

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE CRAMBE
(*Crambe abyssinica* Hochst) INOCULADOS COM
Sclerotinia sclerotiorum

CLÁUDIA REGINA DE LIMA MARSIGLIA DOS REIS

Dourados
Mato Grosso do Sul
2015

COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst) INOCULADOS COM *Sclerotinia sclerotiorum*

CLÁUDIA REGINA DE LIMA MARSIGLIA DOS REIS
Engenheira Agrônoma

Orientadora: PROF^aDR^aLILIAN MARIA ARRUDA BACCHI

Co-orientador: PROF Ph.D. WALBER LUIZ GAVASSONI

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R375c Reis, Cláudia Regina de Lima Marsiglia dos
Comportamento de genótipos de crambe (*Crambe
abyssinica* Hochst) inoculados com *Sclerotinia sclerotiorum* /
Cláudia Regina de Lima Marsiglia dos Reis -- Dourados:
UFGD, 2015.
44f.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Lilian Maria Arruda Bacchi.
Co-orientador: Prof. Ph.D. Walber Luiz Gavassoni.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) FCA, Faculdade
de Ciências Agrárias - Universidade Federal da Grande
Dourados.

1. Método de Inoculação. 2. Resistência. 3. Transmissão.
I. Título.

CDD - 631.521

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*
Hochst) INOCULADOS COM *Sclerotinia sclerotiorum***

Por

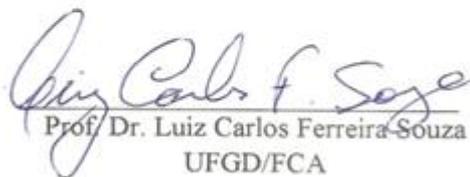
Cláudia Regina De Lima Marsiglia Dos Reis

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovado em: 28/09/2015



Profª Drª Lilian Maria Arruda Bacchi
Orientadora – UFGD/FCA



Prof. Dr. Luiz Carlos Ferreira-Souza
UFGD/FCA



Drª. Cláudia de Souza Zanella
UEMS

Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas.

Muito conhecimento, que se sintam humildes.

É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente

a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias

as baixam para a terra, sua mãe.

(Leonardo da Vinci)

A Deus pelas bênçãos e oportunidades a mim concedidas

OFEREÇO

Para aqueles que acreditaram em mim
quando eu não mais acreditava em mim mesma.

Para aqueles que com seu sorriso removeram a sombra do meu rosto.

Para aqueles que trocaram, sem regatear,
sua alegria sincera pelos meus pesares.

Para aqueles cujo amor e cujo riso me deram asas
e um céu azul para voar.

Para aqueles por quem minha gratidão será sempre pequena,
nesta vida ou na próxima.

(Bradley Trevor Greive)

Aos meus queridos pais, Cássio e Nelci pelo amor incondicional, incentivo,
conselhos e compreensão

Aos meus irmãos, Cássio e Carlos Eduardo pelo apoio

Ao meu esposo José Pimenta, pelo amor, carinho, paciência, colaboração e
dedicação

DEDICO

AGRADECIMENTOS

“Se eu fosse me arrepender de alguma coisa (na verdade, me arrependo de várias), seria de não ter agradecido adequadamente a quem é importante na minha vida. Mas dizer um simples e sincero "obrigado" às pessoas cuja mera existência tem tornado a minha vida melhor é algo que eu gostaria de fazer com mais frequência. Afinal, é muito fácil” (BRADLEY TREVOR GREIVE).

A professora Lilian Bacchi que nunca mediu esforços para contribuir nesta etapa da minha vida, pela sua paciência e compreensão.

Ao professor Walber Gavassoni, pelas orientações e ensinamentos.

Ao engenheiro agrônomo Carlos Pitol pesquisador da FUNDAÇÃO MS pelos ensinamentos e colaboração

A FUNDAÇÃO MS pelo fornecimento das sementes de crambe.

A professora e amiga Paula Padovese pelo incentivo a iniciar essa caminhada.

As amigas Cássia Carvalho e Lúcia Hirata, que sempre se dispuseram a me auxiliar com muita paciência e dedicação.

