Avaliaram-se quatro métodos de inoculação, em plantas no estágio fenológico V3/V4. Aos três, sete e treze dias após a inoculação, mediu-se o comprimento da lesão na haste das plantas. As cultivares de soja GH5933, ST580i2x e TMG267 não apresentam diferenças significativas. Os métodos de inoculação que fazem uso de cortes e/ou ferimentos foram mais efetivos em curto prazo de tempo. Os métodos de inoculação por disco no folíolo e ponteira no trifólio demonstraram maior eficiência na indução de sintomas de mofo-branco nos estádios iniciais da doença. Os métodos de inoculação por meio de ponteira são os mais eficientes e mais práticos para avaliar a resistência ao mofo-branco em soja. O método de inoculação por disco na axila apresentou progressão da severidade três vezes mais rápida no intervalo de 10 dias. A seleção do método de inoculação deve considerar o fator tempo para ocorrência da lesão. A escolha do método de inoculação e as condições ambientais são determinantes para colonização do fungo *S. sclerotiorum* em ambiente controlado.

Palavras-chave: *Sclerotinia sclerotiorum*; *Glycine max*; Inoculação.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency and practicality of different methods of inoculation of *S. sclerotiorum* in soybeans, as an attempt to assist resistance traits studies of soybean cultivars for selection purposes. The sclerotios *S. sclerotiorum* was transferred to Embrapa Soja and the test plants were grown in a greenhouse. Four inoculation methods were evaluated in plants at the V3/V4 phenological stages. Three, seven and thirteen days after inoculation, measure the lesion compression on the plants. The soybean cultivars GH5933, ST580i2x and TMG267 do not present significant differences. The inoculation methods that involve the use of cuts and/or fertilizers are most effective in a short period of time. The methods of inoculation by non-leaved disc and non-trifoliated disc demonstrate greater efficiency in inducing symptoms of white mold in the initial stages of treatment. The inoculation methods by means of point are the most efficient and most practical to evaluate resistance to white mold in soybeans. The disc inoculation method in the armpit shows progression of severity three times more rapidly in an interval of 10 days. When selecting the inoculation method, the time factor for the occurrence of the lesion must be considered. The selection of the inoculation method and the environmental conditions are determining factors for the colonization of the *S. sclerotiorum* fungus in a controlled environment

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*; *Glycine max*; Inoculation

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	PROBLEMA.....	11
1.2	HIPÓTESE	11
1.3	OBJETIVOS	11
1.3.1	Objetivo Geral	11
1.3.2	Objetivos Específicos	11
2.	DESENVOLVIMENTO.....	12
	MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE	
	MOFO-BRANCO (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>) NA SOJA	
2.1	INTRODUÇÃO	13
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	14
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
2.4	CONCLUSÕES	19
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
	REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma cultura amplamente cultivada no mundo, principalmente pela sua capacidade de produção de proteína e óleo, e pelo uso dessas matérias-primas nos segmentos envolvendo a nutrição humana e animal, e uso industrial. Segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) na safra 22/23, o Brasil alcançou produção superior a 150 milhões de toneladas, número que mantém o país na liderança mundial da produção do grão. O Estado do Paraná no mesmo período registrou uma produção de 22,3 milhões de toneladas, ou seja, aproximadamente 35% da produção do total país, consolidando o estado como um dos principais produtores nacionais (CONAB, 2023).

Dentre as várias doenças que afetam a cultura da soja, no Brasil, o mofo-branco, cujo agente etiológico é a *Sclerotinia sclerotiorum* (L) de Bary, também conhecido como podridão-de-esclerotínia, tem se destacado como uma das mais graves (CAMOCHEMA et al., 2020). A incidência e os níveis de dano da doença têm aumentado em diversas regiões do país, principalmente, nas áreas de maior altitude do cerrado e da região sul, causando reduções de produtividade que ultrapassam os 60% (BARROS et al., 2015).

