



VANESSA CARVALHO CÂNDIDO

**SELEÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO
CONTRA *Stromatinia cepivora***

**LAVRAS – MG
2019**

VANESSA CARVALHO CÂNDIDO

**SELEÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO CONTRA *Stromatinia*
*cepivora***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia/Fitopatologia, área de
concentração em Fitopatologia, para
obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza
Orientador

**LAVRAS - MG
2019**

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

Cândido, Vanessa Carvalho.

Seleção de agentes de controle biológico contra
Stromatinia cepivora / Vanessa Carvalho Cândido. - 2019.
39 p. : il.

Orientador(a): Jorge Teodoro de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal
de Lavras, 2019.
Bibliografia.

1. Podridão branca. 2. Controle biológico. 3. *Trichoderma*.
I. Souza, Jorge Teodoro de. II. Título.

VANESSA CARVALHO CÂNDIDO

SELEÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO CONTRA
Stromatinia cepivora

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia/Fitopatologia, área de
concentração em Fitopatologia, para
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de setembro de 2019

Dr. Jorge Teodoro de Souza
Dr. Everaldo Antônio Lopes
Dr. Phellippe Arthur Santos Marbach

UFLA
UFV
UFRB

Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza
Orientador

LAVRAS - MG
2019

*À minha mãe Marlene que nunca mediu esforços para tornar meus sonhos realidade,
ao Gabriel, meu grande incentivador.*
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me iluminar durante esse desafio, sempre me guiar e colocar tantas pessoas boas em meu caminho.

À minha mãe Marlene pelo amor incondicional e apoio em cada passo, ao meu pai, Cipriano, que está sempre presente em minhas decisões, vó Docha, madrinhas e a toda minha família por estarem sempre ao meu lado.

Ao Gabriel, por todo amor, companheirismo, por nunca me deixar desistir e acreditar tanto em mim.

Ao professor Dr. Jorge Teodoro de Souza que me proporcionou inúmeros aprendizados, agradeço pela oportunidade, por contribuir com meu crescimento profissional e pessoal e por sempre me incentivar.

Aos amigos de laboratório, turma de mestrado 2017/1 e NEFIT que sempre me auxiliaram, obrigada pela convivência e amizade. Em especial à Amanda, Thaisa e Yasmim por tornarem essa jornada mais leve.

À Sarah Costa, Luísa Reis e Ariane Alvarenga pela paciência, ensinamentos e auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

À República MÓNarquia, pelo prazer de poder compartilhar meus anos em Lavras com pessoas tão queridas.

À Ana Flávia Mazzotti, Marina e Ana Flávia Ribeiro por todo apoio, carinho e serem meu ombro amigo de todas as horas.

À Universidade Federal de Lavras e Departamento de Fitopatologia pela oportunidade ímpar.

À banca avaliadora pela disponibilidade e por contribuírem com meu trabalho.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Laboratório de Controle Biológico da Universidade Federal de Lavras e Universidade de Addis Ababa que disponibilizaram os isolados para condução da pesquisa.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudos.

À todos que acreditaram que seria possível, muito obrigada!

RESUMO

Stromatinia cepivora Whetzel (Sin. *Sclerotium cepivorum* Berk.,) causadora da doença denominada podridão branca, afeta lavouras produtoras de alho no mundo todo e causa perdas severas. O patógeno possui gama de hospedeiros restrita, atacando exclusivamente plantas do gênero *Allium* e é capaz de formar escleródios, que são responsáveis pela disseminação do patógeno que ocorre em temperaturas em torno de 17°C. Os escleródios podem permanecer no solo por 20 anos na ausência de plantas hospedeiras. A aplicação de microrganismos antagonistas em campo para o controle de patógenos é tida como alternativa sustentável para o manejo de doenças. Diante do exposto, é desejável a busca por medidas alternativas que possam auxiliar no controle efetivo da doença. Objetivou-se selecionar agentes de controle biológico de *S. cepivora* que sejam capazes de colonizar e inviabilizar escleródios sob 17°C, temperatura onde ocorre maior incidência da doença. Foram testados 70 isolados obtidos de diferentes localidades. Verificou-se o crescimento micelial e a capacidade de esporulação por meio do plaqueamento de cada isolado em meio BDA e incubação em BOD por 7 dias à 17°C. Os ensaios “in vitro” foram realizados por meio do tratamento de oito escleródios dispostos sobre papel filtro umedecido com 2 microlitros de uma suspensão de esporos de cada isolado. As placas foram incubadas em BOD a 17°C por 14 dias e após este período, os escleródios foram esterilizados novamente e plaqueados em uma nova placa contendo meio BDA por 20 dias a 17°C para verificar a colonização do microrganismo sobre o escleródio. Cinquenta e um isolados apresentaram produção de micélio e esporulação a 17°C, características promissoras para desenvolvimento de produtos de controle biológico. Os isolados de *Trichoderma* CX01TR12-, CX01TRCAM e CX02TR19MTS colonizaram 100% dos escleródios em ambas as vezes em que o experimento foi realizado. Estes isolados apresentam potencial para condução de futuros experimentos em campo para controle de *S. cepivora* a fim de auxiliar no manejo da doença na cultura do alho.

Palavras-chave: Podridão branca. Controle biológico. *Trichoderma*.

ABSTRACT

Stromatinia cepivora Whetzel (Syn. *Sclerotium cepivorum* Berk.), which causes the disease known as white rot, affects garlic-producing areas worldwide and causes severe losses. The pathogen has a restricted host range, exclusively attacking plants in the genus *Allium* and is capable of forming sclerotia, which are responsible for the spread of the pathogen that occurs at temperatures around 17°C. Sclerotia can remain viable in the soil for 20 years in the absence of host plants. The application of antagonistic microorganisms in the field to control pathogens is considered a sustainable alternative for disease management. In this context, the search for alternative measures that can assist in the effective control of the disease is desirable. The objective of this study was to select biological control agents against *S. cepivora* that are capable of colonizing and degrade the sclerotia at 17°C, the temperature in which the incidence of the disease is higher. Seventy isolates from different localities were evaluated. The mycelial growth and sporulation capacity of the isolates were verified by plating each isolate in PDA medium and incubating for 7 days at 17°C. The “in vitro” assays were performed by applying 2 microliters of the spore suspension of each isolate on eight sclerotia placed on wet filter paper inside Petri plates incubated at 17°C for 14 days. After this period, the sclerotia were sterilized again and plated in a new plate containing PDA medium and incubated at 17°C for 20 days to verify sclerotia viability. Fifty-one isolates grew and sporulated at 17°C, which are promising characteristics for the development of biological control products. *Trichoderma* isolates CX01TR12-, CX01TRCAM and CX02TR19MTS colonized 100% of the sclerotia in both times the experiment was performed. These isolates have the potential to be tested in future field experiments to control *S. cepivora* in garlic.

Keywords: White rot. Biological control. *Trichoderma*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Escleródios de *Stromatinia cepivora* cultivados em placas contendo batata-dextrose-ágar e mantidas a 17°C durante 20 dias.....18
- Figura 2 - Porcentagem de escleródios colonizados por potenciais agentes de controle biológico em ensaios *in vitro* a 17°C. (A) Isolados de *Trichoderma* pertencentes à coleção micológica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. (B) Isolados pertencentes à coleção micológica do Laboratório de Controle Biológico da Universidade Federal de Lavras. (C) Isolados pertencentes à coleção micológica da Universidade de Addis Ababa.....27
- Figura 3 - Testemunha e isolados cultivados em meio BDA por 20 dias a 17°C que colonizaram 100% dos escleródios tratados. A-B) Primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios utilizados como testemunha, tratados com água destilada esterilizada, C-D) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX01TRCAM, E-F) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX02TR19MTS, G-H) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX01TR12-.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação visual do micélio e esporulação dos isolados em estudo cultivados em meio batata-dextrose-água crescidos em BOD a 17°C durante 7 dias.....	25
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 A Cultura do alho e sua importância.....	15
2.2 Podridão branca do alho.....	17
2.3 Controle biológico da podridão branca.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Obtenção dos isolados.....	22
3.2 Crescimento dos isolados a 17°C.....	23
3.3 Obtenção de escleródios	23
3.4 Preparo da suspensão e avaliação da eficácia dos isolados como agente de controle biológico “in vitro”	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1 Crescimento dos isolados a 17°C.....	25
4.2 Avaliação da eficácia dos isolados como agente de controle biológico “in vitro” ...	26
5. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L.) está entre as mais antigas espécies cultivadas no mundo, é utilizado como condimento e também como fitoterápico (APOLINÁRIO et al., 2008; LONDHE, 2014). A cultura tem papel importante para pequenos produtores em sua renda mensal e na geração de empregos no campo e na indústria. Nos últimos anos, a produção brasileira tem aumentado gradativamente. A produção de alho brasileira ainda é insuficiente para suprir a demanda interna, sendo necessário importar de países produtores como China e Argentina (CONAB, 2017b). Entre os fatores que restringem a produção de alho estão a falta de conhecimento do produtor para condução de lavouras, preços elevados para a implantação da cultura e doenças (LUCINI, 2004; RESENDE et al., 2004).

A podridão branca, causada pelo fungo *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel (1945) (Sin.: *Sclerotium cepivorum* Berk.), é considerada uma das mais devastadoras doenças de plantas de alho, causando grandes perdas em áreas produtoras no mundo inteiro (FUGA et al., 2012). No Brasil, a podridão branca está presente em diversas regiões produtoras de alho. O fungo produz micélio estéril e escleródios que podem ficar no solo por mais de 20 anos (COLEY-SMITH et al., 1990). Os escleródios são responsáveis pela dispersão e sobrevivência do patógeno no campo (CROWE, 1995). Temperaturas em torno de 10 a 20°C e umidade elevada favorecem a germinação dos escleródios e ocorrência da doença (LOURENÇO JUNIOR et al., 2018).

