



ALEX NAVES FERREIRA

**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ASCÓSPOROS DE
Sclerotinia sclerotiorum EM FLORES DO FEIJOEIRO NA
AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA**

**LAVRAS – MG
2022**

ALEX NAVES FERREIRA

**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ASCÓSPOROS DE *Sclerotinia sclerotiorum*
EM FLORES DO FEIJOEIRO NA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ferreira, Alex Naves.

Eficiência da inoculação de ascósporos de *Sclerotinia sclerotiorum* em flores do feijoeiro na avaliação da resistência /
Alex Naves Ferreira. - 2022.

54 p.

Orientador(a): Elaine Aparecida de Souza.

Coorientador(a): Fernanda Aparecida Castro Pereira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Mofo branco. 2. Inoculação em flores. 3. Suspensão de
ascósporos. I. Souza, Elaine Aparecida de. II. Pereira, Fernanda
Aparecida Castro. III. Título.

ALEX NAVES FERREIRA

**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ASCÓSPOROS DE *Sclerotinia sclerotiorum*
EM FLORES DO FEIJOEIRO NA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA**

**EFFICIENCY OF INOCULATION OF ASCOSPORES OF *Sclerotinia sclerotiorum* IN
BEAN FLOWERS IN EVALUATION OF RESISTANCE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 16 de fevereiro de 2022

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior EPAMIG

Dr. Vinícius Quintão Carneiro UFLA

Dra. Elaine Aparecida de Souza
Orientadora

Dra. Fernanda Aparecida Castro Pereira
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

*À minha família, por todo o amor,
carinho e confiança.*
Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Madalena e Ivanil, à minha irmã, Andreisa, por serem minha base na vida e não medirem esforços para a realização dos meus sonhos.

Aos amigos do Laboratório de Resistência de Plantas e Doenças, pela ajuda na realização deste trabalho, pelos conselhos e ótima convivência.

À Dra. Elaine pela orientação e pelos ensinamentos transmitidos.

À Dra. Fernanda pela coorientação e pelos ensinamentos transmitidos.

A todos que, durante toda esta etapa da minha vida, fizeram parte do meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) em especial ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelo acolhimento, pela oportunidade da realização do mestrado e pela oportunidade de crescimento proporcionada.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas que contribuíram agregando conhecimento e experiência ao longo do mestrado.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito Obrigado!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê” (Arthur Shopenhauer)

RESUMO

O mofo branco é uma doença causada pelo fungo ascomiceto *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary que possui uma ampla distribuição geográfica. É uma doença altamente destrutiva que afeta o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e outras culturas de importância. Apesar de existir vários métodos de controle do mofo branco nenhum destes é totalmente eficaz, devido à sobrevivência de estruturas de resistência, denominadas de escleródios, produzidas pelo patógeno e que sobrevivem no solo por vários anos. A escolha de metodologias de inoculação eficientes é essencial na identificação de fontes de resistência que podem ser utilizadas em programas de melhoramento, bem como na etapa de seleção de progênies ou linhagens resistentes. Dessa forma, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência da metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo em flores na discriminação de genótipos de feijoeiro quanto a reação ao fungo *S. sclerotiorum*. As reações de seis genótipos de feijoeiro (CXII-53/10, CXII-56/6, CXII-59/8, CXII-64/9, CXII-64/14 e VC-17) a dois isolados de *S. sclerotiorum* (UFLA 65 e UFLA 145) foram avaliadas utilizando duas metodologias de inoculação: suspensão de ascósporos em flor (câmara de nebulização e casa de vegetação) e straw test. Foram utilizadas quatro testemunhas: Cornell 605 e A 195 (resistentes), IPR Corujinha e Beryl (suscetíveis) em todos os experimentos. Na metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo em flor foram conduzidos dois experimentos em blocos casualizados: um em casa-de-vegetação e outro em câmara de nebulização. A parcela foi constituída por duas plantas por vaso. A inoculação foi realizada no estádio R6 das plantas, onde a flor foi inoculada com uma suspensão de ascósporos na concentração de $1,5 \times 10^6$ ascósporos/mL. A avaliação da severidade foi realizada dez dias após a inoculação. Na metodologia straw test foi conduzido um experimento em casa de vegetação no delineamento em blocos casualizados e a parcela constituída de três plantas por vaso. Discos de micélio colonizados foram colocados na haste principal da planta com o auxílio de uma ponteira, e a avaliação realizada sete dias após a inoculação. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo software Genes e as médias comparadas pelo teste de Dunnett. Não houve correlação entre a metodologia straw test e a de suspensão de ascósporo em flor em câmara de nebulização. A metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo em flores apresentou menor eficiência na discriminação de genótipos quando comparada ao método do straw teste, mas pode ser uma alternativa nas etapas finais de um programa de melhoramento ou quando a inoculação em campo não é possível.

Palavras-chave: Mofo branco. Inoculação em flores. Suspensão de ascósporos. Metodologias de inoculação.

ABSTRACT

White mold is a disease caused by the ascomycete fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary that has a wide geographic distribution. It is a highly destructive disease that affects common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and other important crops. Although there are several methods of controlling white mold, none of them is totally effective, due to the survival of resistance structures, called sclerotia, produced by the pathogen and that survive in the soil for several years. The choice of efficient inoculation methodologies is essential in identifying sources of resistance that can be used in breeding programs, as well as in the stage of selection of progenies or resistant lines. Thus, this study was carried out with the objective of evaluating the efficiency of the methodology of inoculation with ascospore suspension in flowers in the discrimination of common bean genotypes regarding the reaction to the fungus *S. sclerotiorum*. The reactions of six common bean genotypes (CXII-53/10, CXII-56/6, CXII-59/8, CXII-64/9, CXII-64/14 and VC-17) to two isolates of *S. sclerotiorum* (UFLA 65 and UFLA 145) were evaluated using two inoculation methodologies: suspension of flowering ascospores (nebulization chamber and greenhouse) and straw test. Four controls were used: Cornell 605 and A 195 (resistant), IPR Corujinha and Beryl (susceptible) in all experiments. In the methodology of inoculation with ascospore suspension in flower, two experiments were carried out in randomized blocks: one in a greenhouse and the other in a nebulization chamber. The plot consisted of two plants per pot. Inoculation was carried out at the R6 stage of the plants, where the flower was inoculated with an ascospore suspension at a concentration of 1.5×10^6 ascospores/mL. Severity assessment was performed ten days after inoculation. In the straw test methodology, an experiment was carried out in a greenhouse in a randomized block design and the plot consisted of three plants per pot. Colonized mycelium discs were placed on the main stem of the plant with the aid of a tip, and the assessment was performed seven days after inoculation. The data obtained were submitted to analysis of variance using the Genes software and the means were compared using Dunnett's test. There was no correlation between the straw test methodology and the suspension of ascospores in flower in a nebulization chamber. The method of inoculation with ascospore suspension in flowers showed less efficiency in genotype discrimination when compared to the straw test method, but it can be an alternative in the final steps of a breeding program or when inoculation in the field is not possible.

Keywords: White mold. Inoculation in flowers. Ascospore suspension. Inoculation methodologies.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Mofo Branco	13
2.2 Sclerotinia sclerotiorum	16
2.3 Metodologias de inoculação artificial de S. sclerotiorum.....	23
2.3.1 Método da folha destacada	23
2.3.2 Método do ácido oxálico	23
2.3.3 Método de inoculação em planta intacta.....	23
2.3.4 Straw test.....	24
2.3.5 Seedling straw test.....	25
2.3.6 Método de inoculação com suspensão de ascósporos.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Local.....	27
3.2 Material genético.....	28
3.3 Método de inoculação com micélio (<i>straw test</i>).....	29
3.4 Metodologia de inoculação com suspensão de ascósporos	30
3.4.1 Produção de escleródio	30
3.4.2 Obtenção do apotécio e suspensão de ascósporo	30
3.4.3 Inoculação em casa de vegetação	30
3.4.4 Inoculação em câmara de nebulização	31
3.5 Análise de dados.....	32
3.5.1 Estimativa da coincidência entre as metodologias	32
4 RESULTADOS	33
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Phaseolus*, é diploide, se reproduz por autofecundação e é a espécie mais cultivada no Brasil dentre as 55 espécies do gênero (CONAB, 2018; DE RON et al., 2015; VILHORDO et al., 1996). É uma das culturas anuais de maior importância social e econômica no Brasil, visto que, juntamente com o arroz, é o principal componente da dieta diária dos brasileiros (BARBOSA; GONZAGA, 2012; CASTRO et al., 2006). O feijão possui um alto valor nutritivo, sendo uma importante fonte de proteínas, fibras, vitaminas e minerais (CAMARA; URREA; SCHLEGE, 2013; CONAB, 2018; MITCHELL et al., 2009; RIVERA et al., 2018).

Inúmeros fatores bióticos e abióticos podem afetar a produção do feijoeiro, sendo que entre os fatores bióticos estão as doenças fúngicas, que reduzem consideravelmente a produtividade e a qualidade dos grãos (PAULA JÚNIOR et al., 2015; PAULA JÚNIOR; WENDLAND, 2012; SARTORATO et al., 2000). O mofo branco é uma doença causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e pode causar perdas de até 100% na produção desta cultura, especialmente no plantio de inverno em áreas irrigadas (FERRAZ et al., 1999; MACHADO et al., 2015; SCHWARTZ; SINGH, 2013; VENEGAS; SAAD, 2010). Os sintomas causados pela doença são lesões encharcadas nas folhas que se espalham rapidamente pela planta e evoluem para os sintomas típicos da doença (micélio de aspecto cotonoso). Os escleródios são estruturas de resistência formadas pelo fungo quando as condições não são favoráveis para o seu desenvolvimento, estas estruturas são capazes de sobreviver por anos no solo (ROESE et al., 2018; WILLETTS; WONG, 1980). Estas estruturas são importantes para o ciclo de vida do patógeno e o estabelecimento da doença, pois têm um papel essencial na reprodução sexual e assexual do patógeno.

A resistência genética seria a mais eficaz entre as medidas de controle (ex: controle biológico; manejo da área; rotação de culturas; plantio direto; etc) desse patógeno, pois promove a redução nos custos de produção e nos danos causados ao ecossistema decorrentes do uso de fungicidas. A baixa eficiência dos métodos utilizados para identificar linhagens resistentes, a baixa resistência das linhagens nos bancos de germoplasma, a falta de conhecimento da variabilidade da agressividade dos isolados e da estrutura populacional do patógeno dificultam a obtenção de cultivares resistentes ao mofo branco (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; KULL et al., 2004; MIKLAS et al., 2006).

Alguns estudos podem ser encontrados na literatura avaliando a eficácia de diferentes metodologias de inoculação tanto em casa de vegetação (condições controladas) quanto em campo, bem como a avaliação da reação de genótipos nos dois ambientes. Muitas das metodologias utilizadas nestes estudos necessitam de longo tempo para a avaliação, alto custo e procedimentos complexos. Os métodos de inoculação para serem eficazes devem apresentar características tais como: confiabilidade, fácil execução, capacidade de discriminar genótipos resistentes e reprodutibilidade de resultados (FERREIRA, 2013). A escolha de metodologias de inoculação eficientes é essencial na identificação de possíveis fontes de resistência que podem ser utilizadas em programas de melhoramento.

Existem muitas metodologias de inoculação utilizadas para identificação e seleção de linhagens/cultivares resistentes dentre estas estão: inoculação em cotilédone, folha destacada, flor infectada, straw test, ácido oxálico, seedling straw test, suspensão de ascósporo, inoculação da haste com palito colonizado, inoculação de escleródios em campo, campo com histórico da doença, entre outras metodologias. Entretanto, as metodologias mais comumente encontradas na literatura são: o *straw test* – método que consiste inocular um canudo contendo o micélio do patógeno na haste cortada da planta e o *ácido oxálico* – método que consiste em mergulhar plantas que tiveram as raízes cortadas em uma solução de ácido oxálico. Na literatura as únicas metodologias que simulam a infecção que ocorre no campo é a inoculação artificial com suspensão de ascósporo e a inoculação natural em campo com histórico da doença.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo em flores na discriminação de genótipos de feijoeiro quanto a reação ao fungo *S. sclerotiorum*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mofo Branco

O mofo branco é uma doença causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, um fitopatógeno de solo, cosmopolita, que infecta mais de 408 espécies de plantas pelo mundo. Dentre as espécies de plantas afetadas pelo patógeno a maioria delas são dicotiledôneas, embora algumas monocotiledôneas também têm sido infectadas. Entre os inúmeros hospedeiros destacam-se: feijão, soja, algodão, girassol, canola (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; BOLAND; HALL, 1994; LEITE, 2005a; LIANG; ROLLINS, 2018; PURDY, 1979).

Os danos causados pelo mofo branco ocorrem com maior severidade em regiões ou áreas com temperaturas baixas e com alta umidade relativa do ar (BOLAND; HALL, 1988; BOLAND; HALL, 1994; LEITE, 2005a; WILLBUR et al., 2019; WILLETTS; WONG, 1980). Em regiões com clima temperado que possui condições ideais para o desenvolvimento da doença as perdas na produtividade podem chegar a 100% (SCHWARTZ et al., 2006; SCHWARTZ; SINGH, 2013; SINGH; SCHWARTZ, 2010). No Brasil o mofo branco afeta mais as regiões Sul e Sudeste, principalmente nas safras de outono-inverno onde a produção do feijão é realizada em áreas irrigadas, o que contribui para criar um ambiente favorável para o desenvolvimento da doença (PAULA JÚNIOR et al., 2012; VIEIRA et al., 2010).