Estima-se que aproximadamente 25% da área de cultivo soja estejam infestadas por esse patógeno (MEYER, 2012). Entre os entraves no controle da doença está a eliminação do patógeno da área, pois este fungo é capaz de produzir estruturas de resistência denominadas de escleródios, que podem permanecer viáveis por longos anos. Neste sentido, a integração de práticas adequadas de manejo, o uso de produtos químicos e biológicos; aliados a rotação de culturas e o uso de cobertura vegetal no solo tornam-se aliados no controle do patógeno (VENTUROSOSO et al., 2013).

Atualmente, não há cultivares de soja geneticamente resistente ao mofo-branco. Entretanto, diferenças significativas em susceptibilidade foram observadas a campo (CHEN e WANG, 2005; JULIATTI et al., 2014), e detectaram a existência de resistência parcial (WEGULO et al., 1998; YANG et al., 1999; HOFFMAIN et al., 2002). Contudo, a resistência à doença esta associada a fatores ambientais distintos (luz, temperatura) podendo confundir o pesquisador quanto à escolha de materiais com a alta adaptação e estabilidade (JULIATTI et al., 2014). Logo, a compreensão dos métodos de inoculação e avaliação da severidade da doença é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes para identificação de resistência.

Diversos trabalhos testaram abordagens de inoculação do fungo em casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento da soja (WEGULO et al., 1998; NETO et al., 2013; GARCIA et al., 2015). Entretanto, ainda ocorrem dificuldades na identificação de um método de inoculação de *S. sclerotiorum*, que some facilidade, resultados positivos e repetibilidade.

1.1 PROBLEMA

O mofo-branco na cultura da soja é uma doença de difícil controle e o uso de fungicidas não é suficiente para evitar perdas significativas, além de causarem danos ambientais, os custos são altos. No momento, não há cultivares de soja resistente ao mofo-branco. A identificação de cultivares resistentes está vinculada a métodos de inoculação eficientes que reproduzam em condições controladas o que é observado a campo. Entretanto, a falta de consenso e sucesso na identificação de métodos adequados de inoculação do fungo na soja dificulta a implementação de estratégias eficazes na seleção de cultivares resistentes.

1.2 HIPÓTESE

A adoção do método de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* na soja, realizada por meio da avaliação da infecção e avanço da doença irá auxiliar em estudos de caracterização de cultivares resistentes à doença na cultura da soja.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a severidade da doença causada por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja submetidas a diferentes métodos de inoculação.

1.3.2 Objetivos Específicos

Investigar e comparar diferentes métodos de inoculação utilizados para induzir a infecção de Mofo Branco na cultura da soja, visando identificar as técnicas mais eficazes e consistentes.

Avaliar a influência dos métodos de inoculação na expressão de sintomas do Mofo Branco na soja.

2. DESENVOLVIMENTO

Métodos de Inoculação e Avaliação da Severidade de Mofo-Branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) na Soja

Inoculation Methods and Severity Assessment of White Mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) in Soybeans

Métodos de inoculación y evaluación de la gravedad de Moho Blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência e praticidade de diferentes métodos de inoculação de *S. sclerotiorum* na soja, com o intuito de auxiliar estudos de caracterização de resistência de cultivares de soja para fins de seleção. Os escleródios *S. sclerotiorum* foram cedidos pela Embrapa Soja e os testes foram conduzidos em casa-de-vegetação. Avaliaram-se quatro métodos de inoculação, em plantas no estágio fenológico V3/V4. Aos três, sete e treze dias após a inoculação, mediu-se o comprimento da lesão na haste das plantas. As cultivares de soja GH5933, ST580i2x e TMG267 não apresentam diferenças significativas. Os métodos de inoculação que fazem uso de cortes e/ou ferimentos foram mais efetivos em curto prazo de tempo. Os métodos de inoculação por disco no folíolo e ponteira no trifólio demonstraram maior eficiência na indução de sintomas de mofo-branco nos estádios iniciais da doença. Os métodos de inoculação por meio de ponteira são os mais eficientes e mais práticos para avaliar a resistência ao mofo-branco em soja. O método de inoculação por disco na axila apresentou progressão da severidade três vezes mais rápida no intervalo de 10 dias. A seleção do método de inoculação deve considerar o fator tempo para ocorrência da lesão. A escolha do método de inoculação e as condições ambientais são determinantes para colonização do fungo *S. sclerotiorum* em ambiente controlado.