Espécies do gênero *Allium* são as únicas afetadas por *S. cepivora*. Exsudatos liberados pelas raízes estimulam a germinação dos escleródios e o início do processo de colonização da planta hospedeira. O patógeno penetra as raízes e bainha das folhas, onde as hifas degradam as células epidérmicas (COLEY-SMITH; HOLT, 1966; CROWE et al., 1980; STEWART, 1989). Plantas infectadas apresentam murcha, amarelecimento, seca da parte aérea, redução do porte e deterioração dos bulbos (UTKHEDE, 1982; NUNES; KIMATI, 1997). *Stromatinia cepivora* pode afetar plantas de alho em todos os estágios de desenvolvimento (ENTWISTLE, 1990) e a busca por medidas de controle eficientes da doença se faz necessária para garantir a sustentabilidade da produção de alho.

A doença já foi relatada em diversos países, como Brasil (PINTO et al., 1998), Nova Zelândia (TYSON et al., 2002), Espanha (EARNSHAW; BOLAND, 1997), Estados Unidos (DAVIS et al., 2007), Canadá (COUCH; KOHN, 2000) entre outros. No Brasil e México já foram relatadas perdas de 100% em lavouras infectadas pelo patógeno (ANDREA et al., 1996; PINTO et al., 2000).

A podridão branca é de difícil controle, tendo em vista que, na ausência da planta hospedeira, o fungo pode permanecer no solo por muitos anos (UTKHEDE, 1983; COLEY-SMITH; PARFITT, 1986). O controle da doença é de suma importância para evitar a disseminação do fungo, o principal método é evitar sua entrada em áreas produtoras (BREWSTER, 2008). A utilização de sementes sadias (REIS; OLIVEIRA, 2013), fungicidas como tebuconazole, triadimenol e boscalida (VILLALTA et al., 2012), solarização (PRADOS-LIGERO et al., 2002) e plantio antecipado (PINTO et al., 1998) são algumas das estratégias adotadas para o controle da doença em áreas já infestadas pelo patógeno. O uso de agrotóxicos de forma descontrolada gera cada vez mais preocupações devido à toxicidade ao homem e outros animais, aos alimentos e ao meio ambiente. A estratégia ideal para o controle de doenças em campo é a utilização de diferentes táticas em conjunto, a aplicação de químicos e biológicos em conjunto já foi realizada com êxito para contenção da disseminação de diferentes doenças no mundo todo.

O controle biológico de doenças consiste na aplicação de microrganismos antagonistas em lavouras objetivando realizar o manejo de fitopatógenos (NAGARAJKUMAR; BHASKARAN; VELAZHAHAN, 2004). Cook & Baker (1983) apresentaram um conceito amplo, onde descrevem o controle biológico como “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem”. A utilização de agentes de controle biológico vem crescendo nos últimos anos. Atualmente, não existem produtos de controle biológico disponíveis para o manejo da podridão branca do alho. Reduzir o número de escleródios por meio do uso de agentes de controle biológico é uma alternativa desejável para a redução da podridão branca no campo.

Espécies de *Trichoderma* já foram descritas como bons agentes de controle biológico, pois são espécies que possuem a capacidade de colonizar escleródios (OLMEDO-MONFIL; CASAS-FLORES, 2014). No Brasil, foram testados isolados de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. para reduzir o crescimento micelial de *S. cepivora* (FUGA et al., 2016). A capacidade de *Trichoderma viride* e *T. pseudokoningii* degradarem escleródios colocados em caixas contendo solos diferentes sob condições controladas foi avaliada e constatou-se que em solos argilosos os isolados foram capazes de degradar aproximadamente 80% dos escleródios (CLARKSON et al., 2004), *Coniothyrium minitans* (PÉREZ-MORENO et al., 2004) também foi analisado para colonização de escleródios em laboratório e em campo.

Fatores como pH do solo, presença de outros microrganismos, quantidade de água e temperatura influenciam a eficácia do controle biológico (PAULA JÚNIOR et al., 2012).

Apesar de possuírem boas características como agente de controle biológico, os isolados de *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp., e *C. minitans* estudados anteriormente apresentaram dificuldades em colonizar os escleródios em campo devido a condições ambientais, principalmente, temperatura, tendo em vista que a doença se manifesta em baixas temperaturas (CLARKSON et al., 2002; CLARKSON et al., 2004; PÉREZ-MORENO et al., 2004; FUGA et al., 2016). Fuga et al., (2012) citam que os isolados estudados no Brasil provavelmente estão mais adaptados a temperaturas em torno de 25 a 30°C.

Desta forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de realizar a seleção e avaliação da eficácia de isolados que são possíveis agentes de controle biológico na colonização de escleródios de *S. cepivora* sob 17°C.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do alho e sua importância

Mais de 700 espécies pertencem à família *Aliaceae* e, entre elas, está o alho (BARRERA; CAMARGO, 1985). O centro de diversidade do alho é na Ásia central, tendo sido descoberto no Egito aproximadamente em 3700 AC, onde era empregado para fins medicinais (BLOCK, 1985; FENWICK; HANLEY, 1985; BANERJEE; MAULIK, 2002).

No Brasil, o cultivo do alho iniciou-se no período do descobrimento, porém, seu plantio ficou limitado a pequenos cultivos durante muito tempo. Somente no século XX, o cultivo foi expandido no território brasileiro, obtendo, então, visibilidade entre os agricultores e valor comercial ampliado (RESENDE et al., 2016). O alho possui diversas funções terapêuticas e é utilizado como especiaria no preparo de alimentos (FILGUEIRA, 2003; AMIN et al 2014) e é uma cultura de importância para os produtores, tendo em vista que é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil (IBGE, 2017).

A planta de alho possui aproximadamente 50 cm de altura e, em condições climáticas adequadas, exibe pendoamento, surgimento de um escapo floral e, por fim, apresenta inflorescência com forma de umbela simples. O alho não forma sementes botânicas (FILGUEIRA, 2003). Ocorre o desenvolvimento das gemas do caule, e cada uma destas será responsável por formar um bulbilho, que será envolto por uma folha de proteção, uma folha de reserva e uma folha de brotação (SOUZA et al., 2009). A junção de vários bulbilhos dará origem ao bulbo, o número de bulbilhos em cada bulbo pode variar de 5 até 56, onde estes são conectados no caule por meio da base (MENEZES SOBRINHO, 1978).

Em sua fase inicial, a cultura do alho requer temperaturas amenas, 18 a 20°C, para desenvolvimento. Durante o processo de bulbificação, a planta necessita de temperaturas mais baixas, aproximadamente 10 a 15°C e para o processo de maturação temperaturas mais altas, 20 a 25°C. Para o bulbo de alho desenvolver-se, fotoperíodo longo é um pré-requisito e caso este seja insuficiente sua formação será afetada. No Brasil, foi desenvolvida uma técnica chamada de vernalização pré-plantio, esta faz com que a planta seja menos exigente em fotoperíodo e baixas temperaturas. A técnica consiste em colocar as sementes em câmaras frias para realizar a frigorificação em temperaturas de 4°C e umidade relativa de 65 a 70%, durante 45 a 60 dias. A umidade e o número de dias a essas condições podem variar de acordo com a temperatura onde o bulbilho-semente foi produzido e da região onde este será plantado. A vernalização tornou possível o cultivo de alho em locais onde essa prática era

impossível (MENEZES SOBRINHO et al., 1993; FILGUEIRA, 2003; RESENDE et al., 2004).

Nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil, o plantio de alho é realizado de fevereiro a junho, sendo preferencialmente plantado em março ou abril, porém, a data pode variar de acordo com a cultivar. Na região Sul, o plantio é realizado de maio a julho (EMBRAPA, 2019). Com a técnica de vernalização foi possível reduzir o ciclo do alho. Cultivares que não são submetidas à vernalização possuem ciclo em torno de 210 dias e as sementes que são submetidas possuem o ciclo cultural oscilando entre 90 a 130 dias, dependendo da cultivar, período em que o plantio foi realizado, condições e quantidade de tempo no qual a semente foi submetida ao resfriamento (RESENDE et al., 2016).

A China é líder mundial na produção de alho, representando quase 80% da produção mundial. Índia e a Coreia do Sul ocupam segundo e terceiro lugar, respectivamente. O Brasil representa somente 0,4% da produção mundial, tendo produção inexpressiva em comparação com os demais países produtores (FAO, 2013a). Estima-se que em 2017, houve produção de 132,8 mil t no Brasil, cultivados em aproximadamente 11,156 mil ha (CONAB, 2017b). De acordo com dados do IBGE (2017), Minas Gerais é o maior produtor de alho do país, com cerca de 27,8% da produção, seguido de Goiás com 20,2%, Santa Catarina com 20,1%, Rio Grande do Sul com 18,1% e Bahia com 6,9%. Quanto à produtividade, no Brasil, em 2017, estima-se que a cultura do alho apresentou cerca de 11,9 t/ha. Os maiores produtores mundiais, China e Índia produziram 27,1 t/ha e 5,3 t/ha, respectivamente (FAO, 2018b). Baixos investimentos conferidos à cultura quanto a tecnologias de produção fazem com que o Brasil ainda não seja capaz de suprir sua demanda interna de alho (LUCINI, 2004). Foram importados aproximadamente 15,6 mil t de alho para consumo de janeiro a maio de 2019. Neste período, as importações foram oriundas da Argentina, 46,8% da quantidade total, seguido de China, 43,6% e Espanha 4,9%. As demais importações foram oriundas do Chile, Jordânia e Peru (CONAB, 2019a).

Doenças causadas por fitopatógenos, falta de conhecimento do produtor para condução de lavouras e preços elevados para implantação da cultura estão entre os fatores limitantes para a produção de alho (LUCINI, 2004; RESENDE et al., 2004). *Stromatinia cepivora* Whetzel (Sin. *Sclerotium cepivorum* Berk) e *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough (Sin. *Sclerotium rolfsii* Sacc.) se destacam entre os patógenos que causam prejuízo aos produtores. *Stromatinia cepivora* possui gama de hospedeiras muito estreita (ENTWISTLE, 1990) e *Athelia rolfsii* tem ampla gama de hospedeiros, fazendo do primeiro

um dos gêneros mais importantes de patógenos para o alho (PUNJA, 1985; BULLUCK; RISTAINO, 2002).