O primeiro relato da doença no Brasil foi no ano de 1921 em lavouras de batata (*Solanum tuberosum* L.) no estado de São Paulo, posteriormente o patógeno foi observado infectando outras culturas. No feijoeiro comum o primeiro relato foi em 1954 no Rio Grande do Sul (CHAVES, 1964). Recentemente foi relatado novos casos do fungo infectando diferentes hospedeiros, como ervilha e sálvia vermelha em Bangladesh (ISLAM et al., 2020; ISLAM; FERDOUS-E-ELAHI; KHATUN, 2019), manga no Japão (AJITOMI et al., 2018), repolho no Sri Lanka (MAHALINGAM et al., 2017), amendoim no Arkansas-EUA (FASKE; DRENNAN; HURD, 2017), feijão fava em Dakota do Norte-EUA (CHAPARA; CHITTEM; MENDOZA, 2018), agrião na Itália (GARIBALDI et al., 2019), berinjela e *Trifolium alexandrinum* no Paquistão (KAMRAM et al., 2019; SAIRA et al., 2017), cominho na Índia (PRASAD et al., 2017), *Macleaya cordata* Tabaco oriental na China (ZHOU et al., 2019; LU et al., 2020), mostarda, brócolis, alface e *Chrysogonum virginianum* no Tennessee-EUA (SHRESTHA et al., 2018; TRIGIANO; BOGGESS; OWNLEY, 2018) e novos hospedeiros, como cebolinha chinesa e feijão espada (*Canavalia gladiata*) na Coreia do Sul (CHOI et al., 2017; HAN et al., 2020), *Symphyotrichum dumosum* e *Verbena bonariensis* na Polônia (PIECZUL, 2018;

PIECZUL, 2019), oliveira na Itália (RUANO-ROSA et al., 2017) e em *Cannabis sativa* in Oregon-EUA (GARFINKEL, 2021)

A infecção do patógeno pode ocorrer em qualquer parte da planta, entretanto ocorre com maior frequência nas inflorescências, axilas foliares e ramos laterais. Portanto o período em que o feijoeiro está mais vulnerável ao ataque do patógeno é do florescimento (estádio R6) até formação e enchimento das vagens, visto que as flores servem como fonte primária de energia (nutriente) para o fungo (KIMATI et al., 2005; OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA et al., 2018).

O sintoma da doença no feijoeiro é caracterizado pelo surgimento de lesões aquosas nas folhas, haste ou vagens que se expandem rapidamente para as demais partes do hospedeiro. Nos caules desenvolvem lesões escuras, posteriormente essas lesões são cobertas por um micélio branco com aspecto cotonoso que é um sintoma bem característico da doença. Em alguns pontos o micélio começa a se aglomerar e mudar de coloração devido à falta de condições ideais para seu desenvolvimento, formando assim o escleródio, uma estrutura de resistência (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). No início do desenvolvimento da doença as plantas não aparentam estar infectadas, porém com o avanço da infecção as plantas começam a murchar.

As medidas de controle adotadas pelo produtor no combate ao mofo branco tem duas finalidades: a primeira é impedir que o patógeno entre em uma área onde ele não ocorre, pois, uma vez dentro da área torna-se difícil erradicar a doença; a segunda é evitar que a área onde o patógeno já se encontra tenha condições favoráveis para o seu desenvolvimento. A primeira medida de controle é a utilização de sementes certificadas e livre do patógeno, no entanto, esta não é uma prática comum entre os produtores de feijão, visto que eles preferem utilizar as sementes de plantios anteriores ou de origem desconhecida favorecendo a perpetuação do patógeno na área.

As outras medidas de controle do patógeno envolvem o manejo da área onde ele já ocorre. Uma delas é o controle químico mediante a aplicação de fungicidas nas lavouras que visa prevenir a doença e diminuir sua intensidade, este é um método bastante utilizado pelos produtores (BARDIN; HUANG, 2001; LEHNER et al., 2015; PAULA JÚNIOR et al., 2006; SCHWARTZ et al., 2004; STEADMAN, 1979). Os fungicidas fluazinam (fenilpiridinamina), tiofanato metil (benzimidazol) e procimidona (dicarboxamida) são os mais comumente utilizados dentre os sete fungicidas registrados no Brasil para o controle do mofo branco no feijoeiro (LEHNER et al., 2015). A utilização de fungicidas traz desvantagens tanto para o produtor quanto para o meio ambiente. Ao produtor acarreta um elevado custo, pois não podem ser aplicados em todas as regiões e safras, além disso alguns princípios ativos não são muito eficientes contra determinados isolados presentes no campo, uma alternativa para isso seria a

rotação de fungicidas com diferentes modos de ação (GOSSSEN; RIMMER; HOLLEY, 2001; JULIATTI et al., 2015; LEHNER et al., 2015; SCHWARTZ et al., 2004). A desvantagem para o meio ambiente é devido aos resíduos tóxicos deixados pelos fungicidas que acabam contaminando o solo e a água (ROCHA; OLIVEIRA, 1998).

Outra medida de controle é a utilização do controle biológico com *Trichoderma* que pode diminuir e até mesmo eliminar a utilização de fungicidas, dependendo da severidade da doença no campo, do manejo que está sendo praticado na área e das condições ambientais do local (CARPENTER et al., 2008; PAULA JÚNIOR et al., 2009; POMELLA; RIBEIRO, 2009; SMOLIŃSKA; KOWALSKA, 2018; ZANCAN et al., 2012). Isso é possível pois algumas espécies de *Trichoderma* são capazes de colonizar e destruir os escleródios presentes no solo (KIM; KNUDSEN, 2008). Existe vários outros agentes de biocontrole que vem sendo estudados para o controle do *Sclerotinia sclerotiorum*, como *Bacillus* spp. (KAMAL et al., 2015; MASSAWE et al., 2018; SABATÉ et al., 2018; SUN et al., 2017), *Pseudomonas* spp. (HERNANDEZ-LEON et al., 2015; SMOLIŃSKA; KOWALSKA, 2018) *Clonostachys rosea* (RODRIGUEZ et al., 2015), *Trichoderma harzianum* (ALEANDRI et al., 2015; ZHANG et al., 2016), *Paraphaeosphaeria minitans* (anteriormente *Coniothyrium minitans*) (BITSADZE et al., 2015; JONES; RABEENDRAN; STEWART, 2015; NICOT et al., 2019; ZENG et al., 2012), *Microsphaeropsis ochracea* (BITSADZE et al. 2015), *Trichoderma hamatum* (ALEANDRI et al., 2015; JONES; RABEENDRAN; STEWART, 2015), entre outros.

Outras medidas integradas que podem ser utilizadas: rotação de culturas utilizando culturas que não são hospedeiras do patógeno, por exemplo as gramíneas; limpeza dos implementos agrícolas como tratores, colheitadeiras, pulverizadores, etc, pois estes podem levar inóculo de uma área para outra; queima da palhada após a colheita; plantio direto; utilização de cultivares com porte ereto e precoces; regulação da frequência de irrigação, aração profunda e antecipada do campo, aumento do espaçamento entre plantas e linhas (ANDO et al., 2007; CIVARDI et al., 2019; KOLKMAN; KELLY, 2003; NAPOLEÃO et al., 2006; PRATT; ROWE, 1995; REIS; CASA; BIANCHIN, 2011; SOULE et al., 2011; TU, 1997). Entretanto somente a utilização destas medidas de controle não garantem a redução dos danos no campo, apenas conferem níveis aceitáveis da doença na área (SCHWARTZ; SINGH, 2013).

Portanto, a utilização de linhagens ou cultivares resistentes ou parcialmente resistentes é a melhor alternativa para diminuir os riscos de uma epidemia (CASTAÑO; VEAR; LABROUHE, 2001; MIORINI et al., 2019; PAULA JÚNIOR et al., 2012; SMOLIŃSKA; KOWALSKA, 2018; SOULE et al., 2011). Não existe resistência completa no feijoeiro, embora progênies com bons níveis de resistência fisiológica tenham sido identificadas (ABREU et al.,

2019; GONÇALVES; SANTOS, 2010). As principais fontes de resistência genética ao mofo branco estão restritas a cultivares exóticas e que não são adaptadas as condições climáticas do Brasil, como a cultivar Ex-Rico 23 (cultivar Mesoamericana) e as cultivares A 195 e G 122 (cultivar Andina) (MIKLAS et al. 2001b). Uma boa estratégia para reduzir as perdas decorrentes da doença é aliar a resistência genética com os mecanismos de escape (porte ereto, hábito de crescimento determinado, dossel aberto e poroso) proporcionando que a planta, durante seu período de vulnerabilidade, escape da infecção inicial (FERREIRA et al., 2019; KOLKMAN; KELLY, 2002; MIKLAS et al., 2001a; MIKLAS et al., 2013; SOULE et al., 2011).

Apesar de existir vários métodos de controle para *S. sclerotiorum* nenhum é totalmente eficaz no controle da doença, o que se busca é manter a população do patógeno em níveis baixos de modo que o produtor possa coexistir com a doença no campo e que a produtividade não seja afetada.

2.2 *Sclerotinia sclerotiorum*

Sclerotinia sclerotiorum é um fungo classificado taxonomicamente como pertencente ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae, gênero *Sclerotinia* e espécie *Sclerotinia sclerotiorum* (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). Este é um patógeno necrotrófico homotálico, conhecido por infectar culturas vegetais oleaginosas e ornamentais, e por ser endêmico de regiões com altitude elevada, especialmente com umidade elevada e temperatura amena (PRATT; ROWE, 1995; SCHWARTZ; SINGH, 2013). Não há um único sintoma que seja comum a todas as plantas que são infectadas pelo mofo branco, ou seja, é desconhecida a especificidade entre o patógeno e seus hospedeiros. Embora haja subdivisão populacional, não existe uma associação das suas populações com as espécies cultivadas (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; FERNANDO; NAKKEERAN; ZHANG, 2004; MALVÁREZ et al., 2007).

O mofo branco pode sobreviver em ambientes desfavoráveis por um longo tempo por meio de sua estrutura de resistência denominada de escleródio, que é produzida na ausência de um hospedeiro suscetível (ATTANAYAKE; XU; CHEN, 2019; COOK; STEADMAN; BOOSALIS, 1975; OLIVEIRA, 2005). O período em que os escleródios se mantêm viáveis no solo ainda não está bem definido na literatura. Os escleródios podem se manter viáveis por oito anos (ADAMS; AYERS, 1979), e até mesmo por 11 anos (GÖRGEN et al., 2010). Próximos à superfície do solo os escleródios podem sobreviver de um a três anos (COOK; STEADMAN;

BOOSALIS, 1975; DAVIS, 1925). Devido a sua importância, estudos têm sido realizados para identificar quais são os mecanismos que levam a formação dos escleródios (XU et al., 2018).

Os primeiros autores a descrever os estágios de desenvolvimento do escleródio foi Townsend e Willetts (1954) que identificaram três estágios de desenvolvimento do escleródio: I) iniciação – ocorre a agregação de hifas para formar uma massa branca denominada de escleródios iniciais; II) desenvolvimento – ocorre o crescimento da hifa e agregação para aumentar o tamanho e III) maturação – ocorre a delimitação da superfície, deposição de melanina nas células periféricas e consolidação interna. Li e Rollins (2009) com base em observação *in vitro* em diferentes condições de crescimento e substrato, identificou seis estágios de desenvolvimento: I) iniciação – ocorre a agregação das hifas vegetativas e a formação de agrupamentos discretos de hifas aéreas que são designadas como iniciais de escleródios; II) condensação – as iniciais de escleródios começam a condensar e aumentam de tamanho liberando pequenas quantidades de exsudato; III) aumento – ocorre um aumento na taxa de crescimento dos escleródios e são observadas grandes quantidades de exsudato; IV) consolidação – a coloração do escleródio neste estágio é clara e uma superfície delimitada torna-se visível; V) pigmentação – ocorre o acúmulo de melanina tornando os escleródios mais escuros, exsudatos claros ainda são produzidos; VI) maturação - neste estágio os escleródios se desenvolvem até o tamanho máximo, possuindo uma superfície escura, dura e sem exsudato.

Morfologicamente os escleródios possuem três camadas distintas quando amadurecem: a camada externa possui uma parede grossa e rica em melanina, que confere a coloração negra, uma camada intermediária denominada de córtex que possui uma parede fina e a camada interna denominada de medula branca, que é o micélio dormente do fungo (ORDÓÑEZ-VALENCIA et al., 2015). Após seu desenvolvimento os escleródios tornam-se negros, enrijecidos, com formato variável e altamente resistentes ao calor, congelamento, produtos químicos e temperaturas de até 600°C, (LEITE, 2005b; LE TORNEAU, 1979; WILLBUR et al., 2019).