Palavras-chaves: *Sclerotinia sclerotiorum*; *Glycine max*; Inoculação.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency and practicality of different methods of inoculation of *S. sclerotiorum* in soybeans, as an attempt to assist resistance characterization studies of soybean cultivars for selection purposes. The scleródios *S. sclerotiorum* was transferred to Embrapa Soja and the test plants were grown in a greenhouse. Four inoculation methods were evaluated in plants at the V3/V4 phenological stages. Three, seven and thirteen days after inoculation, measure the lesion compression on the plants. The soybean cultivars GH5933, ST580i2x and TMG267 do not present significant differences. The inoculation methods that involve the use of cuts and/or fertilizers are most effective in a short period of time. The methods of inoculation by non-leaved disc and non-trifoliated disc demonstrate greater efficiency in inducing symptoms of white mold in the initial stages of treatment. The inoculation methods by means of point are the most efficient and most practical to evaluate resistance to white mold in soybeans. The disc inoculation method in the armpit shows progression of severity three times more rapidly in an interval of 10 days. When selecting the inoculation method, the time factor for the occurrence of the lesion must be considered. The selection of the inoculation method and the environmental conditions are

determining factors for the colonization of the *S. sclerotiorum* fungus in a controlled environment.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*; *Glycine max*; *Inoculation*.

2.1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma cultura amplamente cultivada no mundo, principalmente pela sua capacidade de produção de proteína e óleo, e pelo uso dessas matérias-primas nos segmentos envolvendo a nutrição humana e animal, e uso industrial. Segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) na safra 22/23, o Brasil alcançou produção superior a 150 milhões de toneladas, número que mantém o país na liderança mundial da produção do grão. O Estado do Paraná no mesmo período registrou uma produção de 22,3 milhões de toneladas, ou seja, aproximadamente 35% da produção do total país, consolidando o estado como um dos principais produtores nacionais (CONAB, 2023).

Dentre as várias doenças que afetam a cultura da soja, no Brasil, o mofo-branco, cujo agente etiológico é a *Sclerotinia sclerotiorum* (L) de Bary, também conhecido como podridão-de-esclerotínia, tem se destacado como uma das mais graves (CAMOCHEMA *et al.*, 2020). A incidência e os níveis de dano da doença têm aumentado em diversas regiões do país, principalmente, nas áreas de maior altitude do cerrado e da região sul, causando reduções de produtividade que ultrapassam os 60% (BARROS *et al.*, 2015).

Estima-se que aproximadamente 25% da área de cultivo soja estejam infestadas por esse patógeno (MEYER, 2012). Entre os entraves no controle da doença está a eliminação do patógeno da área, pois este fungo é capaz de produzir estruturas de resistência denominadas de escleródios, que podem permanecer viáveis por longos anos. Neste sentido, a integração de práticas adequadas de manejo, o uso de produtos químicos e biológicos; aliados a rotação de culturas e o uso de cobertura vegetal no solo tornam-se aliados no controle do patógeno (VENTUROSOSO *et al.*, 2013).

Atualmente, não há cultivares de soja geneticamente resistente ao mofo-branco. Entretanto, diferenças significativas em susceptibilidade foram observadas a campo (CHEN e WANG, 2005; JULIATTI *et al.*, 2014), é detectaram a existência de resistência parcial (WEGULO *et al.*, 1998; YANG *et al.*, 1999; HOFFMAIN *et al.*, 2002). Contudo, a resistência à doença está associada a fatores ambientais distintos (luz, temperatura) podendo confundir o pesquisador quanto à escolha de materiais com a alta adaptação e estabilidade

(JULIATTI *et al.*,2014). Logo, a compreensão dos métodos de inoculação e avaliação da severidade da doença é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes para identificação de resistência.