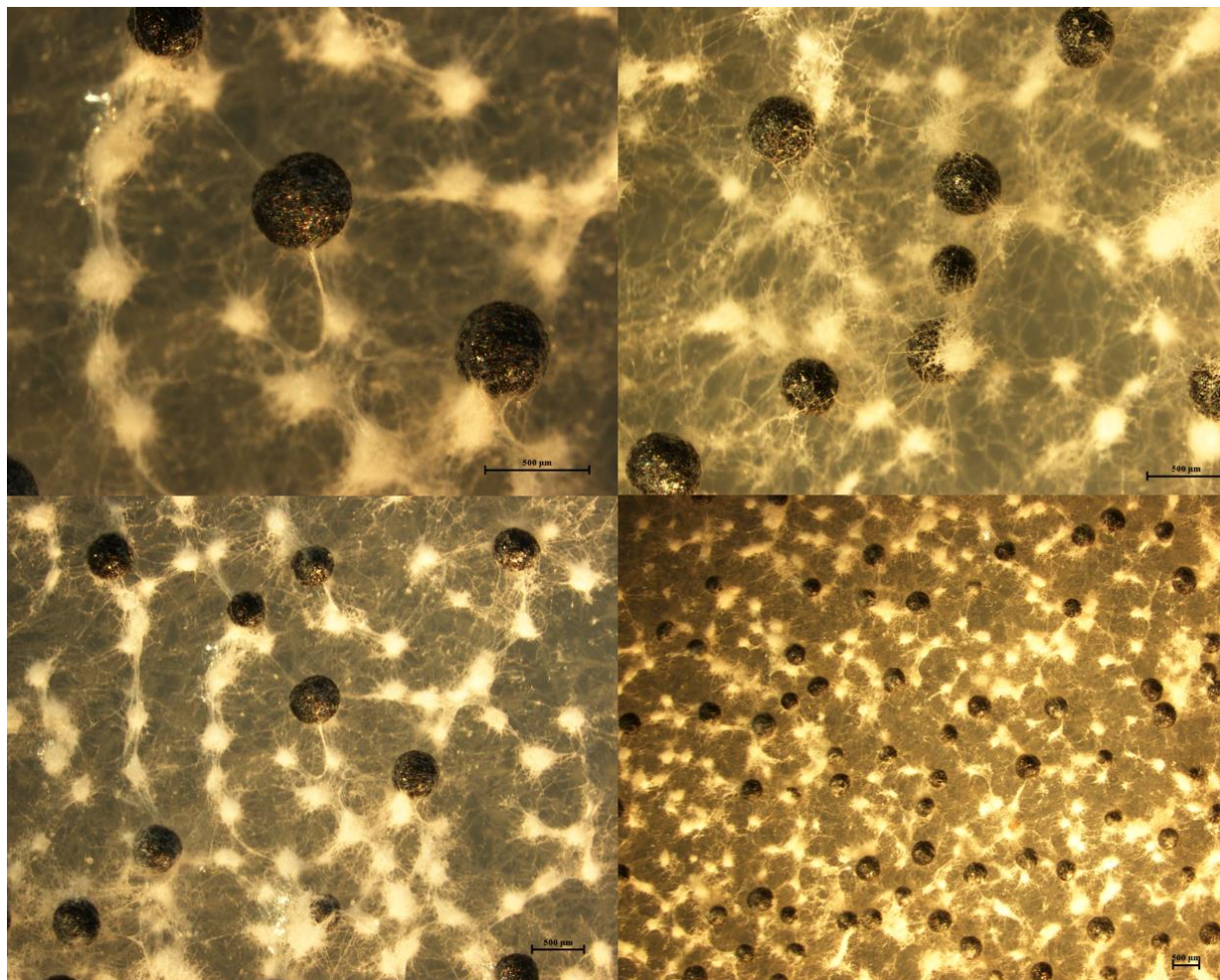
2.2 Podridão branca do alho

O fungo de solo *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel, causador da podridão branca, pertence ao filo Ascomycota, ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae (MYCOBANK, 2019). Existem 66 patógenos descritos que afetam plantas do gênero *Allium* e *S. cepivora* se destaca dentre os mais severos (CROWE et al., 1980; COLEY-SMITH, 1987; AMIN 2014). Este patógeno está espalhado por diversas áreas produtoras de alho do mundo todo (CROWE et al., 1980; TORRES-BARRAGÁN, 1996; ZEUIDE, 2007). Em Minas Gerais, *S. cepivora* já causou perdas de até 100% e é considerado um dos mais devastadores patógenos da cultura do alho (PINTO et al., 1998).

Stromatinia cepivora era anteriormente denominada *Sclerotium cepivorum* e pertencia ao filo Basidiomycota e gênero *Sclerotium*, devido a proximidades de características com fungos do gênero *Sclerotium*. Em 1945, Whetzel transferiu *Sclerotium cepivorum* para o gênero *Stromatinia* em virtude de semelhanças entre seus escleródios e os de *Stromatinia gladioli*. Desta forma, o fungo deixou de pertencer ao filo Basidiomycota e passou a fazer parte do filo Ascomycota. Posteriormente, pesquisadores confirmaram as proximidades de características com o gênero *Stromatinia* e ocorreu a mudança de nome de *Sclerotium cepivorum* para *Stromatinia cepivora*, estudos realizados utilizando técnicas moleculares comprovaram que esta era uma mudança necessária para a classificação correta do fungo. Porém, a mudança permanente do nome ainda não foi formalmente proposta por pesquisadores (CARBONE; KOHN, 1993; XU et al., 2010).

A doença se manifesta em reboleiras, plantas tornam-se subdesenvolvidas, folhas amarelas, morte de folhas velhas, subsequentemente ocorre murcha e os bulbos começam a ser degradados (AMORIM et al., 2016). Ao retirar uma planta infectada do solo é possível verificar a presença de micélio branco e cottonoso ao redor do bulbo acompanhado de estruturas de resistência denominadas escleródios (AMIN et al., 2014). O fungo não produz esporos viáveis para a dispersão no campo (DAVIS et al., 2007). Após a infestação da área, torna-se difícil implantar novamente a cultura do alho na área devido à presença das estruturas de resistência, que são responsáveis pela sobrevivência e dispersão do fungo em campo.

Figura 1 – Escleródios de *Stromatinia cepivora* cultivados em placas contendo batata-dextrose-água e mantidas a 17°C durante 20 dias.



Os escleródios são esferas de 0,3 – 0,6 mm de diâmetro, que consistem em um emaranhado de hifas compactadas, cobertos por melanina (WILLETS; BULLOCK, 1992; ELSHAHAWY, 2019). Os escleródios podem sobreviver no solo por mais de 20 anos e tornar áreas infestadas inviáveis para o cultivo de alho (COLEY-SMITH et al., 1990). As estruturas de resistência permanecerão dormentes até que plantas hospedeiras sejam cultivadas na área (MAUDE, 2006; WU et al., 2010; AMIN et al., 2014). De acordo com Crowe et al., (1980), apenas um escleródio por litro de solo é capaz de causar grandes perdas, de 30 a 60%, em lavouras, porém a severidade da doença está relacionada com a quantidade de estruturas de resistência presentes na área. A germinação do escleródio e propagação da doença pode ocorrer entre 9 e 24°C, porém a temperatura ideal é de 18 °C. O fungo pode causar a podridão de todo o bulbo da planta de alho, afetar suas raízes e é capaz de passar de

planta para planta. Aproximadamente 30 plantas próximas podem ser afetadas por um único escleródio (CROWE; HALL, 1980; AMIN et al., 2014).

Partes de bulbos infectados, movimentação de solo, chuvas e água de irrigação são os principais fatores que auxiliam na dispersão do patógeno em campo (DAVIS et al., 2007). A medida que o sistema radicular da planta de alho começa a se desenvolver, suas raízes liberam exsudatos que fazem com que os escleródios germinem e o micélio do fungo comece a crescer no solo. Ao atingir a planta, o patógeno forma uma estrutura chamada apressório, que auxilia na fixação e penetração no alho. Desta forma, inicia-se, então, o processo de colonização. Durante o processo de colonização, novas estruturas de resistência são produzidas. Esta doença é exclusiva do gênero de plantas *Allium*, tendo em vista que os escleródios só germinam na presença de compostos voláteis liberados por raízes de tais plantas (AMIN et al., 2014).

Em um estudo realizado por Pinto et al (1998), os sintomas nas plantas surgiram depois de 60 dias ou mais após o plantio, este momento corresponde ao estágio de bulbificação, período de produção e liberação de exsudatos produzidos pela planta de alho e temperatura do solo favorável ao desenvolvimento da doença. Estes fatores em conjunto propiciam a ocorrência da doença. Porém, se houver condições ambientais adequadas, o patógeno é capaz de atacar plantas de alho durante todos os seus estágios de desenvolvimento (ENTWISTLE, 1990).

Em situações em que o solo não está propício para a germinação do escleródio, o patógeno pode se desenvolver lentamente e a planta pode não apresentar sintomas graves. Porém, durante o armazenamento e sob condições adequadas, o alho continuará sendo deteriorado, causando perda dos bulbos (CROWE, 2008; ARARSA; THANGAVEL, 2013; AMIN et al., 2014).

O controle da doença tem sido um desafio para produtores de alho. Considerando que o patógeno é de difícil controle e que suas estruturas de resistência podem permanecer dormentes em solo por muitos anos (COLEY-SMITH et al., 1990), a estratégia ideal seria evitar a entrada do patógeno no local de cultivo. Utilizar rotação de culturas é uma alternativa inviável para controle da doença, pois o escleródio não irá germinar na ausência de sua planta hospedeira (CROWE et al., 1993). Ainda não se tem cultivares de alho resistentes ao patógeno e o melhoramento genético é um processo oneroso e demorado (EARNSHAW et al., 2000).