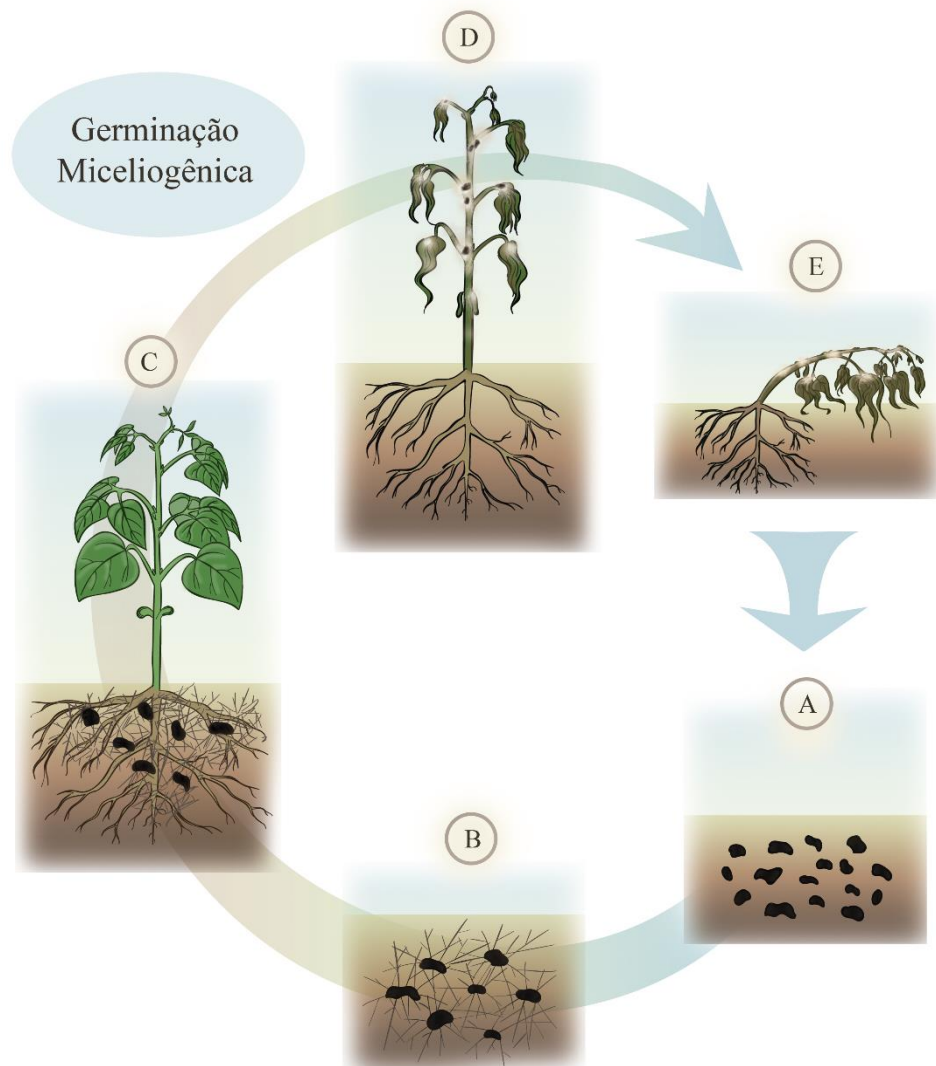
A germinação, o desenvolvimento e a sobrevivência dos escleródios podem ser afetados por fatores como: pH do solo; umidade; nutrição; temperatura; atividade de microorganismos; formato, idade e tamanho dos escleródios; profundidade na qual se encontram no solo; presença de gases ou elementos químicos no solo; entre outros (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; COSTA; COSTA, 2006; NAPOLEÃO et al., 2006). Os escleródios são importantes para o ciclo de vida do patógeno e o estabelecimento da doença, pois têm um papel essencial na reprodução sexual e assexual do patógeno, além de ser uma forma de sobrevivência do fungo.

A germinação dos escleródios pode ser miceliogênica, pela emissão do micélio, ou carpogênica, pela formação do apotécio (Figura 1 e 2). Diversos fatores podem influenciar o

tipo de germinação, como as condições ambientais (especificamente temperatura e umidade) e a concentração de nutrientes onde os escleródios se encontram (ADAMS; AYERS, 1979; PHILIPS, 1987; WILLETTS; WONG, 1980). Segundo Civardi et al. (2019) fatores como temperatura em torno dos 20°C e alta umidade do solo contribuem para a germinação carpogênica dos escleródios.

Na germinação miceliogênica ocorre o crescimento de massas de hifas hialinas, septadas, ramificadas, multinucleadas, cuja coloração pode ser branca ou marrom, estas características também são encontradas em hifas oriundas dos esporos (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006). O micélio formado é capaz de penetrar nos tecidos saudáveis dos hospedeiros diretamente pela cutícula utilizando enzimas ou por meio de mecanismos de força via apressórios através dos estômatos (KORA; McDONALD; BOLAND, 2003; LE TOURNEAU, 1979; LUMSDEN, 1979; LUMSDEN; DOW, 1973). A infecção por micélio ocorre em poucas culturas, como em girassol e em algumas leguminosas (LE TOURNEAU, 1979). Neste tipo de germinação não ocorre a produção de conídios assexuais, no entanto, ocorre a produção de microconídios nas hifas ou no himênio do apotécio, os microconídios não germinam e a sua utilidade para a biologia do fungo ainda não é conhecida (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; KOHN, 1979a). O gatilho da germinação miceliogênica é a matéria orgânica que serve como fonte de energia para a formação do micélio (KOHN, 1979b; ROTHMANN; McLAREN, 2018).

Figura 1 – Germinação miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

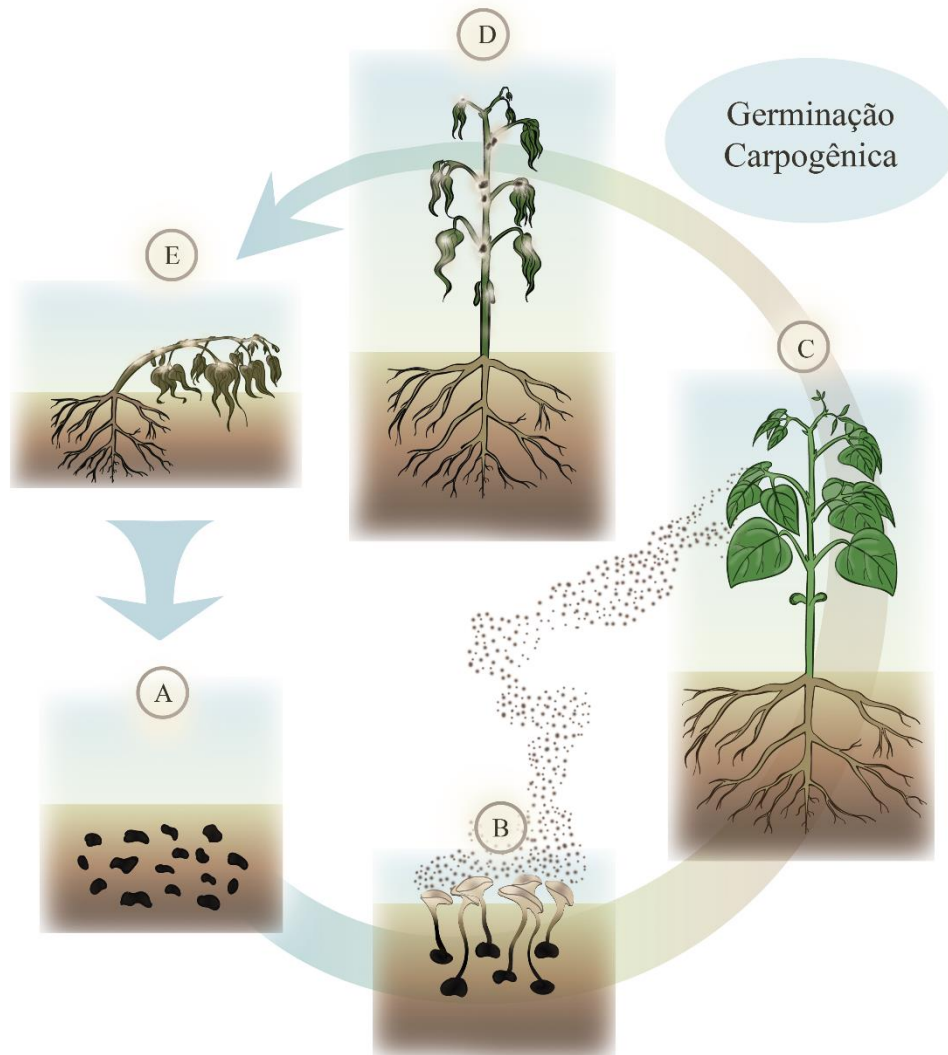


Legenda: A: Escleródios no solo; B: Formação do micélio pela germinação dos escleródios; C: Infecção causada por micélio; D: Sintomas; E: Morte da planta e permanência dos escleródios no solo. Fonte: Do autor (2022).

Na germinação carpogênica fatores ambientais tais como, temperatura do solo, temperatura na qual os escleródios foram produzidos e a umidade são essenciais para que a germinação ocorra. O fator mais crítico para a produção de apotécio é a umidade do solo intensificada com a irrigação e em períodos de muita chuva, o que justifica a ocorrência da doença (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; HUANG; KOZUB, 1993). Os ascósporos são produzidos por meio da reprodução homotática ou auto-fértil, devido a um único loco MAT que contém os dois domínios que codificam os genes do tipo MAT1-1 e MAT1-2 (WILLBUR et al., 2019)

O início da germinação se dá com a ativação do desenvolvimento do fungo no córtex medular ou no interior da medula do escleródio, onde ocorre a formação dos primórdios que posteriormente, irão romper a camada superficial do escleródio e continuar seu desenvolvimento como ramificações em forma de tubos, que são denominados de estipes (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; CRATO, 2013; GÖRGEN, 2009; SILVA, 2007). Inúmeros primórdios são formados, porém apenas alguns irão dar origem ao apotécio (PHILLIPS, 1987). Quando os estipes são expostos à luz, em particular a luz ultravioleta (<390 nm), eles se diferenciam em apotécios, isto é, a ponta do estipe se expande para formar uma superfície superior denominado himênio, dando origem, assim ao apotécio, uma estrutura que possui a forma de uma taça (GIACHINI, 2013; GÖRGEN, 2009; WU et al., 2007). Cada escleródio pode produzir um ou mais apotécios, sendo esta quantidade de apotécios fortemente relacionada ao tamanho do escleródio e a disponibilidade de matéria orgânica (ABREU, 2011, 2016; DILLARD; LUDWIG; HUNTER, 1995; HAO; SUBBARAO; DUNIWAY, 2003; SCHWARTZ; STEADMAN, 1989).

Figura 2 – Germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.



Legenda: A: Escleródios no solo; B: Formação dos apotécios pela germinação dos escleródios e esporulação; C: Infecção causada por ascósporos; D: Sintomas; E: Morte da planta e permanência dos escleródios no solo.

Fonte: Do autor (2022).

No himênio ocorre a formação de inúmeros ascos que são células zigóticas semelhantes a bolsas cilíndricas e muitas paráfises que são ascos estéreis e servem como estrutura de suporte. Dentro dos ascos são produzidos os ascósporos (esporos sexuais) que é a principal forma de infecção do patógeno (BOLAND; HALL, 1987; HARIKRISHNAN; DEL RIO, 2006; STEADMAN, 1983).

Cada apotécio tem a capacidade de produzir centenas de ascos, dentro de cada ascos são produzidos oito ascósporos ou múltiplos de oito. Estes são hialinos, elipsoides, binucleados,

possui forma ovóide e apresentam de 4 a 10 μm de largura e 9 a 16 μm de comprimento, (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006; CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2005; SCHWARTZ; STEADMAN, 1989; SILVA, 2007). A liberação dos ascósporos pode ocorrer tanto durante o dia quanto a noite e é ocasionada por mudança na umidade relativa ou por mudanças físicas do apotécio, uma parte destes ascósporos liberados é carregado por correntes de ar, entretanto a maioria dos ascósporos ficam depositados no solo onde foram produzidos (ABREU, 2016; GIACHINI, 2013; HARTILL; UNDERHILL, 1976; LI; YOUNGLI; NIAN, 1994; WEGULO et al., 2000). Uma vez que os ascósporos são liberados estes podem percorrer aproximadamente 100 m sob o dossel das culturas utilizando-se das correntes de ar, no entanto, há relatos de ascósporos encontrados a 3-4 km de sua fonte de origem (ATTANAYAKE; XU; CHEN, 2019). Um apotécio pode produzir durante um período de 10 dias de 2 a 30 milhões de ascósporos, em condições ambientais favoráveis cada apotécio pode liberar até 1600 ascósporos por hora (CLARKSON et al., 2003, GÖRGEN, 2009; PAULA JÚNIOR, et al. 2018; SILVA, 2007).

Os ascósporos são envoltos por uma mucilagem pegajosa, que os auxiliam a se aderirem ao tecido dos hospedeiros ou a qualquer substrato (CLARKSON et al., 2003; GIACHINI, 2013). Quando os ascósporos se aderem à superfície de um tecido saudável irá ocorrer a germinação do ascósporo, contudo ele não infecta a planta se não tiver uma fonte exógena de nutriente e uma lâmina de água (ABREU, 2011; CLARKSON et al., 2003, CRATO, 2013; INGLIS; BOLAND, 1990; GÖRGEN, 2009). As fontes de nutrientes utilizadas pelos ascósporos para iniciar sua germinação e posteriormente, a infecção micelial da planta hospedeira são tecidos senescentes ou necrosados. As flores senescentes são as mais importantes fontes primárias de nutrientes, embora quase todos os tecidos que estejam danificados possam ser colonizados (ABREU, 2011; GÖRGEN, 2009; WILLBUR et al., 2019). Após os tecidos senescentes/necrosados serem colonizados, o fungo irá penetrar diretamente em tecidos intactos e saudáveis, se as condições climáticas não estiverem favoráveis para o desenvolvimento do micélio ele pode permanecer viável por até 144 horas em flores colonizadas e retornar seu desenvolvimento quando as condições estiverem favoráveis (CRATO, 2013; HARIKRISHMAN; DEL RIO, 2006; GÖRGEN, 2009). Após o fungo se espalhar pela planta, infecções secundárias em outras plantas podem ocorrer por contato, bem como a formação de escleródios na superfície ou cavidades da planta e nos restos de tecido senescentes que ficam no solo (GUIMARÃES; STOTZ, 2004; LUMSDEN; DOW, 1973).