Diversos trabalhos testaram abordagens de inoculação do fungo em casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento da soja (WEGULO *et al.*, 1998; NETO *et al.*, 2013; GARCIA *et al.*,2015). Entretanto, ainda ocorrem dificuldades na identificação de um método de inoculação de *S. sclerotiorum*, que some facilidade, resultados positivos e repetibilidade. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência e praticidade de diferentes métodos de inoculação de *S. sclerotiorum* na soja, com o intuito de auxiliar estudos de caracterização de resistência de cultivares de soja para fins de seleção.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação do Instituto Federal do Paraná, Campus Ivaiporã- PR. Utilizaram-se as cultivares GH5933, ST580i2x e TMG267, por apresentarem maior adesão regional. As cultivares foram plantadas em vasos de 3L, com Latossolo Vermelho, proveniente de área de cultivo local com soja, trigo sem relato de mofo-branco. O experimento foi conduzido entre os meses de dezembro de 2023 a Janeiro de 2024.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4 x 3 (métodos x cultivares de soja), com três repetições e três plantas, o que totalizou nove plantas por tratamento. Os escleródios *S. sclerotiorum*, proveniente de Mauá da Serra, PR, foram cedidos pela Embrapa Soja. Antes da inoculação, estes foram acondicionados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) e incubados (B. O. D) em temperatura de 25°C, na ausência de luz por um período de sete dias. Após 7 dias de incubação, as colônias foram utilizadas como doadoras de discos de micélio para o teste de pareamento de culturas (GRAF JUNIOR, 2021).

Os métodos de inoculação foram realizados em casa-de-vegetação e consistiram de: discos de BDA em micélio fixado ao folíolo aplicado do 3º trifólio; discos de BDA com micélio fixado à axila do 3º trifólio; ponteira plástica de 1000 µL, preenchida com discos de BDA com micélio fixado ao 3º trifólio (HOFFMAN *et al.*, 2002); e ponteira de plástica de 1000 µL, preenchida com discos de BDA com micélio fixado ao ápice da planta, seguindo o método “cut stem” (KULL *et al.*, 2003).

Para fixação dos discos de BDA, de 5 mm de diâmetro, ao folíolo e a axila do terceiro trifólio, utilizou-se fita adesiva, e os discos foram depositados de forma que o micélio estivessem em contato com a planta. Nos métodos que envolveram o uso de ponteiras, o meio foi invertido, de forma que a parte de cima do meio, com o micélio aparente ficasse voltada para baixo. Para tanto, o meio de cultura foi perfurado com a própria ponteira utilizada para a inoculação, que foi totalmente preenchida com os discos. Para as inoculações no ápice, o ponteiro foi cortado acima do terceiro trifólio e, para a inoculações no pecíolo, o pecíolo do terceiro trifólio foi cortado, tendo-se deixado aproximadamente 3 cm de pecíolo para inserção da ponteira.

As plantas foram infectadas no estágio fenológico V3/V4, onde encontravam a 2^o e 3^o folhas trifolioladas completamente desenvolvidas e mantidas em casa de vegetação por sete dias protegidos com sacos plásticos umedecidos. As avaliações foram realizadas aos três, sete e treze dias após as inoculações, tendo-se medido o comprimento das lesões na haste com auxílio de régua graduada. Posteriormente, calculou-se a média do comprimento das lesões das três plantas, para cada repetição, e os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variância. Atendidas as pressuposições da ANOVA, realizou-se análise de variância com o teste F, a 5% de probabilidade com o auxílio do software R versão 3.4.0 (R CORE TEAM, 2016).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados apresentados na Tabela 1 não revelou diferença para o efeito de cultivares, logo, houve comportamento coincidente das mesmas frente ao processo de infecção do fungo. Entretanto, os métodos de inoculação do mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) após três e sete dias, mostraram distinção entre si com níveis de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Resultado que destaca a possibilidade de seleção de um ou mais métodos eficientes em promover maior taxa de infecção. A interação C x MI não apresentou efeito significativo, demonstrando independência entre os níveis de cultivares e os métodos de inoculação nos resultados.