Zewide (2007) sugere que existe um efeito supressivo sob escleródios ao incorporar ao solo resíduos de brassicas, porém ainda são necessários estudos mais aprofundados a

respeito do tema. Fungicidas (ZEWIDE; SAKHUJA, 2007), solarização (PRADOS-LIGERO et al., 2002; SATOUR et al., 2002) e limpeza de equipamentos antes do uso (ENTWISTLE, 1992) também foram descritos como medidas de controle para a doença. Estimulantes de germinação de escleródios para que o escleródio germine na ausência do hospedeiro também foram testados (TYSON et al., 1999; DAVIS et al., 2007). Elshahawy et al (2019) avaliariam o efeito de pó de alho, pó de cebola, óleo de alho, óleo de cebola e resíduos de alho e cebola, incluindo cascas de alho e cebola, na germinação dos escleródios e obtiveram redução da doença em áreas que possuíam baixa incidência de escleródios. Porém, em áreas com altas quantidades de escleródios, somente os resíduos de alho e cebola obtiveram resultado positivo no controle da doença. A melhor estratégia de controle da doença é a adoção de várias táticas em conjunto, porém, nenhuma alternativa de controle da doença é muito eficiente. Neste contexto, surge como alternativa a utilização de agentes de controle biológico, como micoparasitas de escleródios (GERLAGH et al., 1996; ELSHAHAWY et al., 2018).

2.3 Controle biológico da podridão branca

Implantar uma lavoura produtiva e com alto nível de sanidade tem sido um desafio para produtores e pesquisadores. Lugtenberg (2015) afirma que aproximadamente 25% de toda produção mundial de alimentos é perdida devido a danos causados por fitopatógenos.

A constante preocupação mundial com o uso intensivo de produtos químicos para controle de doenças tem feito com que novos questionamentos sejam levantados e a busca por novas soluções seja cada vez maior. Diante deste cenário, o controle biológico pode ser uma alternativa viável no auxílio do controle de patógenos (MORANDI; BETTIOL, 2009).

O controle biológico consiste em suprimir o patógeno ou seus efeitos deletérios por meio da utilização de microrganismos, como fungos, vírus ou bactérias. Os agentes de controle biológico (ACB) atuam por diversos mecanismos para impedir ou reduzir o desenvolvimento dos sintomas da doença. Diversos microrganismos já foram descritos como eficazes para controle de doenças de plantas. Inúmeros estudos mostraram que os ACBs podem ser tão eficazes quanto o uso de fungicidas (O'BRIEN, 2017). A utilização de ACB vem sendo cada vez mais difundida entre os produtores, porém, ainda é necessário que os estudos a respeito do assunto sejam ampliados para compreendermos o mecanismo de ação e as interações com a planta e o patógeno (BETTIOL et al., 2008).

Stromatinia cepivora é um patógeno que não possui controle efetivo e causa grandes perdas em regiões produtoras de alho. Portanto, a busca por ACBs capazes de colonizar e destruir escleródios de forma eficaz é uma possibilidade promissora de manejo da doença em campo, além de ser alternativa para implementação de agricultura sustentável e reduzir a utilização de produtos químicos (ARASA; THANGAVEL, 2013). Para o sucesso dos ACBs no controle de *S. cepivora* é preciso encontrar microrganismos que se adaptem bem às condições ambientais e tipo de solo (CLARKSON et al., 2002). Alguns microrganismos já foram descritos como ACB de *S. cepivora*, entretanto, o problema com a doença ainda persiste tendo em vista que o patógeno se desenvolve em baixas temperaturas e os microrganismos usados como ACBs não possuem grande eficácia nessas condições.

Espécies de *Trichoderma* são usados como ACBs da podridão branca em diversos locais do mundo (ABD-EL-MOITY, 1992; METCALF; WILSON, 2001; MIRANDA et al., 2006). As espécies *T. harzianum*, *T. viride* e *T. hamatum* apresentaram potencial contra *S. cepivora* em cultivos de alho e cebola (KAY; STEWART, 1994; CLARKSON et al., 2002; MIRANDA, 2006; ARARSA et al. 2013; HUSSAIN et al., 2017). Outros ACBs promissores foram *Chaetomium globosum*, *Coniothyrium minitans*, *Bacillus subtilis* e *Penicillium nigricans* (AHMED; TRIBE, 1977; UTKHEDE; RAHE, 1980; KAY; STEWART, 1994; CLARKSON et al., 2002). No entanto, apesar do potencial desses ACBs, não existem produtos comerciais disponíveis para o controle da podridão branca. Dentre os fatores mais importantes para essa realidade está o fato de *S. cepivora* ter seu melhor desenvolvimento a aproximadamente 17° C, enquanto que a maior parte dos ACBs apresentam baixa atividade nessa temperatura. Portanto, é de suma importância ampliar os estudos para encontrar microrganismos que atuem como ACBs de podridão branca em baixas temperaturas para que o controle da doença seja efetivo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos isolados

Neste trabalho foram utilizados setenta isolados de fungos para verificar sua eficácia como ACBs de *Stromatinia cepivora*. Trinta e oito isolados foram identificados como *Trichoderma* sp.: CX03TR10MTS, CX02TR07MTS, CX02TR12MTS, CX02TR11MTS, CX01TR03-, CX01TR2.1MTN, CX01TR6MON, CX01TR11MTS, CX01TR02MTN, CX01TR1.2MON, CX01TR4.2MON, CX01TR12-, CX01TR23MTS, CX01TR10-, CX01TR03MTN, CX03TR23MTS, CX01TRCAM, CX01TR01MTS, CX01TR1.2MTN, CX01TR04-, CX01TR4.1MON, CX01TR06-, CX01TR02MON, CX01TR07-, CX01TR24MTS, CX01TR3.1MON, CX02TR03MTS, CX02TR05MTS, CX02TR10MTS, CX02TR14MTS, CX02TR18MTS, CX02TR19MTS, CX03TR25MTS, CX03TR01MTS, CX03TR02MTS, CX03TR04MTS, CX03TR13MTS e CX03TR17MTS. As espécies ainda não foram identificadas e são pertencentes à coleção micológica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Foram coletados na restinga de Guaibim, no estado da Bahia. Vinte e cinco isolados pertencem à coleção micológica do Laboratório de Controle Biológico da Universidade Federal de Lavras: CB1, CB2, CB3, CB4, CB5, CB7, CB8, CB9, CB10, CB12, CB13, CB14, CB15, CB16, CB17, CB18, CB19, CB20, CB21, CB22, CB23, CB24, CB25, CB26, CB27 e foram isolados da superfície de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, patógeno de solo que pertence à mesma família de *S. cepivora*. As estruturas de resistência foram encontradas no solo em área de produção experimental de feijão na cidade de Cristais, Minas Gerais, entre eles estão seis isolados de *Trichoderma* sp. (CB1, CB5, CB7, CB8, CB9, CB10) e dezenove isolados de *Penicillium* sp. (CB2, CB3, CB4, CB12, CB13, CB14, CB15, CB16, CB17, CB18, CB19, CB20, CB21, CB22, CB23, CB24, CB25, CB26, CB27). Sete isolados utilizados no estudo são oriundos do continente africano e foram gentilmente cedidos pela Universidade de Addis Ababa, Etiópia (AAUT7, AAUT11 e AAUT13 identificados como *T. orientale*, AAUT3 e AAUT17 identificados como *Penicillium* sp., AAUT22 identificado como *Talaromyces* sp. e AAUT14 identificado como *T. harzianum*).

3.2 Crescimento dos isolados a 17°C

A fim de avaliar o crescimento e esporulação dos 70 isolados a 17°C, foram dispostos discos de micélio de cada isolado no centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), composto por 200g de batata cozida, 20g de dextrose, 20g de ágar. As placas foram dispostas em câmaras de crescimento tipo BOD a 17°C e avaliadas após sete dias.

Realizou-se a avaliação visual do micélio dos isolados por meio da verificação da presença de hifas e a presença de esporos por meio da constatação da coloração verde. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC), duas repetições foram feitas em datas distintas, onde avaliou-se duas placas em cada repetição e cada placa foi considerada uma unidade experimental.

3.3 Obtenção de escleródios

Escleródios de *S. cepivora* foram extraídos de solo de áreas produtoras de alho da região de São Gotardo, Minas Gerais, com histórico de podridão branca utilizando a técnica descrita por UTKHEDE et al. (1979). Os escleródios foram desinfestados superficialmente utilizando solução de hipoclorito de sódio 1% durante 5 min, álcool 70% por 2 min e, por fim, foi feita uma dupla lavagem durante 1 minuto utilizando água destilada esterilizada, eles foram dispostos em papel filtro esterilizado para o processo de secagem. As estruturas de resistência foram posicionadas em placas contendo BDA para multiplicação e cultivo de culturas puras de *S. cepivora*, as placas foram dispostas em BOD e armazenadas durante 20 dias.

3.4 Preparo da suspensão e avaliação da eficácia dos isolados como agente de controle biológico “in vitro”

Para cada possível ACB, uma suspensão de conídios foi preparada. Placas de Petri mantidas em BOD a 17°C foram utilizadas para a preparação da suspensão de esporos. Foram adicionados 10mL de água destilada esterilizada e uma gota de Tween em cada placa e os esporos foram raspados com uma alça de Drigalsky. Posteriormente, a suspensão de esporos foi filtrada com gaze.

Placas de Petri de 9cm de diâmetro esterilizadas foram utilizadas para o teste de parasitismo de escleródios pelos potenciais ACB. Um disco de papel filtro esterilizado umedecido com água destilada esterilizada foi adicionado em cada placa. Sob o papel filtro umedecido foram dispostos oito escleródios de *S. cepivora* de forma espaçada. Cada escleródio foi tratado com 2 microlitros de suspensão de esporos e a placa foi mantida a em BOD a 17°C por 14 dias. No tratamento controle os escleródios foram tratados com água destilada esterilizada.

Após os 14 dias de incubação, os escleródios foram desinfestados superficialmente com hipoclorito de sódio 1% por 5 min, seguido de álcool 70% por 2 min e, por fim, lavados duas vezes em água estéril por 1 min e secos ao ar sob papel de filtro estéril. Por fim, os escleródios foram transferidos para placas contendo meio BDA e incubados em BOD a 17°C. Aos 20 dias de incubação, avaliou-se a viabilidade e a colonização dos escleródios por potenciais ACB por meio da presença de *S. cepivora* ou do isolado de ACB que estava sendo testado.