2.3 Metodologias de inoculação artificial de *S. sclerotiorum*

A inoculação é o método pelo qual o micélio colonizado ou esporos de um fungo fitopatogênico é transferido do local em que foi produzido para qualquer parte do hospedeiro onde irá ocorrer a infecção.

A inoculação artificial de fungos em parte ou em toda a planta é uma metodologia bastante utilizada pelos pesquisadores para estudar vários aspectos como a interação patógeno e hospedeiro, a reação dos hospedeiros e a virulência do patógeno. Várias metodologias têm sido aplicadas para avaliar a reação de genótipos de feijoeiro a *S. sclerotiorum*, dentre elas:

2.3.1 Método da folha destacada

Consiste em destacar cada um dos três folíolos de uma mesma planta em estágio V4 e armazená-los em uma câmara úmida (gerbox com papel filtro molhado). A inoculação pode ser realizada com disco de micélio colonizado ou com flor infectada (LEONE; TONNEIJCK, 1990) e a avaliação é realizada medindo-se o diâmetro da lesão.

2.3.2 Método do ácido oxálico

A metodologia foi desenvolvida por Kolkman e Kelly (2000) que consiste em cortar as plantas em estágio V3 na região do colo e afixá-las em uma placa de isopor, sobre uma bandeja com a solução de ácido oxálico de modo que a base do caule cortado fique em contato com a solução. A avaliação é realizada utilizando-se uma chave descritiva de notas que varia de 1 a 6 onde é observado o nível de murcha das folhas. A vantagem deste método é a ausência de interferência de outros mecanismos de resistência na identificação da resistência fisiológica, bem como a existência de correlação entre esse método e a resistência ao mofo branco observada em campo (ANTONIO et al., 2008; KOLKMAN; KELLY, 2000).

2.3.3 Método de inoculação em planta intacta

Esta metodologia consiste em inocular o fungo sem causar nenhum ferimento na planta. A inoculação é realizada colocando o disco de micélio colonizado ou a flor infectada (SCHWARTZ; STEADMAN; COYNE, 1978) sobre cada um dos três folíolos de uma mesma

planta em estágio V4. A avaliação é feita medindo-se o diâmetro das lesões formadas em cada trifólio.

2.3.4 Straw test

Também chamado de teste do canudo é uma metodologia desenvolvida por Petzoldt e Dickson em 1996, e consiste em cortar o ápice da haste principal da planta e inocular o canudo contendo o meio colonizado de modo que o fungo fique em contato com a lesão causada na planta. A avaliação é realizada por meio de uma escala diagramática com notas de 1 a 9 (Tabela 1) (SINGH; SCHWARTZ; STEADMAN, 2014). É um método simples e o mais eficiente para avaliar a resistência fisiológica tanto em campo quanto em casa de vegetação (MIKLAS et al. 2001a; PETZOLDT; DICKSON, 1996; TERÁN; SINGH, 2008a). É um dos métodos de inoculação mais utilizados nos programas de melhoramento, pois em um curto espaço de tempo pode ser realizada a inoculação de muitas plantas.

Tabela 1 - Escala de avaliação do método straw test proposto por Singh; Schwartz; Steadman, 2014.

Nota	Sintomas
1	Planta sem sintomas.
2	Entrenó infectado, mas os sintomas não atingiram o primeiro nó.
3	Entrenó infectado, mas os sintomas pararam no primeiro nó inoculado.
4	Primeiro nó infectado, mas os sintomas param em $\leq 50\%$ do comprimento do segundo entrenó.
5	Infecção do segundo entrenó se move $>50\%$ do comprimento, mas os sintomas não atingem o segundo nó.
6	Segundo entrenó infectado, mas os sintomas param no segundo nó.
7	Segundo nó infectado, mas os sintomas param em $\leq 50\%$ do comprimento do terceiro entrenó
8	Infecção do terceiro entrenó se move $>50\%$ do comprimento, mas os sintomas não atingem o terceiro nó.
9	Terceiro entrenó infectado e os sintomas atinge ou passam o terceiro nó

Fonte: Adaptado de Singh; Schwartz; Steadman (2014).

2.3.5 Seedling straw test

Metodologia desenvolvida por Arkwazee e Myers em 2017, propõe a inoculação e avaliação no estágio vegetativo V2 (plântula), este método é uma versão modificada do straw test de Petzoldt e Dickson (1996). A inoculação é realizada através de um corte no caule abaixo do meristema apical e 2-3 cm acima das folhas primárias, posteriormente é colocado um canudo contendo o micélio do fungo no caule cortado. A avaliação da doença é realizada 4 dias após a inoculação utilizando-se uma escala diagramática com notas de 1 a 9 (Tabela 2). A principal

diferença entre as duas metodologias está no estágio de inoculação e na escala diagramática de avaliação, o que possibilita que o seedling straw test possa ser realizado em 25 dias, enquanto que o straw test é necessário pelo menos 35 dias.

Tabela 2 - Escala de avaliação do seedling straw test proposta por Arkwazee e Myers em 2017.

Notas	Sintomas
1	Planta sem sintomas.
2	Lesão até um ponto intermediário entre o caule cortado e o nó da folha primária.
3	A lesão atinge o nó foliar primário.
4	A lesão passa pelo nó foliar primário (dentro do primeiro quarto da distância entre o nó foliar primário e o nó cotiledonar).
5	A lesão atinge o ponto médio entre o nó foliar primário e o nó cotiledonar.
6	A lesão passa no ponto médio entre o nó foliar primário e o nó cotiledonar.
7	A lesão atinge o nó cotiledonar.
8	A lesão passa pelo nó cotiledonar, a primeira metade entre o nó cotiledonar e a superfície do solo.
9	A muda desmorona completamente e morre.

Fonte: Adaptado de Arkwazee; Myers (2017).

2.3.6 Método de inoculação com suspensão de ascósporos

É uma metodologia que simula a infecção que ocorre no campo, consiste na inoculação de uma suspensão de ascósporos obtido por meio da germinação carpogênica. A concentração de ascósporos na suspensão é ajustada de por meio da câmara de Neubauer. Existem poucos trabalhos na literatura sobre a inoculação com ascósporos devido ao tempo dispendido para executar a metodologia. Nestes trabalhos a inoculação é realizada no estágio de floração da planta, a inoculação da suspensão de esporos do patógeno pode ser feita com o auxílio de um

spray (HUZAR-NOVAKOWISKI; DORRANCE, 2018; ROUSSEAU et al. 2004; TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003).

Na literatura há inúmeras outras metodologias de inoculação descritas para a identificação de fontes de resistência ao mofo branco tais como: chumaço de algodão (BASTIEN et al., 2012); inoculação de escleródios em campo (HUANG; MUNDEL; ERICKSON, 2003); inoculação com cotilédones (KULL et al., 2003); inoculação da haste com palito colonizado (TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003); etc. Além disso pode ser encontrado também trabalhos que comparam diferentes metodologias de inoculação. Terán e Singh (2009) avaliaram a eficácia de três métodos de inoculação em casa de vegetação por dois anos consecutivos, os métodos são: corte na haste (*cut-stem*), flor infectada (*infected bean flower*) e sementes de aveia infectadas (*infected oat seed*). Concluíram que os métodos de corte na haste e flor infectada apresentaram elevadas correlações positivas entre si, indicando uma maior confiabilidade dos métodos. Ferreira et al. (2019) compararam seis métodos de inoculação: straw test modificado, chumaço de algodão, flor infectada em planta intacta ou em folha destacada, disco de micélio em planta intacta ou em folha destacada. Neste estudo, o straw test modificado foi o método mais eficiente para a seleção de genótipos resistentes ao mofo branco. Kull et al. (2003) avaliaram três métodos de inoculação para identificar níveis de resistência ao mofo branco em plantas de soja e feijão usando seis isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*: inoculação em cotilédones (*cotyledon*), corte na haste (*cut-stem*) e folha destacada (*detached leaf*). Concluíram que o método de corte na haste foi superior aos demais métodos, apresentando maior sensibilidade aos níveis de resistência observados, maior correlação entre os demais métodos e menor coeficiente de variação.

Diante do exposto, o método mais indicado de inoculação seria aquele que simula as condições de campo, visto que é pouco provável que a infecção comece por lesões causadas na planta, mas sim por flores senescentes infectadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, em casa de vegetação e câmara de nebulização, localizados no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil.

3.2 Material genético

Foram avaliadas cinco progênies $S_{0:3}$ de feijão pertencentes ao décimo segundo ciclo do programa de seleção recorrente para o mofo branco (CXII), uma cultivar com resistência parcial e quatro testemunhas: duas cultivares resistentes (Cornell 605 e A 195) e duas cultivar suscetível (IPR Corujinha e Beryl) (Tabela 3) (Figura 3), quanto à reação a dois isolados de *S. sclerotiorum*. Os isolados UFLA 65 e UFLA 145 foram coletados em Unaí-MG e Rio Paranaíba-MG, respectivamente.

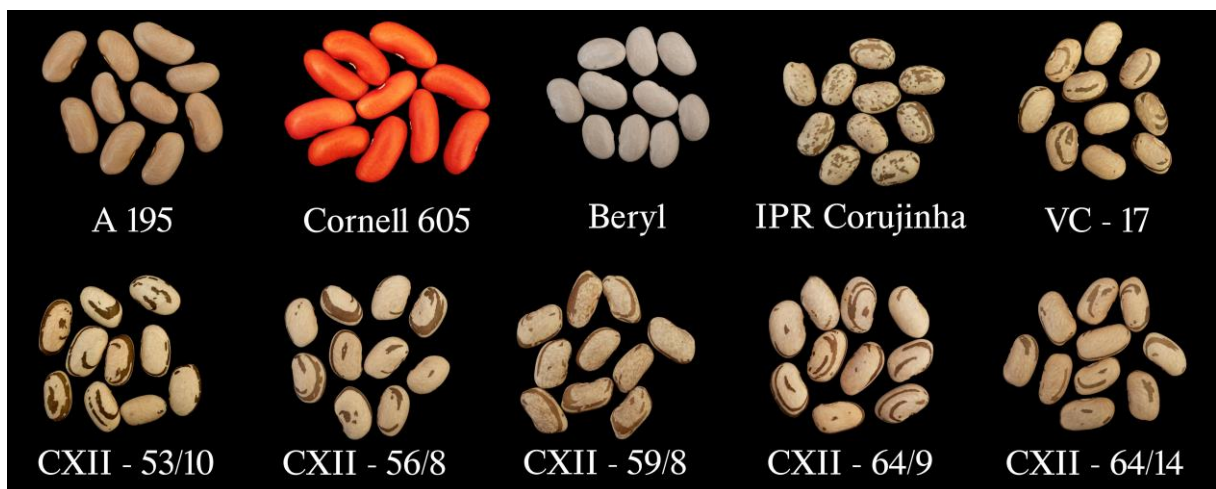
Tabela 3 - Reação ao mofo branco de linhagens, cultivares e progênies de feijoeiro comum.

ID	Nome	Reação ao mofo branco	Tipo
1	VC-17	Resistencia parcial	Cultivar
2	CXII-53/10	Resistente	Progênie $S_{0:3}$
3	CXII-56/8	Resistente	Progênie $S_{0:3}$
4	CXII-64/9	Resistente	Progênie $S_{0:3}$
5	CXII-59/8	Resistente	Progênie $S_{0:3}$
6	CXII-64/14	Resistente	Progênie $S_{0:3}$
7	Cornell 605	Resistente	Cultivar
8	A 195	Resistente	Cultivar
9	Beryl	Suscetível	Cultivar
10	IPR Corujinha	Suscetível	Cultivar

Legenda: ID-número identificador das linhagens, cultivares e progênies.

Fonte: Do autor (2022)

Figura 3 – Sementes de feijão das progênies, linhagens e cultivar.



Fonte: Do autor (2022)

3.3 Método de inoculação com micélio (*straw test*)

O teste de patogenicidade consistiu em dois experimentos, um para cada isolado de *S. sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com três repetições. A parcela foi constituída por um vaso de polietileno de capacidade de 3 litros, contendo uma mistura de terra e substrato comercial (2:1), onde foram mantidas três plantas. Adubações de plantio e de cobertura foram realizadas conforme as recomendações da cultura (VIEIRA et al., 2015).

O método utilizado para a inoculação foi o *straw test* proposto por Petzoldt e Dickson (1996), que consiste no corte do ápice da haste principal da planta e posteriormente, a inoculação com um canudo contendo o micélio do fungo. Neste estudo, o canudo foi substituído por ponteiros plásticos de micropipeta de 200µL. Para a obtenção de micélio para a inoculação, discos de ágar colonizados com micélio de cada isolado foram transferidos para placas contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) e estas mantidas a 22°C em incubadora BOD (biological oxygen demand), por quatro dias.