Ao se adotar a classificação de Pimentel-Gomes (1985) para avaliação da precisão experimental, os valores obtidos para o coeficiente de variação (CV) foram considerados muito altos e ficaram acima de 31% (Tabela 1). Porém, considerando a subjetividade das avaliações para obtenção dos dados, estes resultados estão de acordo com estudos de severidade de doenças em plantas (MARTINS *et al.*, 2004).

Tabela 1. Análise de variância das avaliações de incidência de mofo-branco na cultura da soja, no 3º, 7º e 13º dia após inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de quatro métodos, nas cultivares ST580i2x, GH5933 e TMG267.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		3º dia	7º dia	13º dia
Cultivares (C)	2	0,0112	0,0117	0,1193
Métodos de Inoculação (MI)	3	0,1958**	0,1467*	0,1320
C x MI	6	0,0394	0,020	0,038
Resíduo	24	0,0260	0,038	0,085
Média		0,514	0,630	0,960
CV (%)		31,39	31,28	30,42
<i>Shapiro- Wilk</i>		0,179	0,690	0,495
<i>Bartlett</i>		0,204	0,240	0,424

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

Fonte: Autor

Os desdobramentos das médias dos efeitos de cultivares e dos métodos de inoculação estão apresentados na tabela 2. Somente os métodos de disco BDA na axila e na ponteira no ápice foram capazes de diferir dos demais métodos, tendo sido os menos eficientes para a maioria das cultivares durante a 3ª e 7ª avaliação. O método de inoculação por disco de BDA na axila do terceiro trifólio apresentou o inconveniente da falta de aderência da fita adesiva, em virtude da alta umidade no tecido vegetal, favorecendo assim o escape à doença, além de ter sido mais trabalhoso. Segundo Gasparotto *et al.* (2010) o escape ocorre quando o hospedeiro suscetível consegue se manter sadio em virtude da separação, no espaço ou no tempo, de seus tecidos suscetíveis aos propágulos infectivos do patógeno. Ademais, o tecido do internódio do 3º trifólio inoculado é mais lignificado, normalmente o fungo produz diversas enzimas de plantas que degradam componentes da parede celular (HEGEDUS e RIMMER, 2005), contudo, enzimas de degradação de lignina não são relatados para *S. sclerotiorum* (PELTIER *et al.*, 2009), o que pode ter dificultado a penetração do micélio do fungo (PELTIER *et al.*, 2009). Garcia *et al.* (2015) também já relataram as desvantagens deste método. Quanto ao método da ponteira no ápice, notou-se que este foi muito drástico, sendo observada a ocorrência de necrose no ponteiro e a morte da gema apical, o que ocasionou a emissão de brotações laterais é também ter dificultado de colonização do micélio do fungo.

Os métodos de discos de BDA no folíolo e ponteira no ápice apresentaram maiores médias para o comprimento de lesões, com intervalos médios entre 0,59 a 1,01cm e 0,62 a 1,10 cm, respectivamente entre a primeira e terceira avaliação (Tabela 2).

Tabela 2. Severidade (comprimento de lesão) de mofo-branco na cultura da soja, no 3º, 7º e 13º dia após inoculação de *S. sclerotiorum*, por meio de quatro métodos, nas cultivares ST580i2x, GH5933 e TMG267.