O experimento foi conduzido duas vezes em delineamento inteiramente casualizado (DIC), onde cada placa foi considerada uma unidade experimental e cada escleródio uma repetição. Avaliou-se as médias de escleródios colonizados após 20 dias para cada isolado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Crescimento dos isolados a 17°C

Cinquenta e um isolados produziram micélio denso e esporularam em grande quantidade após sete dias de cultivo em placas de Petri contendo meio BDA a 17°C (Tabela 1). Para o desenvolvimento de produtos biológicos, tais características são de suma importância. Para que o isolado seja eficaz em áreas de cultivo, é preciso considerar fatores ambientais como a temperatura no período da aplicação visto que em laboratório é possível realizar o controle preciso das condições para o perfeito desempenho do isolado. Desta forma, os cinquenta e um isolados se mostram mais promissores que os demais para o

Tabela 1 - Avaliação visual do micélio e esporulação dos isolados em estudo cultivados em meio batata-dextrose-água crescidos em BOD a 17°C durante sete dias.

Isolados			Micélio denso	Esporulação perceptível
<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Talaromyces</i> sp.		
CX03TR10MTS, CX02TR07MTS, CX02TR11MTS, CX01TR11MTS, CX01TR02MTN, CX01TR1.2MON, CX01TR12-, CX01TR10-, CX01TRCAM, CX01TR04-, CX01TR4.1MON, CX01TR06-, CX01TR02MON, CX01TR07-, CX01TR24MTS, CX01TR3.1MON, CX02TR03MTS, CX02TR05MTS, CX02TR10MTS, CX02TR14MTS, CX02TR19MTS, CX03TR04MTS, CX03TR17MTS, CB5, CB7, CB8, CB9, CB10, AAUT7, AAUT11, AAUT13, AAUT14,	CB2, CB3, CB4, CB12, CB13, CB14, CB15, CB16, CB19, CB20, CB21, CB22, CB24, CB25, CB26, CB27, AAUT3, AAUT17	AAUT22	XXX	XXX
CX01TR6MON, CX01TR23MTS, CX01TR01MTS, CX03TR25MTS, CB1	CB17, CB18, CB23	-	X	XX
CX02TR12MTS, CX01TR03-, CX01TR2.1MTN, CX01TR4.2MON, CX01TR03MTN, CX03TR23MTS, CX01TR1.2MTN, CX02TR18MTS, CX03TR01MTS, CX03TR02MTS, CX03TR13MTS	-	-	X	X

(X) Baixa produção de micélio/esporulação.

(XX) Média produção de micélio/esporulação.

(XXX) Alta produção de micélio/esporulação.

controle de *S. cepivora* tendo em vista que a doença causa maiores danos em temperaturas em torno de 17°C (COLEY-SMITH et al., 1990). No entanto, somente o crescimento a 17°C não garante que o isolado terá eficácia no campo.

Onze isolados não produziram micélio denso e apresentaram baixa esporulação após sete dias a 17°C em BOD.

4.2 Avaliação da eficácia dos isolados como agente de controle biológico “in vitro”

Os isolados de *Trichoderma* CX01TR12-, CX01TRCAM e CX02TR19MTS colonizaram 100% dos escleródios de *S. cepivora* e interromperam a sua germinação nas duas vezes em que o experimento foi conduzido (Figura 2A). Os três isolados também apresentaram produção de micélio denso e esporulação intensa sob temperatura de 17°C. Tendo em vista que o micélio de *S. cepivora* coloniza a planta e posteriormente são formados escleródios que podem permanecer no solo por muitos anos (AMORIM et al., 2016; COLEY-SMITH et al., 1990), reduzir ou cessar a germinação dos escleródios é indispensável para o controle da doença. Adaptar-se à temperatura de 17°C é um pré-requisito de extrema importância para adequação e funcionamento do produto de controle biológico para podridão branca em campo. Grande parte dos isolados de *Trichoderma* não se adaptam bem sob condições de baixas temperaturas (CLARKSON et al., 2002; FUGA et al., 2012), uma possível justificativa para CX01TR12-, CX01TRCAM, CX02TR19MTS se adaptarem bem sob baixas temperaturas é que estes isolados foram coletados em área de restinga, onde sobreviveram a condições adversas.

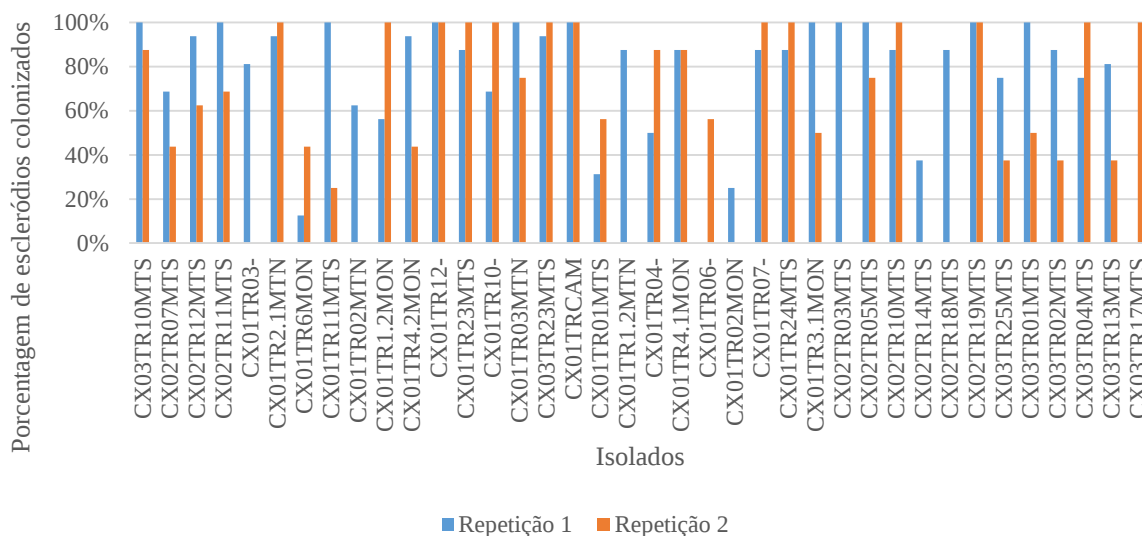
Em experimento conduzido na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia foi realizado BOX PCR com os isolados advindos da mesma Universidade e utilizados no presente trabalho. Através do BOX PCR foi possível verificar que cada isolado possui um perfil genético diferente, constatando-se assim a ampla diversidade dos ACB avaliados.

Espécies de *Trichoderma* são boas opções para atuarem como ACB devido à sua capacidade de crescer de forma rápida ao serem aplicados em solo e possuir resistência natural à compostos tóxicos (CHET et al., 1997). *Trichoderma* já foi descrito por diversos pesquisadores como ACB eficaz para o controle de diversas doenças (PAPAVIZAS., 1985; MCLEAN; STEWART., 2001; EL-HASSAN et al., 2013; MENEZES et al., 2013; SARAVANAKUMAR et al., 2017; GHAZANFAR et al., 2018).

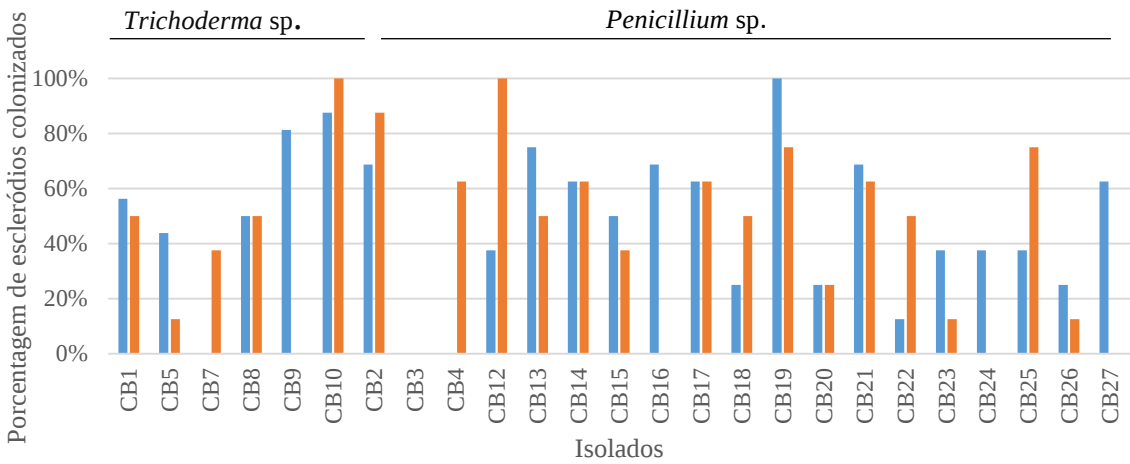
McLean & Stewart (2000) estudaram alguns microrganismos para controle de *S. cepivora*, entre eles espécies de *Trichoderma* e afirmaram que eles possuem aptidão para inibir o crescimento micelial da doença e colonizar escleródios. *Trichoderma longibrachiatum* e *T. asperellum* também foram avaliados e demonstraram resultados promissores no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. cepivora* (HERNANDEZ et al., 2011). Isolados diferentes de *Trichoderma* podem apresentar níveis de antagonismo distintos quando utilizados como ACB para diferentes doenças de plantas, desta forma, avaliar diferentes espécies para controle de uma mesma doença e realizar o estudo e seleção dos ACB para cada fungo fitopatogênico separadamente é necessário (DUBEY; SURESH., 2006).

Em um trabalho conduzido por Elshahawy et al., (2019), foram testados *T. harzianum*, *T. koningii* e *T. virens* separadamente e em conjunto e concluiu-se que a combinação dos três foi capaz de controlar *S. cepivora* sob condições de baixa densidade de inóculo (40 escleródios/Kg de solo). Testes combinando CX01TR12-, CX01TRCAM e CX02TR19MTS podem ser realizados em experimentos futuros para verificar sua eficácia para o controle de podridão branca.