A inoculação foi realizada 34 dias após a semeadura e as plantas inoculadas mantidas em casa de vegetação na temperatura média de 23°C e umidade relativa de 75% (SINGH; SCHWARTZ; STEADMAN, 2014). Sete dias após a inoculação, foi avaliada a severidade do mofo branco por meio de uma escala diagramática com notas de 1 a 9 proposta por Singh, Schwartz e Steadman, (2014). A nota 1 é atribuída quando nenhum sinal de infecção ou sintoma de mofo branco é observado, quando a ponteira é removida; 2: entrenó infectado, mas a invasão e os sintomas não atingiram o primeiro nó; 3: entrenó infectado, mas invasão e os sintomas pararam no primeiro nó inoculado; 4: a invasão do patógeno se move após o primeiro nó de inoculação, mas os sintomas param em ≤50% do comprimento do segundo entrenó; 5: a infecção do segundo entrenó se move >50% do comprimento, mas os sintomas não atingem o segundo nó; 6: a infecção do segundo entrenó e os sintomas param no segundo nó; 7: a invasão de patógeno se move após o segundo nó de inoculação, mas os sintomas param em ≤50% do comprimento do terceiro entrenó; 8: a infecção do terceiro entrenó se move >50% do comprimento, mas os sintomas não atingem o terceiro nó; 9 a infecção do terceiro entrenó e os sintomas atinge ou passam o terceiro nó inoculado, levando a uma eventual morte da planta.

3.4 Metodologia de inoculação com suspensão de ascósporos

3.4.1 Produção de escleródio

Para a produção de escleródios, discos de meio colonizados com micélio de cada isolado foram transferidos para placas contendo meio de cenoura (cenoura + água + ágar) e estas foram mantidas à 22°C em incubadora BOD até a formação completa dos escleródios.

3.4.2 Obtenção do apotécio e suspensão de ascósporo

Para a obtenção do apotécio, a germinação carpogênica dos isolados foi induzida colocando-se os escleródios na superfície de uma mistura de areia, terra e substrato estéril na proporção de 3:3:1, respectivamente, dentro de gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) que foram umedecidas com água destilada. As gerbox foram mantidas em BOD a 17°C sob a iluminação de lâmpadas fluorescentes extra luz do dia (T10 20W 5000K) com fotoperíodo de 12 horas, até a formação de apotécios maduros.

Após a obtenção dos apotécios a suspensão de ascósporos foi obtida destacando-se os apotécios dos escleródios e colocando-os em um tubo falcon com 10 mL de água destilada autoclavada, onde foram ligeiramente macerados. A concentração de esporos foi ajustada para $1,5 \times 10^6$ ascósporos/mL com o auxílio da câmara de Neubauer. Foi acrescentada 30% de glicerol nas soluções obtidas para armazenamento em Deep freezer -80°C (OLIVIER & SÉGUIN-SWARTZ, 2006).

3.4.3 Inoculação em casa de vegetação

O teste de patogenicidade consistiu em dois experimentos, um para cada isolado de *S. sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com três repetições. A parcela foi constituída por um vaso de polietileno de capacidade de 10 litros, contendo uma mistura de terra e substrato comercial (2:1), onde foram mantidas duas plantas. Adubações de plantio e de cobertura foram realizadas conforme as recomendações da cultura. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação com umidade 75% e temperatura 25°C (SINGH; SCHWARTZ; STEADMAN, 2014) até a floração (estádio R6 - floração).

No dia da inoculação foram selecionadas sete flores por parcela que foram identificadas com linha para pesponto (100% poliéster), as demais flores existentes foram removidas. Com

o auxílio de um spray, a suspensão de ascósporos foi pulverizada sobre as flores de forma que gotículas da suspensão ficasse sobre a flor. Os vasos inoculados foram mantidos em câmara de nebulização à temperatura de $19^{\circ}\text{C}\pm 2$ por 1h30 e posteriormente, foram levados para casa de vegetação com umidade 75% e temperatura 23°C (SINGH; SCHWARTZ; STEADMAN, 2014) até o dia da avaliação.

Dez dias após a inoculação, foi avaliada a severidade do mofo branco por meio de uma escala diagramática com notas de 1 a 9 proposta por Toledo-Souza e Costa (2003). A nota 1 indica plantas sem sintomas; nota 2: aproximadamente 5% da planta infectada; nota 3: 10% da planta infectada; nota 4: 15% da planta infectada; nota 5: 25% da planta infectada; nota 6: 40% da planta infectada; nota 7: 60% da planta infectada; nota 8: 80% da planta infectada; nota 9: mais de 80% da planta infectada.

3.4.4 Inoculação em câmara de nebulização

O teste de patogenicidade consistiu em dois experimentos, um para cada um dos isolados de *S. sclerotiorum*, onde foi avaliado a reação de cinco linhagens/cultivar e cinco progênies de feijoeiro (Tabela 1). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com três repetições. A parcela foi constituída por um vaso de polietileno de capacidade de 10 litros, contendo uma mistura de terra e substrato comercial (2:1), onde foram mantidas duas plantas. Adubações de plantio e de cobertura foram realizadas conforme as recomendações da cultura. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação com umidade 75% e temperatura 25°C (SINGH; SCHWARTZ; STEADMAN, 2014) até a floração (estádio R6).

No dia da inoculação foram selecionadas sete flores por parcela que foram identificadas utilizando linha para pesponto (100% poliéster), as demais flores existentes foram removidas. Com o auxílio de um spray, a suspensão de ascósporos foi pulverizada sobre as flores de cada tratamento de forma que gotículas da suspensão permanecessem sobre as flores. Os vasos inoculados foram mantidos em câmara de nebulização à temperatura de $19^{\circ}\text{C}\pm 2$, irrigados seis vezes ao dia por 3 min (6h, 9h, 12h, 15h, 18h e 00h) com iluminação de LED (T8 18W 6500K 1850lm) programada com fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro, até o dia da avaliação.

Dez dias após a inoculação, a severidade do mofo branco foi avaliada aos dois isolados de *S. sclerotiorum*, por meio de uma escala diagramática com notas de 1 a 9 proposta por Toledo-Souza e Costa (2003), descrita no item 3.4.3.

3.5 Análise de dados

As notas médias das parcelas obtidas pela avaliação da resistência dos genótipos de feijão ao mofo branco foram submetidas a análise de variância individual e conjunta de acordo com o seguinte modelo estatístico.

Modelo estatístico da análise conjunta:

$$Y_{ijk} = m + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : severidade da doença do i étimo genótipo, infectado pelo j étimo isolado no k étimo bloco;

m : média geral; G_i : efeito do genótipo i ;

B/A_{jk} : corresponde ao bloco dentro de isolado no j étimo isolado e no k étimo bloco;

A_j : efeito do isolado j ;

GA_{ij} : efeito da interação do i étimo genótipo com o j étimo isolado;

E_{ijk} : efeito do erro experimental associado à observação Y_{ijk} .

Antes da aplicação da ANOVA, os dados obtidos foram analisados para verificar as pressuposições do modelo. Após esta verificação os procedimentos para a análise de variância foram realizados. As médias foram comparadas pelo teste de Dunnett, também foi obtido a correlação de Spearman. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Genes (CRUZ, 2013).

3.5.1 Estimativa da coincidência entre as metodologias

Para comparação entre os métodos foi utilizado o índice de similaridade determinado pela porcentagem de genótipos que foram agrupados na mesma classe de reação. Para estimar a coincidência entre as avaliações realizadas nos diferentes métodos de inoculação, as notas médias das linhagens/cultivar e das progênies $S_{0,3}$ do ciclo XII foram classificadas conforme sua reação de resistência ou suscetibilidade à *S. sclerotiorum*. Os genótipos que receberam notas de severidade ao mofo branco de 1 a 3 foram consideradas resistentes e os genótipos com notas superiores a 3 foram classificadas como suscetíveis.

$$IC = [(\text{genótipos coincidentes}) / \text{número total de genótipos total}] \times 100$$

em que: genótipos coincidentes é o número de linhagens/cultivar/progênes que apresentaram a mesma reação quando avaliadas pelo método straw test e suspensão de ascósporo em flor.

4 RESULTADOS

Na Tabela 4 são apresentadas as análises de variância conjunta da severidade do mofo branco nos diferentes métodos de inoculação. A fonte de variação genótipos foi significativa ($P < 0,01$) para os três métodos de inoculação utilizados, indicando que os genótipos diferem quanto a reação ao mofo branco. A fonte de variação isolados foi não significativo para o método de inoculação com suspensão de ascósporo em câmara de nebulização (CN) e em casa de vegetação (CAV), ou seja, os isolados apresentaram o mesmo nível de virulência. A interação genótipos x isolados foi significativa no método do straw test, indicando que a reação das progênes, linhagens e cultivar não foi coincidente perante os isolados inoculados do patógeno.

Tabela 4 – Resumo das análises de variâncias da severidade do mofo branco nos três métodos de inoculação.

FV	GL	Quadrados médios		
		ST ¹	CN ²	CAV ³
Genótipos	9	19,6965**	7,8678**	0,4611**
Isolados	1	5,4964*	1,4852 ^{ns}	0,0166 ^{ns}
Genótipos x Isolados	9	2,3891**	0,4144 ^{ns}	0,0907 ^{ns}
Erro	36	0,5453	0,2836	0,0925
Médias		5,9556	2,8506	1,8166
CV (%) ⁴		12,39	18,68	16,74

*, ** significativo a 5% e a 1% de probabilidade; ^{ns} não significativo pelo teste F.

¹ ST: método de inoculação straw test.

² CN: método de inoculação com suspensão de ascósporo em câmara de nebulização.

³ CAV: método de inoculação com suspensão de ascósporo em casa de vegetação.

⁴ CV (%): coeficiente de variação.

Fonte: Do autor (2022)

Devido a presença de interação no experimento do straw test foi realizada a análise individual para os isolados inoculados (Tabela 5), bem como o desdobramento do efeito de isolado (Tabela 6). Na análise individual a fonte de variação genótipos foi significativa para todos os métodos de inoculação utilizados, no entanto, a média de cada isolado em seu respectivo método de inoculação foi bem próxima. O desdobramento da interação genótipos x isolados no método straw test mostra que a reação dos genótipos CXII-59/8, CXII-64/14 e A 195 aos dois isolados de *S. sclerotiorum* não foi coincidente. As estimativas dos coeficientes de variação das diferentes metodologias variaram de 11,54% a 19,86%.

Tabela 5 – Resumo das análises de variâncias individuais da severidade do mofo branco nos três métodos de inoculação.

FV	GL	Quadrados médios					
		ST ¹		CN ²		CAV ³	
		UFLA 145	UFLA 65	UFLA 145	UFLA 65	UFLA 145	UFLA 65
Blocos	2	1,0127	0,1810	0,1213	0,6155	0,2333	0,1
Genótipos	9	11,4118**	10,6738**	2,5991**	5,6831**	0,2407*	0,1311*
Erro	18	0,5217	0,5689	0,2102	0,3571	0,0851	0,1
Médias		6,26	5,6	2,69	3,0	1,83	1,8
CV (%) ⁴		11,54	13,34	17,02	19,86	15,91	17,56

*, ** significativo a 5% e a 1% de probabilidade; ns não significativo pelo teste F.

¹ ST: método de inoculação straw test.

² CN: método de inoculação com suspensão de ascósporo em câmara de nebulização.

³ CAV: método de inoculação com suspensão de ascósporo em casa de vegetação.

⁴ CV (%): coeficiente de variação.

Fonte: Do autor (2022)

Tabela 6 – Desdobramento dos genótipos dentro de isolado.

FV	GL	QM	F	p-valor
Isolado/Tratamento	10	2,6998	4,9509	p=0,00017 ^{ns}
Isolado/VC-17	1	0,9882	1,7022	p=0,20027 ^{ns}
Isolado/CXII-53/10	1	1,6328	2,9942	p=0,09212 ^{ns}
Isolado/CXII-56/8	1	0,1666	0,3056	p=1,0 ^{ns}
Isolado/CXII-64/9	1	0,0204	0,0374	p=1,0 ^{ns}
Isolado/CXII-59/8	1	7,7748	14,2574	p=0,00057*
Isolado/CXII-64/14	1	6,6992	12,2850	p=0,00124*
Isolado/Cornell 605	1	0,4648	0,8523	p=1,0 ^{ns}
Isolado/A 195	1	8,1666	14,9760	p=0,00044*
Isolado/Beryl	1	0,2320	0,4255	p=1,0 ^{ns}
Isolado/IPR Corujinha	1	0,9126	1,6735	p=0,20402 ^{ns}
Erro	36	0,5453		

* significativo a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo pelo teste F.

Fonte: Do autor (2022)

No experimento de inoculação com suspensão de ascósporo em casa de vegetação as notas médias dos tratamentos variaram de 1 a 2. Segundo o teste de Dunnett para a inoculação com suspensão de ascósporo em câmara de nebulização todos os genótipos apresentaram reação semelhante ao grupo das testemunhas resistentes (Cornell 605 e A 195) nos dois isolados inoculados, entretanto para o isolado UFLA 145 as linhagens CXII-56/8 e CXII-64/9 também apresentaram reação semelhante a testemunha suscetível Beryl (Tabela 7). Para a metodologia do straw test inoculando com o isolado UFLA 145 apenas o genótipo CXII-53/10 foi semelhante ao grupo das testemunhas resistentes, dois genótipos (VC-17 e CXII-64/9) apresentaram reação semelhante a testemunha A 195, contudo, apresentou reação semelhante a testemunha suscetível Beryl e os demais genótipos apresentaram a mesma reação do grupo das testemunhas suscetíveis (Beryl e IPR Corujinha). Para o isolado UFLA 65 todos os genótipos apresentaram reação semelhante ao grupo das testemunhas suscetíveis.

Tabela 7 – Severidade média do mofo branco de seis genótipos e quatro testemunhas de feijoeiro comum, inoculadas pelo método straw test (ST) e por suspensão de ascósporos em câmara de nebulização (CN).