Método	3º dia				7º dia				13º dia			
	ST580i	GH5933	TMG267	Média	ST580i2x	GH5933	TMG267	Média	ST580i2x	GH5933	TMG267	Média
Disco no folíolo	0,59 ^a	0,62 ^a	0,58 ^a	0,59 ^a	0,70 ^a	0,75 ^a	0,56 ^a	0,67 ^a	0,94 ^a	1,09 ^a	1,00 ^a	1,01 ^a
Disco na axila	0,34 ^b	0,26 ^b	0,30 ^b	0,30 ^b	0,43 ^b	0,49 ^a	0,51 ^a	0,48 ^b	0,87 ^a	0,96 ^a	0,88 ^a	0,90 ^a
Ponteira no trifólio	0,72 ^a	0,44 ^a	0,75 ^a	0,62 ^a	0,88 ^a	0,71 ^a	0,75 ^a	0,78 ^a	1,11 ^a	1,13 ^a	1,06 ^a	1,10 ^a
Ponteira no ápice	0,50 ^a	0,65 ^a	0,49 ^b	0,53 ^a	0,57 ^b	0,68 ^a	0,51 ^a	0,59 ^b	0,76 ^a	1,11 ^a	0,60 ^a	0,83 ^a

Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância.

Fonte: Autor

Segundo Pratt (1991), alguns métodos de inoculação podem exigir ferimentos por picadas nos sítios de inoculação, para uma infecção eficiente. Nesse sentido, destaque para o método que fez uso da ponteira de disco de BDA no trifólio que permitiu um maior contato do micélio do fungo com as axilas das plantas, sendo essencial para o início da infecção. Resultado semelhante foi observado por Garcia *et al.* (2015) considerando o método ponteira no trifólio na cultura da soja que apresentou maiores índices de infecção do fungo *S. sclerotiorum*.

Considerando as condições de crescimento das plantas de soja em casa-de-vegetação antes da inoculação, um fator de grande importância é a intensidade da luz, uma vez que plantas estioladas são mais susceptíveis quando comparadas a plantas não estioladas (BOLAND e HALL, 1987; CHUN et al., 1987; JULIATTI et al., 2014). No presente trabalho, não foi observado estiolamento de plantas, muito provavelmente este fato está associado das plantas terem sido conduzidas em vasos de 3L é mesmo tendo conduzido três plantas por vaso não houve a necessidade de competição por luz entre as plantas. Adicionalmente, como as plantas foram conduzidas apenas nos estádios iniciais da soja não havendo tempo hábil para que as lesões evoluíssem até a formação de escleródios dentro do caule das plantas de soja.

Kull et al. (2004) em seus trabalhos avaliando as lesões 14 dias após a inoculação e obtiveram lesões de 7,9 a 10,3cm. Em trabalhos conduzidos por Vuong et al., (2004), 14 dias após a inoculação, as lesões oscilaram de 10,2 cm a 14,80 cm. Valores muito reduzidos foram observados neste trabalho, 13 após a inoculação, com lesões em média entre 0,479 a 1,09cm (GH5933), 0,538 A 0,94 (ST580i2X) e 0,524 a 1,01 (TMG267) (Tabela 3).

Tabela 3. Severidade (comprimento de lesão) de mofo-branco na cultura da soja, no 3º, 7º e 13º dia após inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de quatro métodos, nas cultivares ST580i2x, GH5933 e TMG267.

Cultivar	Hábito de crescimento	Comprimento da Lesão de lesões (cm)		
		3º dia	7º dia	13º dia
GH5933	Indeterminado	0,479	0,682	1,09
ST580i2x	Indeterminado	0,538	0,565	0,94
TMG267	Indeterminado	0,524	0,527	1,01

Fonte: Autor

Resultados que expõem uma progressão das lesões ao longo do tempo, mas que ocorre de forma mais lenta do que observado em trabalhos semelhantes na literatura. Ressalta-se que, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é capaz de infectar qualquer parte da planta de soja, em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, mas a vulnerabilidade ao fungo intensifica-se principalmente na fase reprodutiva, mais especificamente entre R1 e R4. Assim, como as inoculações ocorreram nas fases iniciais V3/V4 das plantas de soja, houve uma menor taxa de infecção nas mesmas, mas é preciso relatar mesmo com menor severidade das lesões nos locais de inoculação, as plantas apresentaram

sintomas, como murcha resultando até em necrose das folhas, nos demais folíolos, além de abortamento de flores e redução do porte das mesmas.