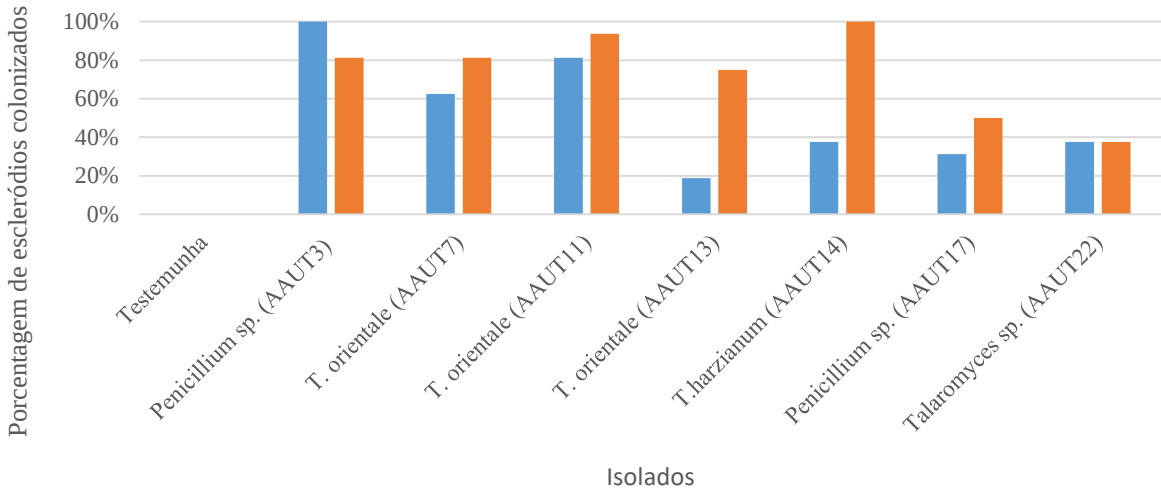
Figura 2 – Porcentagem de escleródios colonizados por potenciais agentes de controle biológico em ensaios *in vitro* a 17°C. (A) Isolados de *Trichoderma* pertencentes à coleção micológica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. (B) Isolados pertencentes à coleção micológica do Laboratório de Controle Biológico da Universidade Federal de Lavras. (C) Isolados pertencentes à coleção micológica da Universidade de Addis Ababa.



A

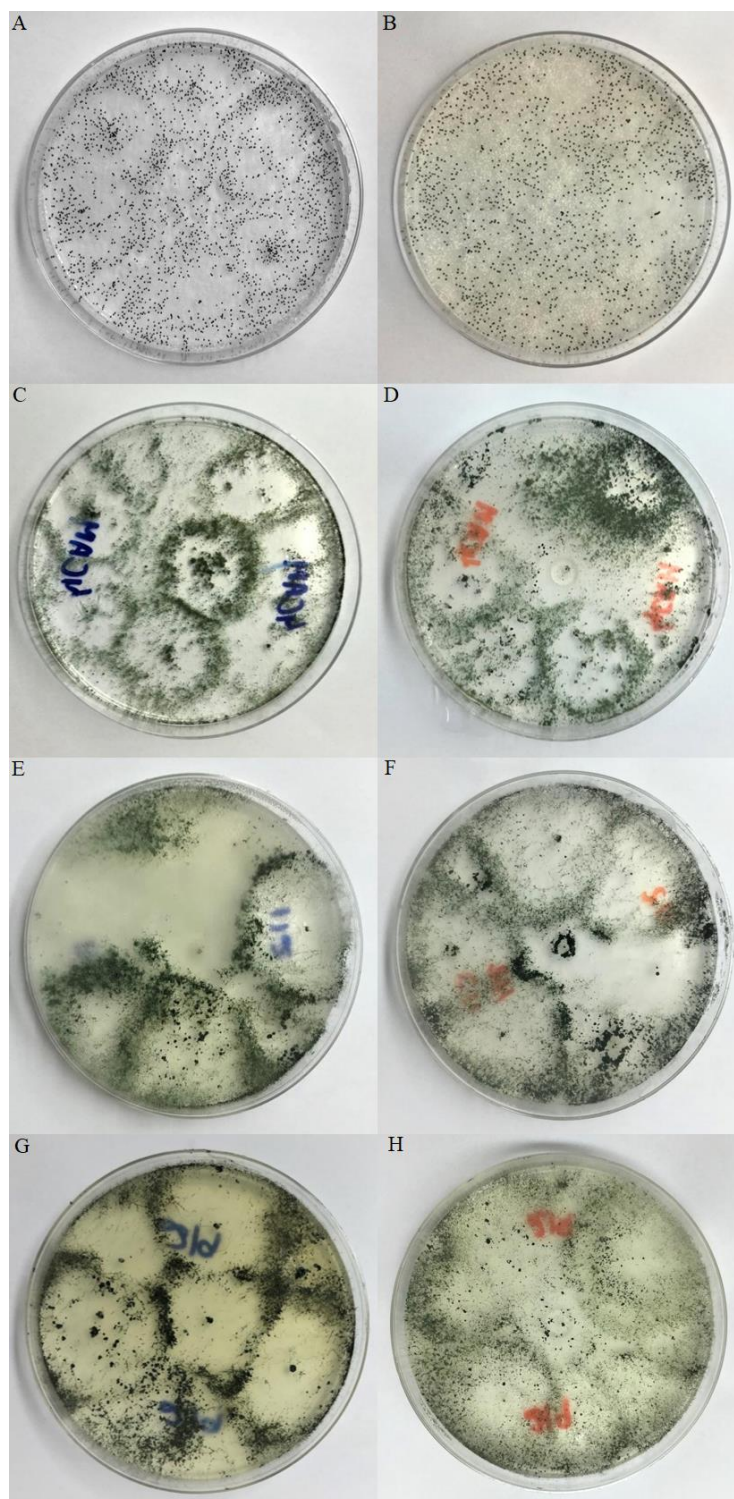


B



C

Figura 3 - Testemunha e isolados cultivados em meio BDA por 20 dias a 17°C que colonizaram 100% dos escleródios tratados. A-B) Primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios utilizados como testemunha, tratados com água destilada esterilizada, C-D) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX01TRCAM, E-F) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX02TR19MTS, G-H) primeira e segunda repetição, respectivamente, dos escleródios tratados com o isolado CX01TR12-.



Oito isolados de *Trichoderma* apresentaram taxa de colonização de escleródios acima de 80%. CX01TR2.1MTN e CX03TR23MTS (Figura 2A) apresentaram média de 93,75% das estruturas de resistência de *S. cepivora* parasitadas na primeira repetição e 100% na segunda repetição. Os isolados de *Trichoderma* CB10, CX01TR23MTS, CX01TR07, CX01TR24MTS, CX02TR10MTS (Figura 2A-B) apresentaram média de colonização de 87,50% na primeira repetição e 100% na segunda. CX03TR10MTS, que também é uma espécie de *Trichoderma* (Figura 2), apresentou 100% na primeira repetição e 87,50% na segunda repetição. Cada espécie de *Trichoderma* pode apresentar temperatura ótima de crescimento diferente, porém estudos mostram que as enzimas que o fungo produz e que fazem parte do processo de parasitismo continuam ativas quando submetidas a condições de baixas temperaturas (KREDICS et al., 2003).

As placas contendo os escleródios testemunha tratados com água apresentaram crescimento de 100% de *S. cepivora*, excluindo-se então a probabilidade de acontecer contaminação com os isolados em estudo entre as placas avaliadas (Figura 2C).

Seis isolados se mostraram menos eficazes no controle da germinação das estruturas de resistência (Figura 2). CB3, isolado de *Penicillium*, apresentou 0% de controle da germinação em ambas repetições, se destacando como o pior isolado em estudo para controle de *S. cepivora* (Figura 2B).

Quatro espécies de *Trichoderma* foram avaliadas para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura do feijão sob condições de baixas temperaturas e alta pressão de inóculo, nestas circunstâncias, o patógeno foi favorecido e nenhuma apresentou eficácia para o controle da doença da doença em campo (PAULA JÚNIOR et al., 2012). Este estudo demonstra que alguns isolados não possuem eficácia de colonização de escleródios mesmo que outros isolados da mesma espécie já tenham sido descritos como efetivos para colonização de estruturas de resistência.

Os isolados de *Trichoderma* CX01TR12-, CX01TRCAM e CX02TR19MTS possuem potencial para colonizar, cessar a germinação de escleródios de *S. cepivora*, sendo então, considerados bons microrganismos para condução de maiores experimentos em campo para uma possível formulação de produtos de controle biológico de *S. cepivora*. Mais estudos são necessários tendo em vista que diversos ACB estudados em laboratório por pesquisadores no mundo todo tiveram dificuldades em se adaptar em campo devido à contratempos causados por dosagens dos microrganismos, condições ambientais e diferentes solos (CLARKSON et al., 2002).

Entre os mecanismos que os ACB podem utilizar para o controle de doenças estão parasitismo, síntese de compostos antimicrobianos, competição e indução de resistência (ZHOU; PAULITZ., 1994; VALLAD; GOODMAN., 2004; STEWART; MCLEAN., 2007). Além desses mecanismos, espécies de *Trichoderma* promovem o crescimento de plantas e auxiliam no alívio de estresses ambientais, tais como seca, salinidade e temperaturas extremas. Na maioria dos casos, a degradação dos escleródios de *S. cepivora* decorre da ação de compostos tóxicos produzidos pelo microrganismo agente de controle biológico ou parasitismo (SILVA et al., 2011; OLMEDO-MONFIL; CASAS-FLORES., 2014). O mecanismo de ação dos isolados de *Trichoderma* CX01TR12-, CX01TRCAM e CX02TR19MTS é provavelmente o micoparasitismo como foi observado em estudo realizado por Abd-El-Moity & Shatla (1981). Os demais mecanismos de ação que os ACB podem apresentar não foram avaliados durante este estudo.

Atualmente, existem 23 fungicidas biológicos registrados para controle de doenças no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (AGROFIT, 2019a), mas nenhum deles é indicado para controle de *S. cepivora* (AGROFIT, 2019b). Tendo em vista que o alho não é uma cultura amplamente cultivada em território brasileiro, apresentando somente cerca de 11 mil hectares plantados (CONAB, 2017b), quando comparados com soja que em 2018 apresentou área plantada de mais de 35 milhões de hectares (EMBRAPA, 2019) ou milho que apresentou 17 milhões de hectares, a cultura do alho ainda se mostra bastante inexpressiva e este fator contribui para que empresas não foquem seus investimentos para a pesquisa e desenvolvimento de produtos para o controle de *S. cepivora*.