ID	Genótipos	ST				CN			
		UFLA 145		UFLA 65		UFLA 145		UFLA 65	
1	VC-17	6,3	bc	7,1	bd	2,0	ac	2,0	ac
2	CXII-53/10	3,6	ac	4,6	b	2,0	ac	2,0	ac
3	CXII-56/8	8,1	d	7,7	bd	2,6	abc	3,0	ac
4	CXII-64/9	5,6	bc	5,7	b	2,6	abc	2,6	ac
5	CXII-59-8	8,2	d	5,9	b	2,3	ac	1,8	ac
6	CXII-64/14	7,4	bd	5,3	b	2,3	ac	2,3	ac
7	Cornell 605	3,2	a	2,6	a	2,3	a	2,6	a
8	Beryl	5,8	b	6,2	b	3,6	b	4,6	b
9	A 195	5,1	c	2,7	c	2,0	c	2,6	c
10	IPR Corujinha	9,0	d	8,2	d	4,9	d	6,2	d

Médias seguidas pela mesma letra da testemunha são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Dunnet, $p \leq 0,05$.

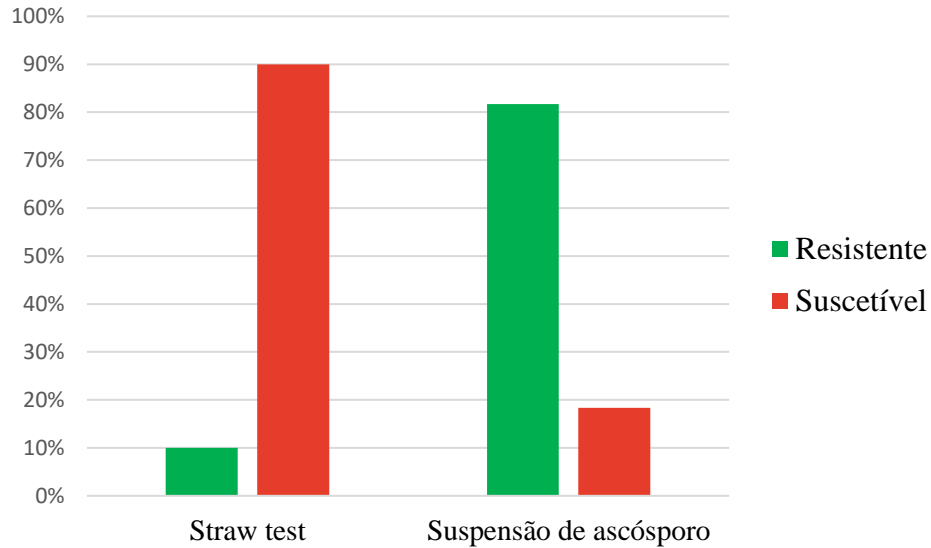
ID 7-10: testemunhas.

Fonte: Do autor (2022)

O genótipo CXII-53/10 apresentou reação semelhante ao grupo das testemunhas resistentes nos dois métodos de inoculação. Considerando o critério de classificação de Paula Júnior et al. (2012), linhagens que apresentam notas de 1 a 3 são consideradas resistentes, de 3,1 a 6 moderadamente resistentes e acima de 6,1 suscetíveis. Dessa forma, na metodologia straw test: para o isolado UFLA 145 nenhum genótipo foi resistente, sendo dois moderadamente resistentes (CXII-53/10, CXII-64/9) e os demais suscetíveis (VC-17, CXII-56/8, CXII-59/8, CXII-64/14); para o isolado UFLA 65 nenhum genótipo foi resistente, sendo dois suscetíveis (VC-17 e CXII-56/8) e os demais moderadamente resistentes (CXII-53/10, CXII-64/9, CXII-59/8, CXII-64/14). Já na metodologia de inoculação com suspensão de ascósporos em câmara de nebulização todos os genótipos foram resistentes.

Foi observada ausência de correlação (0,42; p -valor = 6,39) entre o método de inoculação com suspensão de ascósporo em flor em câmara de nebulização e o método straw test. Dos genótipos avaliados, 10% foram resistentes no método straw test e 81,67% no método de suspensão de ascósporo (FIGURA 4).

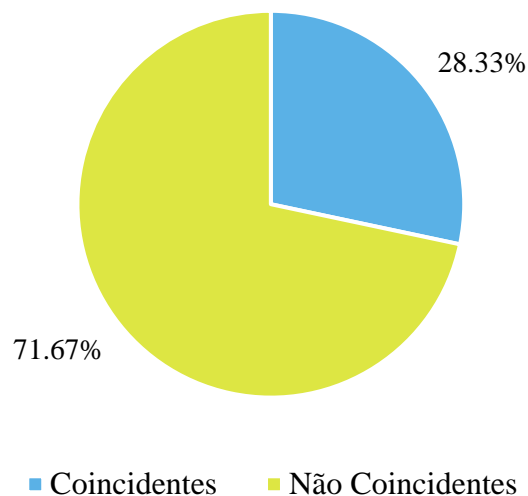
Figura 4 – Porcentagem de genótipos resistentes e suscetíveis ao mofo branco em duas metodologias de inoculação diferentes: straw test e suspensão de ascósporo em flor.



Fonte: Do autor (2022).

Observou-se coincidência de 28,33% entre as avaliações realizadas nas duas metodologias de inoculação. Cerca de 71,67% dos genótipos apresentaram comportamento não coincidente entre as metodologias, sendo suscetíveis com o método de inoculação straw test, mas com o método de inoculação com suspensão de ascósporo foram resistentes. Entretanto, o contrário não foi observado (FIGURA 5).

Figura 5 - Nível de coincidência das avaliações nos dois métodos de inoculação.



Fonte: Do autor (2022)

5 DISCUSSÃO

O insucesso do experimento de inoculação com suspensão de ascósporo em casa de vegetação foi devido à alta temperatura que ocasionou o baixo desenvolvimento do patógeno. A condição de temperatura favorável para incidência do mofo branco é entre 15 - 25 °C (CARDOSO, 1994; OLIVEIRA, 1999; PAULA JÚNIOR, et al. 2015, 2018; STEADMAN; BOLAND, 2005; WEISS; KERR; STEADMAN, 1980).

Schwartz, Steadman, Coyne (1978) avaliaram quais fatores ambientais são críticos para a caracterização de cultivares resistentes sob condições controladas avaliando três métodos de inoculação: flores senescentes colonizadas (flores embebidas em solução de suspensão de ascósporo 10⁴/mL); grãos de aveia infestados e tecidos da planta de feijoeiro colonizados. As inoculações foram feitas em plantas intactas de diferentes idades e órgãos destacados (folhas, caules, vagens, cotilédones) que foram incubados em diferentes temperaturas. Os resultados evidenciaram que o patógeno não consegue se desenvolver em temperaturas acima de 28 °C. Além disso, a umidade relativa também é um fator importante para a infecção do patógeno (ABAWI; GROGAN, 1975; GROGAN; ABAWI, 1975). Se o experimento de inoculação com suspensão de ascósporo for desenvolvido durante um período ou em um local onde a oscilação temperatura é pequena, esse método pode ser promissor.

A interação isolados x genótipos observada no método straw test expressa a complexidade da interação patógeno x hospedeiro. No presente trabalho foi observado coeficiente de variação abaixo de 20% indicando que os experimentos apresentaram boa precisão experimental. Já nos trabalhos de Huller (2017) e Tolêdo-Souza e Costa (2003) utilizando a inoculação com suspensão de ascósporo os autores obtiveram coeficientes de variação de 21,45% e 21,1%, respectivamente.

As progênies de feijoeiro utilizadas no presente trabalho foram obtidas do programa de seleção recorrente para a resistência ao mofo branco da UFLA. Estas progênies foram avaliadas por Lopes et al. (2019) utilizando o método de inoculação straw test e apresentaram as seguintes notas médias CXII-53/10 (2,81), CXII-56/8 (2,97), CXII-64/9 (3,16), CXII-59/8 (2,78), CXII-64/14 (2,90). No presente trabalho foi observado uma inversão no comportamento no método straw test, já para o método de suspensão de ascósporo as notas foram bem próximas. As diferenças provavelmente são devido aos ambientes onde foram conduzidos os experimentos, quantidade de plantas inoculadas ou aos isolados utilizados. Lopes et al. (2019) conduziram o experimento em campo onde os fatores ambientais (temperatura, umidade) não são controlados, e utilizaram o isolado UFLA 27. Já o presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação e

câmara de nebulização onde esses fatores são controlados o que favorece o desenvolvimento do patógeno.

No presente trabalho não foi possível discriminar os genótipos avaliados pelo método de suspensão de ascósporo, resultado semelhante ao obtido por Cline e Jacobsen (1983). No entanto, contrário ao observado por Huller (2017) e Tolêdo-Souza e Costa (2003).

Comparando a metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo em flor com outros métodos, a inconsistência nos resultados tem sido relatada (CLINE; JACOBSEN, 1983; HUNTER; DICKSON; CIGNA, 1981). Diferenças na reação dos genótipos em diferentes métodos de inoculação também têm sido discutidas (BOTHÁ, McLAREN; SWART, 2009; CLINE; JACOBSEN, 1983; FERREIRA et al. 2019; TOLÊDO-SOUZA; COSTA, 2003). De acordo com Botha, McLaren e Swart (2009) as respostas dos genótipos às inoculações estão relacionadas ao grau e área de dano tecidual causada na planta. Este mesmo autor sugere cautela ao interpretar dados sobre a resistência quando se usa métodos de inoculação artificial. Kull et al (2003) ao avaliar três métodos inoculações (tampão micelial de cotilédones, caules cortados e folhas destacadas) em cultivares de soja e feijão com seis isolados, verificaram que o método de cotilédones foi o melhor em identificar as cultivares resistentes, porém, as cultivares suscetíveis e moderadamente resistentes foram influenciadas pelos isolados e pelos métodos de inoculação utilizados.

O método de inoculação utilizado, a resistência das cultivares, as condições ambientais sejam em campo ou casa de vegetação, a variabilidade do patógeno, além da espécie hospedeira que se pretende trabalhar são fatores que podem influenciar nos resultados experimentais, sendo assim comparações entre trabalhos diferentes devem ser realizadas com cautela (ABREU, 2016; LEHNER et al., 2016; OTTO-HANSON; STEADMAN; HIGGINS, 2011; STEADMAN et al., 2006; TERÁN; SINGH, 2008b). Avaliação em campo sob ocorrência natural do fungo é o ideal, porém fatores tais como: distribuição não uniforme do patógeno na área, condições desfavoráveis para o desenvolvimento do patógeno e isolados com diferentes níveis de agressividade vão influenciar nos resultados experimentais (KIM, SNELLER, DIERS, 2000; LEITE, 2014; SILVA, et al. 2014).

No presente trabalho a ausência de correlação entre as metodologias de inoculação está relacionada aos diferentes mecanismos de defesa da planta, visto que uma metodologia causa lesão na planta e a outra não. Huller (2017) avaliando genótipos de soja suscetíveis observou correlação positiva e significativa entre a inoculação com suspensão de ascósporos e a inoculação com ácido oxálico, inoculação na haste e o método de micropipeta. Para a obtenção de genótipos com altos níveis de resistência ao mofo branco é necessária mais de uma

metodologia de inoculação quando possível a fim de garantir que os genótipos possuam diferentes estratégias de defesa (BOTHA; McLAREN; SWART, 2009). Ferreira et al. (2019) observaram que o método que melhor discriminou os genótipos foi o straw test seguido pela flor infectada em planta intacta. Isso mostra que a associação entre um método destrutivo e um não destrutivo pode gerar informações mais confiáveis sobre a resistência ou suscetibilidade de um genótipo. Terán e Singh (2009) observaram também que o straw test foi o melhor método para a triagem da resistência ao mofo branco.

A metodologia de inoculação com suspensão de ascósporos em câmara de nebulização teve um bom desempenho visto que conseguiu mostrar à similaridade entre as progênes/linhagens e as testemunhas resistentes. Além disso, não causa nenhum tipo de lesão na planta (não destrutivo), é realizado no estágio fenológico onde o feijoeiro está mais vulnerável, simula as condições de infecção que ocorre em campo, permite que as plantas resistentes completem o ciclo para se obter descendentes. Adicionalmente, as plantas podem se utilizar de seus mecanismos pré-formados para impedir que o patógeno penetre.

O tempo gasto para o método de inoculação com suspensão de ascósporo neste trabalho foi entre 44 dias a 68 dias, além do tempo gasto para produzir o escleródio e o apotécio. Portanto, o método de inoculação com suspensão de ascósporo não seria viável para ser utilizado como rotina de um programa de melhoramento devido à demanda de tempo para alcançar o estágio de desenvolvimento do feijoeiro mais avançada (R6), e exige um espaço maior em casa de vegetação e em câmara de nebulização quando comparado ao método straw test. Utilizando-se o método straw test é possível selecionar e recombinar as plantas resistentes no mesmo ciclo da planta, o que aumentará o ganho genético por unidade de tempo.

A presença de progênes que apresentaram comportamento semelhante às testemunhas suscetíveis no método straw test pode estar relacionado ao fato destas progênes ainda estarem segregando ou ao baixo número de plantas por progênes avaliada.