Wegulo *et al.* (2011) relatam que cultivares de soja com hábito de crescimento indeterminado tendem a mostrar variabilidade na resposta ao mofo-branco. Cultivares com essa característica tendem a apresentar maior área foliar e maior número de ramificações, o que pode favorecer a infecção e desenvolvimento do patógeno (CHAVES e TÖFOLI, 2024). Todas as cultivares avaliadas apresentavam hábito de crescimento indeterminado (tabela 3).

Entretanto, para que ocorra uma maior progressão do micélio do fungo de *Sclerotinia sclerotiorum*, além da susceptibilidade da cultivar ou do método de inoculação empregado, é essencial que as condições ambientais, como alta umidade e temperaturas moderadas sejam favoráveis ao fungo.

2.4 CONCLUSÕES

Os métodos de inoculação que fazem uso de cortes e/ou ferimentos são mais efetivos em curto prazo de tempo.

Os métodos de inoculação por disco no folíolo e ponteira no trifólio demonstraram maior eficiência na indução de sintomas de mofo-branco nos estádios iniciais da doença.

Os resultados poderiam apresentar maior expressividade se as inoculações tivessem sido feitas em estádios reprodutivos da soja.

Os métodos de inoculação por meio de ponteira são os mais eficientes e mais práticos para avaliar a resistência ao mofo-branco em soja

O método de inoculação por disco na axila apresentou progressão da severidade três vezes mais rápida no intervalo de 10 dias

A seleção do método de inoculação deve considerar o fator tempo para ocorrência da lesão.

A escolha do método de inoculação e as condições ambientais são determinantes para colonização do fungo *S. sclerotiorum* em ambiente controlado.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos de inoculação que utilizam cortes e/ou ferimentos no tecido vegetal são mais efetivos a curto prazo na indução de sintomas de mofo-branco. Entre os métodos avaliados, o uso de disco no folíolo e ponteira no trifólio se destacou pela sua eficiência em provocar sintomas nos estádios iniciais da doença. Contudo, é importante ressaltar que os resultados poderiam ser ainda mais expressivos se as inoculações fossem realizadas em estádios reprodutivos da soja.

O método de inoculação por ponteira se mostrou o mais eficiente e prático para avaliar a resistência ao mofo-branco em soja, apresentando a vantagem de causar menor dano à planta. O método de disco na axila, por sua vez, demonstrou uma progressão da severidade três vezes mais rápida no intervalo de 10 dias.

A seleção do método de inoculação deve levar em consideração o fator tempo para a ocorrência da lesão, dependendo dos objetivos do estudo. Para avaliações em estádios iniciais da doença, os métodos de disco no folíolo e ponteira no trifólio são recomendados, enquanto o método de disco na axila pode ser mais apropriado para estádios mais avançados, devido à sua rápida progressão da severidade.

Por fim, a escolha do método de inoculação e as condições ambientais são determinantes para a colonização do fungo *S. sclerotiorum* em ambiente controlado. Esses fatores devem ser cuidadosamente considerados ao planejar estudos de resistência ao mofo-branco em soja. Este estudo, portanto, fornece informações valiosas que podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes no manejo dessa importante doença. Ao demonstrar a eficiência dos métodos de inoculação por disco no folíolo, ponteira no trifólio e disco na axila, a pesquisa destaca a importância de adaptar o método de inoculação conforme o estágio fenológico da cultura e os objetivos do estudo. A escolha do método ideal não apenas influencia a precisão na avaliação da resistência, mas também possibilita um manejo mais direcionado da doença, potencializando o controle e minimizando danos à cultura.