Os resultados do presente trabalho confirmam a hipótese que espécies de *Trichoderma* possuem habilidade de controle de *S. cepivora* e grande potencial para avaliação em campo. A comprovação da eficácia em campo é necessária para a avaliação dos ACBs em áreas infestadas pelo patógeno sob a influência de fatores ambientais que podem interferir no desempenho do *Trichoderma*. Portanto, os próximos passos para continuidade deste trabalho consistirão em sequenciamento do DNA dos isolados para sua identificação, testes in vitro de combinações de isolados que apresentaram taxa de colonização de escleródios maiores que 80% e aplicação em áreas afetadas por *S. cepivora*.

5 CONCLUSÃO

Com este trabalho três isolados de *Trichoderma*, CX01TR12-, CX01TRCAM, CX02TR19MTS que colonizam escleródios de *S. cepivora* e cessam sua germinação “in vitro” a 17°C foram selecionados. Experimentos adicionais devem ser realizados com o objetivo de verificar a eficácia dos isolados em campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-EL-MOITY, T. H. The use of *Trichoderma* spp. to control soilborne plant pathogens in Egypt. In: **Biological Control of Plant Diseases**. Springer, Boston, MA, p. 255-258, 1992.

ABD-EL-MOITY, T. H.; SHATLA, M. N. Biological control of white rot disease of onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 100, n. 1, p. 29-35, 1981.

AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Consulta de Produtos Formulados**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 13 de agosto de 2019a.

AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Consulta de Praga/Doença**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 13 de agosto de 2019b.

AHMED, A. H. M.; TRIBE, H. T. Biological control of white rot of onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Coniothyrium minitans*. **Plant Pathology**, v. 26, n. 2, p. 75-78, 1977.

AMIN, M.; TADELE, S.; THANGAVEL, S. White rot (*Sclerotium cepivorum* Berk)-an aggressive pest of onion and garlic in Ethiopia: An overview. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, v. 6, n. 1, p. 6-15, 2014.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO L. F. A. **Manual de Fitopatologia - Volume 2**. Editora: Agronômica Ceres. 5ª Edição, 2016

APOLINÁRIO, A. C.; MONTEIRO, M. M, de O.; OLIVEIRA, C. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma revisão. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 2, n. 1, p. 01-06, 2008.

ARARSA, L.; THANGAVEL, S. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* species for the control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk). **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, 2013.

BANERJEE, S. K.; MAULIK, S. K. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. **Nutrition Journal**, v. 1, n. 1, p. 4, 2002.

BARRERA, P; CAMARGO, C. D. O alho: uma planta mágica com o futuro garantido no mercado nacional. **São Paulo: Ícone**, 1985.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUSS, U.; STEFANOVA, M.; COTES PRADO, A. M. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. **Embrapa Meio Ambiente**, 2008.

BLOCK, E. The chemistry of garlic and onions. **Scientific American**, v. 252, n. 3, p. 114-121, 1985.

BREWSTER, J. L. Onions and other vegetable alliums. **CABI Publishing**, Wallingford, UK. 454p., 2008.

BULLUCK III, L. R.; RISTAINO, J. B. Effect of synthetic and organic soil fertility amendments on southern blight, soil microbial communities, and yield of processing tomatoes. **Phytopathology**, v. 92, n. 2, p. 181-189, 2002.

CARBONE, I.; KOHN, L. M. Ribosomal DNA sequence divergence within internal transcribed spacer 1 of the Sclerotiniaceae. **Mycologia**, v. 85, n. 3, p. 415-427, 1993.

CHET, I.; HADAR, I. Fungal antagonists and mycoparasites. **The mycota IV: environmental and microbial relationships**. Springer-Verlag, Berlin, p. 165-184, 1997.

CLARKSON, J. P.; PAYNE, T.; MEAD, A.; WHIPPS, J. M. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. **Plant Pathology**, v. 53, n. 3, p. 353-362, 2004.

CLARKSON, J. P.; PAYNE, T.; MEAD, A.; WHIPPS, J. M. Selection of fungal biological control agents of *Sclerotium cepivorum* for control of white rot by sclerotial degradation in a UK soil. **Plant Pathology**, v. 51, n. 6, p. 735-745, 2002.

COLEY-SMITH, J. R. White rot disease of *Allium*: problems of soil-borne diseases in microcosm. **Plant Pathology**, v. 39, p. 214-222, 1990.

COLEY-SMITH, J. R.; MITCHELL, C. M.; SANSFORD, C. E. Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. **Plant Pathology**, v. 39, n. 1, p. 58-69, 1990.

COLEY-SMITH J. R. *Sclerotium cepivorum* Berk. in European Handbook of Plant Diseases, (eds I. M. Smith, J. Dunez D. H., Phillips R. A. Lelliot and S. A. Archer). **Blackwell Scientific Publications**, p. 446-447, 1987.

COLEY-SMITH, J. R.; PARFITT, D. Some effects of diallyl bisulphide on sclerotia of *Sclerotium cepivorum*: Possible novel control method for white rot disease of onions. **Pesticide Science**, v. 17, n. 5, p. 587-594, 1986.

COLEY-SMITH, J. R.; KING, J. E. The production by species of *Allium* of alkyl sulphides and their effect on germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. **Annals of Applied Biology**, v. 64, n. 2, p. 289-301, 1969.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Histórico mensal do alho**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-alho>>. Acesso em: 07 de agosto de 2019a.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Levantamento de safra**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_01_19_15_21_14_alho_dezembro_2017.pdf>. Acesso em: 29 de novembro de 2018b.

COOK, R. J. & BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. American Phytopathological Society, 1983.

COUCH, B. C.; KOHN, L. M. Clonal spread of *Sclerotium cepivorum* in onion production with evidence of past recombination events. **Phytopathology**, v. 90, n. 5, p. 514-521, 2000.

CROWE, F. J. White rot. **Compendium of onion and garlic diseases**. The American Phytopathological Society. Schwartz, HF, SK Mohan (eds.), APS Press. St. Paul, MN, 1995.

CROWE, F. J.; DARNELL, T.; THORNTON, M.; DAVIS, M.; MCGRATH, D.; KOEPSSELL, P.; REDONDO, E.; LABORDE, J. White rot control studies show promise of better future. **Onion World** v. 9, p. 22-25. 1993.

CROWE, F. J.; HALL, D. H.; GREATHEAD, A. S.; BAGHOTT, K. G. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, v. 70, n. 1, p. 64-69, 1980.

CROWE, F. J.; HALL, D. H. Soil temperature and moisture effects on *Sclerotium* germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. **Phytopathology** v. 70, p. 74-78, 1980.

DUBEY, S. C.; SURESH, M. Randomly amplified polymorphic DNA markers for *Trichoderma* species and antagonism against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. **Journal of phytopathology**, v. 154, n. 11-12, p. 663-669, 2006.

EARNSHAW, D. M.; MCDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. Interactions among isolates and mycelial compatibility groups of *Sclerotium cepivorum* and cultivars of onion (*Allium cepa*). **Plant Pathology**. v. 22, p. 387-391, 2000.

EARNSHAW, D.; BOLAND, G. J. Mycelial compatibility groups in *Sclerotium cepivorum*. **Plant pathology**, v. 46, n. 2, p. 229-238, 1997.

EL-HASSAN S. A.; GOWEN S. R.; PEMBROKE B. Use of *Trichoderma hamatum* for biocontrol of lentil vascular wilt disease: efficacy, mechanisms of interaction and future prospects. **Journal of Plant Protection Research**, v. 53, n. 1, p. 12–26, 2013.

ELSHAHAWY, I. E.; SAIED, N., ABD-EL-KAREEM, F., MORSY, A. Reduction of *Stromatinia cepivora* inocula and control of white rot disease in onion and garlic crops by repeated soil applications with sclerotial germination stimulants. **Heliyon**, v. 5, n. 1, p. e01168, 2019.

ELSHAHAWY, I. E.; SAIED, N.; ABD-EL-KAREEM, F.; MORSY, A. Effect of inoculum density of *Stromatinia cepivora* on the amount of white rot reduced by *Trichoderma* species in garlic. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 27, 2019.

ELSHAHAWY, I.E.; SAIED, N.; ABD-EL-KAREEM, F.; MORSY, A. Field application of sclerotial mycoparasites as biocontrol agents to *Stromatinia cepivora*, the cause of onion white rot. **Plant Pathology**. v. 99, n. 2, p. 391-401, 2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Como plantar alho**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalicas/alho/cultivares>>. Acesso em: 31 de julho de 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Soja em números**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 31 de julho de 2019.

ENTWISTLE, A. R. Root diseases in onions and allied crops: Volume 11 – Agronomic, Biotic Actions, Pathology and Crop Protection, (eds H. D. Rabinowitch and J. L. Brewster). **CRC Presss, Inc, Florida**, p. 103-154, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Disponível em: <www.fao.org/>. Acesso em: 13 de julho de 2019a.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 13 de julho de 2019b.

FENWICK, G. R.; HANLEY, A. B.; WHITAKER, J. R. The genus *Allium* - part 1. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 199-271, 1985.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. **Viçosa: UFV**, 412 p., 2003.

FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A.; VIEIRA, B. S.; CUNHA, W. V. Efficiency and compatibility of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. isolates on the inhibition of *Sclerotium cepivorum*. **Científica**, v. 44, n. 4, p. 526-531, 2016.

FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A.; VIEIRA, B. S. Etiologia, epidemiologia e controle de doenças causadas por *Sclerotium rolfsii* e *S. cepivorum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 20, p. 278-322, 2012.

GERLAGH, M.; WHIPPS, J. M.; BUDGE, S.P.; GOOSSEN-VAN-DE-GEIJN, H. M. Efficacy of isolates of *Coniothyrium minitans* as mycoparasites of *Sclerotium cepivorum*, and *Botrytis cinerea* on tomato stem pieces. **European Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 787-793, 1996.

GHAZANFAR, M. U.; RAZA, W.; QAMAR M. I. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. **Plant Protection**, v. 2, n. 3, 2018.

HERNANDEZ, C.; BERLANGA, P.; GALLEGOS, M.; CEPEDA, S.; RODRIGUEZ, H.; AGUILAR, G.; CASTILLO, R. In vitro antagonist action of *Trichoderma* strains against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium cepivorum*. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 6, n. 3, p. 410-417, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Tabela 5457: área plantada ou destinada a colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor de produção das lavouras temporárias e permanentes**. 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>>. Acesso em: 23 de outubro de 2018.