A aplicação do método de inoculação com suspensão de ascósporo em flor no programa de seleção recorrente é inviável, pois é um método que exige mais tempo, recurso. Além disso para se incrementar o ganho genético em um programa de seleção recorrente, busca-se a redução por unidade de tempo dos ciclos, ou seja, busca-se em um mesmo ciclo da planta inocular, avaliar e recombinar os genótipos. Essa redução por unidade de tempo não é possível neste método, pois ele se utiliza da flor para ser desenvolvido e, portanto, não é possível realizar os cruzamentos entre os melhores genótipos no mesmo ciclo da planta. De acordo com Santos et al. (2015), a floração inicia-se com a abertura da flor e termina com a queda da corola e dura entre quatro e cinco dias. O método de inoculação artificial com suspensão de ascósporo pode

ser melhor empregado nas etapas finais dos programas de melhoramento ou quando não for possível avaliar o experimento em condições naturais de campo.

6 CONCLUSÃO

A metodologia de inoculação com suspensão de ascósporo de *Sclerotinia sclerotiorum* em flores do feijoeiro apresentou menor eficiência na discriminação de genótipos quando comparada ao método straw test, porém esta metodologia pode ser uma alternativa nas etapas finais de um programa de melhoramento ou quando a inoculação em campo não é possível.

REFERÊNCIAS

- ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 65, p. 300-309, 1975.
- ABREU, M. J. **Caracterização de isolados do agente causal do mofo branco do feijoeiro**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 74, 2011.
- ABREU, M. J. **Reação de genótipos de feijão e agressividade de isolados do agente causal do mofo-branco**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 73, 2016.
- ABREU et al. Phenotypic and genotypic characterization of single isolate-derived monoascospore strains of *Sclerotinia sclerotiorum* from common bean. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 6, p. 533–540, 2019.
- ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 896-899, 1979.
- AJITOMI, A. et al. First report of *sclerotinia* rot of mango caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, v. 84, n. 1, p. 70-72, 2018.
- ALEANDRI, M. P. et al. Use of nursery potting mixes amended with local *Trichoderma* strains with multiple complementary mechanisms to control soil-borne disease. **Crop Protection**, v. 67, p. 269–278, 2015.
- ANDO, K. et al. Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 2, n. 26, p. 1–8, 2007.
- ANTONIO, R. P. et al. Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the reaction to oxalic acid. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 3, p. 733-740, 2008.

ARKWAZEE, H.; MYERS, J. R. Seedling straw test: a rapid and resource-efficient method for evaluating white mold resistance. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 60, p. 39–40, 2017.

ATTANAYAKE, R. N.; XU, L.; CHEN, W. *Sclerotinia sclerotiorum* populations: clonal or recombining? **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 23–31, 2019.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p. 247 (Documento/ Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1516-7518; 272), 2012.

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

BASTIEN, M. et al. A reproducible assay for measuring partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 92, p. 279–288, 2012.

BITSADZE N. et al. Single and combined colonization of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia by the fungal mycoparasites *Coniothyrium minitans* and *Microsphaeropsis ochracea*. **Plant Pathology**, v. 64, n. 3, p. 690-700, 2015.

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

BOLAND, G. J.; HALL, R. Epidemiology of *Sclerotinia* stem rot of soybean in Ontario. **Phytopathology**, v. 78, n. 9, p. 1241-1245, 1988.

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plants of hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal Plant Pathology**, v. 16, p. 93-108, 1994.

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**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

BOTHA, C.; McLAREN, N. W.; SWART, W. J. Evaluation of greenhouse inoculation techniques used to screen for *Sclerotinia* stem rot resistance in soybeans. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 26, n. 1, p. 48-50, 2009.

CAMARA, C. R. S.; URREA, C. A.; SCHLEGE, V. Pinto Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a functional food: implications on human health. **Agriculture**, v. 3, n. 1, p. 90-111, 2013.

CARDOSO, J. E. Mofó branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. EMBRAPA-SPI, p. 111-122, 1994.

CARDOSO, R. M. L.; LEITE, R. M. V. B. C.; BARBOSA, C. J. Doenças da canola. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Ceres, v. 2, p. 197-208. 2005.

- CARPENTER, M. A. et al. Characterization of a *Trichoderma hamatum* monooxygenase gene involved in antagonistic activity against fungal plant pathogens. **Current Genetics**, v. 25, p. 193-205, 2008.
- CASTAÑO, F.; VEAR, F.; LABROUHE, D. T. de. The genetics of resistance in sunflower capitula to *Sclerotinia sclerotiorum* measured by mycelium infections combined with ascospore tests. **Euphytica**, v. 122, n. 2, p. 373-380, 2001.
- CASTRO, J. L. et al. **O feijão no agronegócio brasileiro**. VI Seminário Sobre Pragas, Doenças e Plantas Daninhas do Feijoeiro, Campinas, v. 79, n. 1, p. 1-5, 2006.
- CHAPARA, V.; CHITTEM, K.; MENDOZA, L. E. R. First Report of White Mold Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on Faba Beans in North Dakota. **Plant Disease**, v. 102, n. 8, p. 1669, 2018.
- CHAVES, G. M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Experientiae**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 69-133, 1964.
- CHOI, I. Y. et al. First Report of *Sclerotinia* Stem Rot Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on Chinese chives in Korea. **Plant Disease**, v. 101, n. 11, p. 1953, 2017.
- CIVARDI, E. A. et al. Management of Congo grass cover crop affects timing of *Sclerotinia sclerotiorum* carpogenic germination and decay of soybean stem rot. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 94-103, 2019.
- CLARKSON, J. P. et al. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**. v. 107, n. 2, p. 213-222. 2003.
- CLINE, M. N.; JACOBSEN, B. J. Methods for evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 67, n. 7, p. 784-786, 1983.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do feijão**. Brasília: Conab, p. 244, 2018. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 17/01/2020.
- COOK, G. E.; STEADMAN, J. R.; BOOSALIS, M. G. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in Western Nebraska. **Phytopathology**, v. 65, p. 250-255, 1975.
- COSTA, G. R.; COSTA, J. L. S. Influência do solo e de substratos para produção de escleródios na germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, n. 2, p. 83-87, 2006.
- CRATO, F. F. **Quantificação de escleródios e germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* oriundos da cultura da soja tratada química e biologicamente**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Uberlândia. p. 83, 2013.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

- DAVIS, W. H. Drop of Chinese cabbage and our common cabbage caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) massee (*Sclerotinia libertiana* Fckl.). **Phytopathology**, v. 15, p. 249-259, 1925.
- DE RON, A. M. et al. Common Bean. In: DE RON, A. M. **Grain Legumes**. Handbook of Plant Breeding. Springer, v. 10, p. 1–36, 2015.
- DILLARD, H. R.; LUDWIG, J. W.; HUNTER, J. E. Conditioning sclerotia os *Sclerotinia sclerotiorum* for carpogenic germination. **Plant Disease**, v. 4, n. 79, p. 411-415, 1995.
- FASKE, T. R.; DRENNAN, G.; HURD, K. First Report of *Sclerotinia* Blight Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on Peanut in Arkansas. **Plant Health Progress**, v. 18, n. 1, p. 7-8, 2017.
- FERNANDO, W. G. D.; NAKKEERAN, S.; ZHANG, Y. Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Recent Res Dev Environ Biol**, v. 1, p.329–347, 2004.
- FERRAZ, L. C. L. et al. Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, v. 48, n. 1, p. 77-82, 1999.
- FERREIRA, L. U. **Resistência do feijoeiro comum ao mofo-branco: comparação de métodos de inoculação e seleção de populações e linhagens resistentes**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, p. 69, 2013.
- FERREIRA, L. U. et al. Comparison of inoculation methods for selecting common bean genotypes with physiological resistance to white mold. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 65–72, 2019.
- GARFINKEL, A. R. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem canker on *Cannabis sativa* in Oregon. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, p. 2245, 2021.
- GARIBALDI, A. et al. First report of white mold caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on watercress (*Nasturtium officinale*) in Italy. **Plant Disease**, v. 103, n. 1, p. 152, 2019.
- GIACHINI, R. M. **Epidemiologia, controle químico e distribuição espacial de *Sclerotinia sclerotiorum* em Mato Grosso**. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal de Mato Grosso, p. 137. 2013.
- GONÇALVES, P. R. C.; SANTOS, J. B. Physiological resistance of common bean cultivars and lines to white mold based on oxalic acid reaction. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 236-237, 2010.
- GÖRGEN, C. A. et al. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

- GÖRGEN, C. A. et al. 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, p. 73-104, 2010.
- GÖRGEN, C. A. **Manejo do mofo branco da soja com palhada de *Brachiaria ruziziensis* e *Trichoderma harzianum***. Dissertação - Universidade Federal de Goiás. p. 78, 2009.
- GOSSSEN, B. D.; RIMMER, S. R.; HOLLEY, J. D. First report of resistance to benomyl fungicide in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 85, n. 11, p. 1206, 2001.
- GROGAN, R. G.; ABAWI, G. S. The influence of water potential on the biology of *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 65, p. 122-128, 1975.
- GUIMARÃES, R.L.; STOTZ, H.U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Physiology**, v. 136, p. 3703-3711, 2004.
- HAN, I. et al. First report of *sclerotinia* rot in sword bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in South Korea. **Plant disease**, v. 104, n. 3, p. 988, 2020.
- HAO, J. J.; SUBBARAO, K. V.; DUNIWAY, J. M. Germination of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* sclerotia under various soil moisture and temperature combinations. **Epidemiology**, v. 93, n. 4, p. 443-450, 2003.
- HARIKRISHNAN, R.; DEL RIO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**, v. 90, n. 7, p. 946-950, 2006.
- HARTILL, W. F. T.; UNDERHILL, A. P. "Puffing" in *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. **New Zealand Journal of Botany**, v. 14, p. 355-358, 1976.
- HERNANDEZ-LEON, R. et al. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. **Biological Control**, v. 81, p. 83-92, 2015.
- HUANG, H. C.; MUNDEL, H. H.; ERICKSON, R. S. Effect of physiological resistance and plant architecture on yield of dry bean under disease pressure of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Plant Protection Bulletin**, v. 45, p. 169-176, 2003.
- HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Influence of inoculum production temperature on carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 5, p. 548-550, 1993.
- HUNTER, J. E.; DICKSON, M. H.; CIGNA, J. A. Limited-term inoculation: A method to screen bean plants for partial resistance to white mold. **Plant Disease**, v. 65, p. 414-417, 1981.
- HULLER, G. C. **Mofo branco: métodos de avaliação de suscetibilidade e expressão de genes relacionados à defesa em plantas de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, p. 43, 2017.

HUZAR-NOVAKOWISKI, J.; DORRANCE, A. E. Ascospore inoculum density and characterization of components of partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Disease**, v. 102, n. 7, p. 1326-1333, 2018.

INGLIS, G. D.; BOLAND, G. L. The microflora of bean and rapeseed petals and the influence of the microflora of bean petals on white mold. **Canadian Journal Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 129-134, 1990.

ISLAM, M. R. et al. First report of white mold caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on pea in Bangladesh. **Journal of Plant Pathology**, 2020.

ISLAM, M. M., FERDOUS-E-ELAHI; KHATUN, F. First report of white mold caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in red salvia (*Salvia splendens*) in Bangladesh. **Plant Disease**, v. 103, n.11, p. 2955, 2019.

JONES, E. E.; RABEENDRAN, N.; STEWART, A. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of cabbage by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma* spp. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 12, p. 1363–1382, 2015.

JULIATTI, C. F. et al. *Sclerotinia sclerotiorum* e Mofo branco: Estudos básicos e aplicados. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 23, p. 159–194, 2015.

KAMAL, M. M. et al. Biological control of *Sclerotinia* stem rot of canola using antagonistic bacteria. **Plant Pathology**, v. 64, n. 6, p. 1375–1384, 2015.

KAMRAN, M. et al. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem rot of eggplant (*Solanum melongena*) in Pakistan. **Plant Disease**, v. 103, n. 3, p. 589, 2019.

KIM, T. G.; KNUDSEN, G. R. Quantitative real-time PCR effectively detects and quantifies colonization of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Trichoderma* spp. **Applied Soil Ecology**, v. 40, p. 100-108, 2008.

KIM, H. S.; SNELLER, C. H.; DIERS, B. W. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia* stem rot in soybean. **Crop Science**, v. 40, n. 1, p. 55-61, 2000.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 4 ed, v. 2, 2005.

KOHN, L. M. Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 881- 886, 1979a.

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

KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. **Crop Science**, v. 40, n. 1, p. 281-285, 2000.

KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. Agronomic traits affecting resistance to white mold in common bean. **Cop Science**, v. 46, n. 3, p. 693-699, 2002.

- KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. QTL conferring resistance and avoidance to white mold in common bean. **Crop Science**, v. 43, n. 2, p. 539–548, 2003.
- 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**, v. 87, n. 5, p. 456-471, 2003.
- KULL, L. S. et al. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, v. 87, n. 12, p. 1471-1476, 2003.
- KULL, L. S. et al. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 88, p. 325-332, 2004.
- LEHNER, M. S. et al. Fungicide sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum*: A thorough assessment using discriminatory dose, EC₅₀, high-resolution melting analysis, and description of new point mutation associated with thiophanate-methyl resistance. **Plant Disease**, v. 99, n. 11, p. 1537-1543, 2015.
- LEHNER, M. S. et al. Similar aggressiveness of phenotypically and genotypically distinct isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 100, n. 2, p. 360-366, 2016.
- LEITE, M. E. **Seleção recorrente em feijoeiro visando resistência à *Sclerotinia sclerotiorum* e respostas bioquímicas à defesa contra o patógeno**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 153, 2014.
- LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, p. 3, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 76), 2005a.
- LEITE, R. M. V. B. C. Doenças do girassol. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Agronômica Ceres, 4 ed, v. 2, p. 385-400. 2005b.
- LEONE, G.; TONNEIJCK, A. A rapid procedure for screening the resistance of bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Euphytica**, v. 48, p. 87–90, 1990.
- LE TOURNEAU, D. Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 887- 890, 1979.
- LIANG, X.; ROLLINS, J. A. Mechanisms of broad host range necrotrophic pathogenesis in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 108, n. 10, p. 1128–1140, 2018.
- LI, M.; ROLLINS, J. A. The development-specific protein (Ssp1) from *Sclerotinia sclerotiorum* is encoded by a novel gene expressed exclusively in sclerotium tissues. **Mycologia**, v. 101, n. 1, p. 34–43, 2009.
- LI, Y. B.; YONGLI, Z.; NIAN, L. B. Study on the dissemination distance of sunflower stem rot fungus. **Journal of Plant Protection Research**, v. 20, p. 12- 13, 1994.