Aos amigos que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, seja com sugestões ou nas atividades desenvolvidas, Bruno Pontim, Daniel Espíndola, Jaqueline Casemiro e Jefferson Barizon

Ao amigo Cesar Hartmann, pela amizade e contribuição.

A todos os amigos que fiz no decorrer dessa caminhada tornando-a mais fácil e prazerosa.

A CAPES pela bolsa concedida.

A todos os professores vinculados ao programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Grande Dourados, pelos valiosos ensinamentos.

A Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de desenvolvimento deste trabalho.

A Lucia, secretária do Programa de Pós-Graduação desta instituição.

SUMÁRIO

	PÁGINA
Resumo	vii
Abstract.....	viii
1. Introdução	01
2. Revisão de Literatura	03
2.1. Aspectos Gerais da Cultura do Crambe	03
2.2. Importância Econômica	05
2.2.1. Características do Óleo	05
2.2.2. Produtos e Co-produtos do Crambe	05
2.3. Doenças associadas à cultura.....	06
2.4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.).....	09
3. Material e Métodos	14
3.1. Ensaio com diferentes metodologias de inoculação	14
3.1.1. Método de inoculação do palito	15
3.1.2. Método de inoculação com discos de micélio nas axilas foliares	16
3.1.3. Método de inoculação com discos de micélio em folhas destacadas.....	17
3.2. Reação de genótipos de crambe à <i>S. sclerotiorum</i>	19
3.3. Transmissão de <i>S. sclerotiorum</i> via sementes	20
4. Resultados e Discussão	23
4.1. Ensaio com diferentes metodologias de inoculação	23
4.2. Reação de genótipos de Crambe à <i>S. sclerotiorum</i>	28
4.3. Transmissão de <i>S. sclerotiorum</i> via sementes	31
5. Conclusão	35
6. Referências Bibliográficas	36

COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE CRAMBE (*Crambe abyssinica* Hochst) INOCULADOS COM *Sclerotinia sclerotiorum*

RESUMO: O trabalho teve por objetivo avaliar a reação de genótipos de *Crambe abyssinica* à inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum*, utilizando-se de três métodos de inoculação (método do palito, disco de micélio em folha destacada e axila foliar), além de verificar a transmissibilidade do patógeno a partir de sementes de *C. abyssinica* inoculadas artificialmente, assim como avaliar a sua relação e implicação sobre a emergência das plântulas. Os experimentos foram realizados em dois ambientes distintos: casa de vegetação e Laboratório de Fitopatologia. Para avaliação dos diferentes métodos de inoculação, plantas de *C. abyssinica* e soja (utilizadas apenas como referência) semeadas em vasos, contendo 4kg de solo, areia e substrato Bioplant (1:1:1) e cultivadas por um período de três meses em casa de vegetação, foram inoculadas 60 dias após a emergência (DAE). A severidade da doença foi avaliada, diariamente, até a lesão atingir toda a planta. Para o método do disco de micélio em folhas destacadas, as avaliações iniciaram-se 48 horas após a inoculação, seguindo escala diagramática. Sobre a linhagem FMSCR 1101 de crambe observou-se maior quantidade de escleródios. Para a avaliação dos diferentes genótipos de crambe (FMS Brilhante, Mario, Galáctica e FMSCR 1101), estes foram semeados em vasos contendo 1,3 kg do substrato descrito. A inoculação foi realizada aos 29 DAE seguindo as três metodologias citadas e as avaliações iniciadas 48 horas após a inoculação. Observou-se que pelo método de inoculação com disco de micélio nas axilas foliares, houve maior progresso da lesão para FMS Brilhante e o genótipo Mario foi o mais resistente, sendo esse método de inoculação o que permitiu a melhor avaliação da resistência de genótipos de *C. abyssinica* ao patógeno. Para avaliar a transmissibilidade do fungo via sementes, estas foram acondicionadas em placas de Petri colonizadas pelo fungo, por 20 horas e 250 sementes por tratamento (inoculadas e não inoculadas) foram semeadas em bandejas plásticas contendo o substrato. A patogenicidade do fungo aos genótipos foi analisada por meio da contagem de plântulas emergidas com e sem sintomas, aos 9 e aos 18 dias após a semeadura (DAS). A comprovação da transmissão foi realizada 22 DAS pelo método Neon S. Observou-se que o patógeno pode ser transmitido para plântulas quando associado às sementes, sendo esta uma importante fonte de inóculo.