JULIATTI, F. C.; REZENDE, A. A.; JULIATTI, B. C. M.; MORAIS, T. P. *Trichoderma* as a Biocontrol Agent against *Sclerotinia* Stem Rot or White Mold on Soybeans in Brazil: Usage and Technology. In: *Trichoderma-The Most Widely Used Fungicide*. **IntechOpen**. 2019.

KAY, S. J.; STEWART, A. Evaluation of fungal antagonists for control of onion white rot in soil box trials. **Plant Pathology**, v. 43, n. 2, p. 371-377, 1994.

KREDICS, L.; ANTAL, Z.; MANCZINGER, L.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. **Food Technology and Biotechnology**, v. 41, n. 1, p. 37-42, 2003.

LONDHE, V. P. Role of garlic (*Allium sativum*) in various diseases-an overview. **Journal of pharmaceutical research & opinion**, v. 1, n. 4, 2014.

LOURENÇO JUNIOR, V.; RESENDE, F. V.; OLIVEIRA, V. R. O.; MELO, R. A. C.; MOITA, A. W.; LOPES, E. A. Efeito de agentes de biocontrole, extrato de planta e fungicidas no progresso da podridão branca em alho. **Embrapa Hortaliças-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2018.

LUCINI, M. A. Manual prático de produção de alho. 2ª ed. **Curitibanos: GRN**. 140p., 2004.

LUGTENBERG, B. Introduction to plant-microbe interactions. **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Springer, Cham, p. 1-2, 2015.

MAUDE, R. B. Onion diseases. In: *The Epidemiology of Plant Diseases*. **Springer, Dordrecht**, p. 491-520, 2006.

MCLEAN, K. L.; HUNT, J.; STEWART, A. Compatibility of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* C52 with selected fungicides. **New Zealand Plant Protection**, v. 54, p. 84-88, 2001.

MCLEAN, K. L.; STEWART, A. Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, n. 2, p. 115-122, 2000.

MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; SILVEIRA, M. C. V.; SILVA, R. L. X. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p. 133-140, 2013.

MENEZES-SOBRINHO, J. A.; LOPES, C. A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; CHARCHAR, J. M.; CRISOSTOMO, L.A.; CARRIJO, O. A.; BARBOSA, S. A cultura do alho. 1. Ed. **Brasília: EMBRAPA**, 1993.

MENEZES-SOBRINHO, J. A. de. Origem e botânica do alho. **Informe agropecuário**, v. 4, n. 48, p. 14, 1978.

METCALF, D. A.; WILSON, C. R. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. **Plant Pathology**, v. 50, n. 2, p. 249-257, 2001.

MIRANDA, M. E. A.; ESTRELLA, A. H.; CABRIALES, J. J. P. Colonization of the rhizosphere, rhizoplane and endorhiza of garlic (*Allium sativum* L.) by strains of *Trichoderma harzianum* and their capacity to control allium white-rot under field conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1823-1830, 2006

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, p. 7-14, 2009.

MYCOBANK. Disponível em: <<http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&Rec=57465&Fields=All>>. Acesso em 31 de julho de 2019.

NAGARAJKUMAR, M.; BHASKARAN, R.; VELAZHAHAN, R. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Microbiological Research**, Jena, v. 2, n. 3, p. 34-54, Mar./Apr. 2004.

NUNES, M. E. T.; KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola (*Allium sativum* L. e *Allium cepa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v. 2. p. 690-724, 1997.

O'BRIEN, P. A. Biological control of plant diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, n. 4, p. 293-304, 2017.

OLMEDO-MONFIL, V.; CASAS-FLORES, S. Molecular mechanisms of biocontrol in *Trichoderma* spp. and their applications in agriculture. In: Biotechnology and biology of *Trichoderma*. **Elsevier**, p. 429-453, 2014.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual review of phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 23-54, 1985.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R. F.; MORANDI, M. A. B.; LEHNER, M. S.; LIMA, R. C.; CARNEIRO, J. E. S. Limitations in controlling white mold on common beans with *Trichoderma* spp. at the fall-winter season. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 337-340, 2012.

PÉREZ-MORENO, L.; AGUILERA, A. R.; PALE, J. R. S. Efecto de *Coniothyrium minitans* Campbell en Esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 22, n. 3, p. 429-434, 2004.

PINTO, C. M. F.; MAFIA, L. A.; CASALI, V. W. D.; BERGER, R. D.; CARDOSO, A. A. Production components and yield loss of garlic cultivars planted at different times in a field naturally infested with *Sclerotium cepivorum*. **International journal of pest management**, v. 46, n. 1, p. 67-72, 2000.

PINTO, C. M. F.; MAFIA, L. A.; CASALI, V. W. D.; BERGER, R. D.; MIZUBUTI, E. S. G. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. **Plant disease**, v. 82, n. 10, p. 1142-1146, 1998.

PRADOS-LIGERO, A. M.; BASCON-FERNANDEZ, J.; CALVET-PINOS, C.; CORPAS HERVIAS, C.; RUIZ, A. L.; MELERO-VARA, J. M. Effect of different soil and clove treatments in the control of white rot of onion. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 140, p. 247-253, 2002.

PUNJA, Z. K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual review of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 97-127, 1985.

REIS, A.; OLIVEIRA, V. R. Identificação e manejo da podridão-branca do alho e da cebola. **Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.

RESENDE, F. V.; HABER, L. L.; PINHEIRO, J. B.; MELLO, A. F. S. Produção de alho-semente: parte I. **Revista Nosso Alho**, Brasília - DF, p. 43-55, 2016.

RESENDE, F. V.; DUSI, A. N.; MELO, W. F. de. Recomendações básicas para a produção de alho em pequenas propriedades. **Embrapa Hortaliças**, 2004.

SARAVANAKUMAR, K.; LI, Y.; YU, C.; WANG, Q.; WANG, M.; SUN, J.; GAO, J.; CHEN, J. Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk rot. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1771, 2017.

SATOUR, M. M.; ABDEL-RAHIM, M. F.; EL-YAMANI, T.; RADWAN, A.; GRINSTEIN, A.; RABINOWITCH, H. D.; KATAN, J. Soil solarization in onion fields in Egypt and Israel: short and long term effects. **Acta Hortic.** v. 255, p. 151-159, 1989.

SILVA, B. D. S.; ULHOA, C. J.; BATISTA, K. A.; YAMASHITA, F.; FERNANDES, K. F. Potential fungal inhibition by immobilized hydrolytic enzymes from *Trichoderma asperellum*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 15, p. 8148-8154, 2011.

SOUZA, R. J.; MACEDO, F. S. Cultura do alho: tecnologias modernas de produção. Lavras: **UFLA**, 181p., 2009.

STEWART, A.; MCLEAN, K. L. Biological control of onion white rot. In: CHINCHOLKAR, S. B.; MUKERJI, K. G. (Ed.). Biological Control of Plant Diseases. **The Haworth Press**, New York, p.123-48, 2007.

STEWART, A.; FULLERTON, R. A.; SUTHERLAND, P. W. Infection of onion by the white rot pathogen, *Sclerotium cepivorum*. **Journal of Phytopathology**, v. 126, n. 1, p. 33-42, 1989.

TORRES-BARRAGÁN, A.; EMMA, Z. M.; CARMEN, G. C.; RONALD, F. C. The use of arbuscular mycorrhizae to control onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) under field conditions. **Mycorrhiza**, v. 6, n. 4, p. 253-257, 1996.

TYSON, J. L.; RIDGWAY, H. J.; FULLERTON, R. A.; STEWART, A. Genetic diversity in New Zealand populations of *Sclerotium cepivorum*. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 30, n. 1, p. 37-48, 2002.

TYSON, J. L.; FULLERTON, R. A.; STEWART, A. Changes in the efficacy of fungicidal control of onion white rot. Proceedings of the **52nd New Zealand Plant Protection Conference**, p. 171-175, 1999.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop science**, v. 44, n. 6, p. 1920-1934, 2004.

VILLALTA, O. N.; WITE, D.; PORTER, I. J.; MCLEAN, K. L.; STEWART, A.; HUNT, J. Integrated control of onion white rot on spring onions using diallyl disulphide, fungicides and biocontrols. **Acta Horticulturae**, v. 944, p. 63-71, 2012.

UTKHEDE, R. S.; RAHE, J. E. Interactions of antagonist and pathogen in biological control of onion white rot. **Phytopathology**, v. 73, n. 6, p. 890-893, 1983.

UTKHEDE, R. S. Biology and control of onion white rot. **Journal of Plant Disease and Protection**, v. 85, n. 5, p. 291-301, 1982.

UTKHEDE, R. S.; RAHE, J. E. Biological control of onion white rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 12, n. 2, p. 101-104, 1980.

UTKHEDE, R. S.; RAHE, J. E. Wet-sieving floatation technique for isolation of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* from muck soil. **Phytopathology**, v. 69, n. 3, p. 295-297, 1979.

WHETZEL, H.H. A synopsis of the genera and species of the Sclerotiniaceae, a family of stromatic inoperculate discomycetes. **Mycologia**, v. 37, n. 6, p. 648-714, 1945.

WILLETS, H. J.; BULLOCK, S. Development biology of sclerotia. **Mycological Research**, v. 96, p. 801-816, 1992.

WU, B. M.; DAVIS, M.; TURINI, T. Developing New Integrated Strategies for Controlling White Rot in Garlic. 2010.

XU, Z.; HARRINGTON, T.C.; GLEASON, M.L.; BATZER, J.C. Phylogenetic placement of plant pathogenic *Sclerotium* species among teleomorph genera. **Mycologia**, v. 102, n. 2, p. 337-346, 2010.

ZEWIDE, T.; FININSA, C.; SAKHUJA, P. K. Management of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic using fungicides in Ethiopia. **Crop Protection**, v. 26, n. 6, p. 856-866, 2007.

ZEWIDE, T.; FININSA, C.; SAKHUJA, P. K.; AHMED, S. Association of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic with environmental factors and cultural practices in the North Shewa highlands of Ethiopia. **Crop Protection**, v. 26, p. 1566-1573, 2007.

ZHOU, T.; PAULITZ, T. C. Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber. **Journal of Phytopathology**, v. 142, n. 1, p. 51-63, 1994.