Os resultados apresentados oferecem um panorama abrangente que pode ser usado como referência na elaboração de protocolos de inoculação em pesquisas futuras e na seleção de cultivares mais resistentes ao mofo-branco. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e para a redução das perdas econômicas associadas à doença, reforçando a relevância de estratégias adaptativas e personalizadas no controle de *S. sclerotiorum*.

REFERÊNCIAS

- BARROS, DCM; FONSECA, ICB; BALBI-PEÑA, MI; PASCHOLATI, SF; PEITL, DC. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mold of soybean using saprobic fungi from semi-arid areas of Northeastern Brazil. **Summa Phytopathol.** 41,4, 2015.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul., v. 71, p. 934-936, 1987.
- CAMOCHENA, CC; STEILMAN, P; SANTOS, I. *et al.* Action of potassium phosphites on the management of white mold in soybean. **Summa Phytopathol.**, 46, 3, 2020
- CHAVES, A. L. R; TÖFOLI, J. G.; **Brássicas: doenças, plantas daninhas e manejo.** São Paulo: Instituto Biológico, 2024. 184 p. :
- CHEN, Y.; WANG, D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, 89, 1268-1272, 2005.
- 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. 811-815, 1987.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2023) **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos/boletimda-safra-de-graos>. Acesso em março 24, 2023.
- GARCIA, RA; MEYER, MC; ÁVILA, KAGB; CUNHA, MG. Inoculation methods of *Sclerotinia sclerotiorum* for screening of soybean cultivars resistant to white mold. **Pesq. agropec. bras.** 50,8, 2015.
- GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; HANADA, R.E.; ARAÚJO, J.C.A. de; ANGELO, P.C. da S. **Glossário de fitopatologia.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 431p.
- GRAF JUNIOR, AL; FONTOURA, SB; ANDRADE, GC; COSTA, JS; ITAKO, AT; SOLDI, C. Óleo essencial das folhas de cataia (*Drimys brasiliensis*) sobre o crescimento micelial de *Alternaria porri*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 16, 245-252, 2021.

HEGEDUS, D. D.; RIMMER, S. R. *Sclerotinia sclerotiorum*: When “to be or notbe” a pathogen? **FEMS Microbiol. Let.**, England, v. 251, p. 177-184, 2005.

HOFFMAN, D. D. *et al.* Selected soybeanplant introductions with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, 86, 971- 980, 2002.

JULIATTI, F.C.; SAGATA, E.; JACCOUD FILHO, D. de S.; JULIATTI, B.C.M. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, 30, 958-968, 2014.

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**, v.87, p.1471-1476, 2003.

MARTINS MC, GUERZONI RA, CÂMARA GMS, MATTIAZZI P, LOURENÇO SA, Amorim L (2004) Escala diagramática para avaliação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira** 29:179-184.

MEYER, M.C. **Manejo de mofo-branco em soja**. Correio do Estado, Campo Grande, 08 out. 2012. Caderno rural, p. 2. In: <http://flip.siteseguro.ws/pub/correiodoestado/index.jsp?ipg=97939>, Acesso em: 29/03/2024.

NETO, ALF; DIANESE, AC; SANTIN, MR; COUTO, BC. Reaction of soybean cultivars to the sudden death syndrome pathogens *Fusarium tucumaniae* and *F. brasiliense*. **Rev. Ceres**, 2, 2013.

PELTIER, A. J.; HATFIELD, R. D.; GRAU, C. R. Soybean stem lignin concentration relates to resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, p.149-154, 2009.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 11.ed. São Paulo, Nobel, 1985.

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

R Core. **A language and environment for statistical computing**. R, Áustria. 2016.

VENTUROSOS, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; VENTUROSOS, L. A. C.*et al.* Produção de soja e germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes coberturas de solo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 34, 2, 615-626, 2013.

VUONG, T. D., HOFFMAN, D. D., DIERS, B. W., MILLER, J. F., STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of Soybean, Dry Bean, and Sunflower for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 777–783, 2004.

WEGULO, S. N., YANG, X. B., MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, Saint Paul, 82,1264-1270, 1998.

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