- LOPES, F. S. et al. Recurrent selection in common bean aiming at resistance to white mold in a greenhouse. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, p. 95-101, 2019.
- LU, C. -H. et al. First report of *Sclerotinia* blight caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on oriental tobacco in the Yunnan province of China. **Plant Disease**, v. 104, n. 6, p. 1867. 2020.
- LUMSDEN, R. D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 890-896, 1979.
- LUMSDEN, R. D.; DOW, R. L. Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of bean. **Phytopathology**, v. 63, p. 708-715, 1973.
- MACHADO, M. L. et al. Estimativa de severidade do mofo-branco em lavouras de feijão utilizando-se sensores hiper e multiespectral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 426-432, 2015.
- MAHALINGAM, T. et al. First report of white mold caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on cabbage in Sri Lanka. **Plant Disease**, v. 101, n. 1, p. 249, 2017.
- MALVÁREZ, G. et al. New populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from lettuce in California and peas and lentils in Washington. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 97, n. 4, p. 470-483, 2007.
- MASSAWE, V. C. et al. Volatile compounds of endophytic *Bacillus* spp. have biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 108, n. 12, p. 1373-1385 2018.
- MIKLAS, P. N. et al. QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold in dry bean. **Crop Science**, v. 41, n. 2, p. 309–315, 2001a.
- MIKLAS, P. N. et al. Inheritance and QTL analysis of physiological resistance to white mold in common bean G122. **Crop Science**, v. 41, p. 309-315, 2001b.
- MIKLAS, P. N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. **Euphytica**, v. 147, n. 1, p. 105-131, 2006.
- MIKLAS, P. N. et al. Characterization of white mold disease avoidance in common bean. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, n. 3, p. 525-543, 2013.
- MIORINI, T. J. J. et al. Differential aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from North and South America and partial host resistance in Brazilian soybean and dry bean cultivars. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 73-81, 2019.
- MITCHELL, D. C. et al. Consumption of dry beans, peas, and lentils could improve diet quality in the US population. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 109, n. 5, p. 909-913, 2009.
- NAPOLEÃO, R. et al. Effect of plant spacing and bean cultivar on white mold and seed sanity. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 63-66, 2006.

- NICOT, P. C. et al. Differential susceptibility to the mycoparasite *Paraphaeosphaeria minitans* among *Sclerotinia sclerotiorum* isolates. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 82–93, 2019.
- OLIVIER, C. Y.; SÉGUIN-SWARTZ, G. Development of a storage method for ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 28, p. 489–493, 2006.
- OLIVEIRA, S. H. F. **Doenças do feijoeiro: guia de identificação, fenologia e controle**. Instituto Biológico, p. 30-35, 1999.
- OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo do mofo branco**. DBO Agrotecnologia, v. 2; n. 4; p. 8-13, 2005.
- OLIVEIRA, M. G. C. et al. **Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos**. Embrapa, Brasília, 1 ed, p. 62, 2018.
- ORDÓÑEZ-VALENCIA, C. et al. Morphological development of sclerotia by *Sclerotinia sclerotiorum*: a view from light and scanning electron microscopy. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 765–770, 2015.
- OTTO-HANSON, L.; STEADMAN J. R.; HIGGINS, R. Variation in *Sclerotinia sclerotiorum* bean isolates from multisite resistance screening locations. **Plant Disease**, n. 98, v. 11, p. 1370-1377, 2011.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. **Manejo integrado do mofo-branco do feijoeiro**. Viçosa – MG: Epamig, p. 48, 2006.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 44-48, 2009.
- PAULA JÚNIOR, J. T. et al. Mofo Branco. In: PAULA JÚNIOR, T. J. de; WENDLAND, A. **Melhoramento genético do feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. Viçosa, MG: Epamig, p. 157, 2012.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. Doenças do feijoeiro: estratégias integradas de manejo In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. Viçosa: ED. UFV, p. 270-299, 2015.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. Mofo branco. In: PRIA, M. D.; SILVA, O. C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Editora UEPG, p. 101-105, 2018.
- PAULA JÚNIOR, T. J. de; WENDLAND, A. **Melhoramento genético do feijoeiro-comum e prevenção de doenças**. Viçosa, MG: Epamig, p. 157, 2012.
- PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. Straw test for resistance to white mold in beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 39, n. 39, p. 142-143, 1996.
- PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, v. 19, n. 3, p. 279-283, 1987.

- PIECZUL, K. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* (*Sclerotinia* Blight) on *Symphotrichum dumosum* in Poland. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1027, 2018.
- PIECZUL, K. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Verbena bonariensis* in Poland. **Journal of Plant Pathology**, v. 101, n. 3, p. 761, 2019.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 239-244, 2009.
- PRASAD, L. et al. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* infecting cumin (*Cuminum cyminum*) in India. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 833, 2017.
- PRATT, R. G.; ROWE, D. E. Comparative pathogenicity of isolates of *Sclerotinia trifoliorum* and *S. sclerotiorum* on alfalfa cultivars. **Plant Disease**, v. 79, n. 5, p. 474-477, 1995.
- PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 875–880, 1979.
- REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 85–91, 2011.
- RIVERA, A. et al. The spanish core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an important source of variability for breeding chemical composition. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 1642, p. 1-11, 2018.
- ROCHA, J. R. S.; OLIVEIRA, N. T. Controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis*), com *Trichoderma koningii*. **Summa Phytopathologica**, v. 24, p. 180-183, 1998.
- RODRÍGUEZ, M. A. et al. Suppressive soil against *Sclerotinia sclerotiorum* as a source of potential biocontrol agents: selection and evaluation of *Clonostachys rósea* BAFC1646. **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 12, p. 1388–1409, 2015.
- ROESE, A. D. et al. Agricultural diversification reduces the survival period of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, p. 713–722, 2018.
- ROTHMANN, L. A.; McLAREN, N. W. *Sclerotinia sclerotiorum* disease prediction: A review and potential applications in South Africa. **South African Journal of Science**, v. 114, n. 3/4, p. 1-9, 2018.
- ROUSSEAU, G. et al. Greenhouse and field assessments of resistance in soybean inoculated with sclerotia, mycelium, and ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 84, n. 2, p. 615-623, 2004.
- RUANO-ROSA, D. et al. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* associated with olive fruit rot in Italy. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 1040, 2017.

SABATÉ, D. C. et al. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus strains*. **Microbiological Research**, v. 211, n. p. 21–30, 2018.

SAIRA, M. et al. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem and crown rot of berseem (*Trifolium alexandrinum*) in Pakistan. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 835, 2017.

SANTOS, J. B. et al. Botânica. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. Viçosa: ED. UFV, p. 37-66, 2015.

SARTORATO, A. et al. Principais doenças transmitidas pela semente. In: VIEIRA, E. H. N.; RAVA, C. A. (Ed.). **Sementes de feijão: produção e tecnologia**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, p. 147-199, 2000.

SCHWARTZ, H. et al. Inheritance of white mold resistance in the interspecific crosses of pinto cultivars Othello and UI 320 and *Phaseolus coccineus* L. accessions PI 433246 and PI 439534. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 47, p. 279-280, 2004.

SCHWARTZ, H. F. et al. Inheritance of white mold resistance in *Phaseolus vulgaris* × *P. coccineus* crosses. **Plant Disease**, v. 90, n. 9, p. 1167–1170, 2006.

SCHWARTZ, H. F.; SINGH, S. P. Breeding common bean for resistance to white mold: A review. **Crop Science**, v. 53, n. 5, p. 1832-1844, 2013.

SCHWARTZ, H. F.; STEADMAN, J. R.; COYNE, D. P. Influence of *Phaseolus vulgaris* blossoming characteristics and canopy structure upon reaction to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 68, p. 465-470, 1978.

SCHWARTZ, H. F.; STEADMAN, J. R. White mold. In: SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). **Bean production problems in the tropics**. Cali: CIAT, 2 ed, p. 211-230, 1989.

SHRESTHA, U. et al. First report of basal drop and white mold on lettuce, broccoli, and mustard caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Tennessee, U.S.A. **Plant Disease**, v. 102, n. 1, p. 249, 2018.

SILVA, F. F. M. **Germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary sob diferentes extratos e resíduos de vegetais**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados. p. 68, 2007.

SILVA, P. H. Reaction of common bean lines and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates. **Genetics and Molecular Research**, v 13, n. 4, p. 9138-9151, 2014.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F.; STEADMAN, J. R. A new scale for white mold disease rating for the common bean cut-stem method of inoculation in the greenhouse. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 57, p. 231–232, 2014.

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

- SMOLÍŃSKA, U.; KOWALSKA, B. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* - a review. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, n. 1, p. 1–12, 2018.
- SOULE, M. et al. Comparative QTL map for white mold resistance in common bean, and characterization of partial resistance in dry bean lines VA19 and I9365-31. **Crop Science**, v. 51, n. 1, p. 123-139, 2011.
- STEADMAN, J. R.; BOLAND, G. White mold. In: SCHWARTZ, H. F.; STEADMAN, J. R.; HALL, R.; FORSTER, R. L. **Compendium of bean diseases**. The American **Phytopathological Society**, ed. 2, p. 44–46, 2005.
- STEADMAN, J. R. Control of plant diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 904-907, 1979.
- STEADMAN, J. R. White mold – a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983.
- STEADMAN, J. R. et al. Identification of partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in common bean at multiple locations in 2005. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 49, p. 223-224, 2006.
- SUN, G. et al. Identification and biocontrol potential of antagonistic bacteria strains against *Sclerotinia sclerotiorum* and their growth-promoting effects on *Brassica napus*. **Biological Control**, v. 104, p. 35–43, 2017.
- TERÁN, H.; SINGH, S. P. One cycle of recurrent selection for physiological resistance to white mold in dry bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 51, n. 42, 2008a.
- TERÁN, H.; SINGH, S. P. Response of dry bean genotypes with different levels of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* to three inoculation methods. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 51, p. 218-217, 2008b.
- 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 of Plant Science**, v. 89, n. 4, p. 755-762, 2009.
- TOLÊDO-SOUZA, E. D.; COSTA, J. L. S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 2, p. 57-63, 2003.
- TOWNSEND, B. B.; WILLETS, H. J. The development of sclerotia in certain fungi. **Transactions British Mycologia Society**, v. 37, n. 3, p. 213-221, 1954.
- TRIGIANO, R. N.; BOGGESS, S. L.; OWNLEY, B. H. First report of an aerial blight of *Chrysogonum virginianum* (green and gold) caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in the United States. **Plant Disease**, v. 102, n. 2, p. 450, 2018.

- TU, J. C. An integrated control of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) of beans, with emphasis on recent advances in biological control. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 38, p. 73–76, 1997.
- VENEGAS, F.; SAAD, J. C. C. Fungigação no controle do mofo branco e produtividade do feijoeiro em condições de cerrado brasileiro. **Irriga**, v. 15, p. 159-172, 2010.
- VIEIRA, R. F. et al. White mold management in common bean by increasing within-row distance between plants. **Plant Disease**, v. 94, n. 3, p. 361–367, 2010.
- VIEIRA, R. F. et al. Adubação. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JÚNIOR, T. J. BORÉM, A. **Feijão: do plantio à colheita**. Viçosa: ED. UFV, p. 145-172, 2015.
- VILHORDO, B. W. et al. Morfologia. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, p. 71-99, 1996.
- WEISS, A.; KERR, E. D.; STEADMAN, J. R. Temperature and moisture influences on development of white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) on Great Northern beans. **Plant Disease**, v. 64, p. 757-759, 1980.
- WEGULO, S. N. et al. Spread of *Sclerotinia* stem rot of soybean from area and point sources of apothecial inoculum. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 80, n. 2, p. 389-402, 2000.
- WILLBUR, J. et al. An overview of the *Sclerotinia sclerotiorum* pathosystem in soybean: impact, fungal biology, and current management strategies. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 3-11, 2019.
- WILLETTS, H. J.; WONG, J. A. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. **Botanical Review**, v. 46, n. 2, p. 101-165, 1980.
- WU, B. M. et al. Incubation of excised apothecia enhances ascus maturation of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycologia**, v. 99, n. 1, p. 33–41, 2007.
- XU, L. et al. *Sclerotinia sclerotiorum*: An Evaluation of Virulence Theories. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 56, p. 15.1-15.28, 2018.
- ZANCAN, W. L. A. et al. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p.782-789, 2012.
- ZENG, W. et al. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 225–232, 2012.
- ZHANG, F. L. et al. Biocontrol Potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 100, p. 64–74, 2016.

ZHOU, L. et al. First report of *Sclerotinia* stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on *Macleaya cordata* in China. **Plant Disease**, v. 103, n. 3, p. 584, 2019.