Termos para indexação: método de inoculação, resistência, transmissão.

BEHAVIOR OF *Crambe abyssinica* GENOTYPES INOCULATED WITH *Sclerotinia sclerotiorum*

ABSTRACT: The objectives of this work were to evaluate the reaction of *Crambe abyssinica* genotypes inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum*, using three inoculation methods (toothpick, mycelial disc in detached leaf and leaf axil), to verify the pathogen transmission by *C. abyssinica* seeds inoculated artificially, and to evaluate the pathogen relation and involvement on seedling emergence. The experiments were conducted in two different environments (greenhouse and Phytopathology Laboratory). *C. abyssinica* and soybean (used as reference) seeds were sowed in pots containing 4 kg of soil, sand and Bioplant substrate (1:1:1), cultured for three months in a greenhouse, and inoculated 60 days after emergence (DAE), in order to evaluate the different methods of inoculation. The disease severity was evaluated daily until the lesion reached the whole plant. The mycelial disc inoculation method in detached leaves had evaluations from 48 hours after inoculation, according to a diagrammatic scale. The *C. abyssinica* lineage FMSCR 1101 presented greater amount of *S. sclerotiorum*. Different genotypes of *C. abyssinica* (FMS Brilhante, Mario, Galactica and FMSCR 1101) were sowed in pots containing 1.3 kg of the described substrate for evaluation. The three inoculation methods were performed 29 DAE and evaluations began 48 hours after inoculation. The mycelial disc inoculation method in leaf axils presented more lesion progress in the genotype FMS Brilhante and the genotype Mario was the most resistant. This inoculation method allowed a better evaluation of the resistance of *C. abyssinica* genotypes to the pathogen. Seeds were placed in Petri dishes colonized by the fungus for 20 hours, and 250 seeds per treatment (inoculated and non-inoculated) were sowed in plastic trays containing the described substrate, to evaluate the transferability of the fungus via *C. abyssinica* seeds. The fungus pathogenicity to the genotypes was assessed by counting the emerged seedlings with and without symptoms, which was performed 9 and 18 days after sowing (DAS). The transmission confirmation was performed by the Neon S method, 22 DAS. The pathogen can be transmitted to seedlings when associated with seed, which is an important source of inoculum.

Index terms: Inoculation method, resistance, transmission.

INTRODUÇÃO

A busca por novas fontes de energia renováveis e ecologicamente corretas intensifica-se cada vez mais. Grande parte da energia consumida mundialmente provém de fontes limitadas, como o petróleo, apresentando assim preços elevados e grande emissão de gases de efeito estufa. Desta forma, faz-se necessária a disponibilidade de matéria-prima alternativa destinada à produção de biodiesel (TRZECIAK et al., 2008).

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), uma dessas alternativas, tem alto teor de óleo (podendo atingir 38%), sendo este de fácil extração, além de ser tolerante à seca, com baixo custo de produção e de fácil mecanização no plantio e colheita. Além disso, o crambe pode ser uma alternativa para a safra de inverno e, como propõe o Plano Nacional de Agroenergia (PNA), não concorre com culturas alimentares (PITOL et al., 2010).

A planta de crambe contém glucosinolatos presentes em seus tecidos, sendo que o metabolismo desses compostos resulta na produção de substâncias tóxicas, o que funciona como uma barreira natural ao ataque de pragas. Pode ocorrer a incidência de doenças como: mancha de alternária (*Alternaria* sp.), mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), fusariose (*Fusarium* sp.), hérnia das crucíferas (*Plasmodiophora* sp.) e canela preta (*Leptosphaeria maculans*). O mofo branco ou podridão branca é a mais preocupante, uma vez que ocorre em culturas importantes no Brasil como a soja, o feijão e girassol (PITOL et al., 2010).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fungo polífago tendo como plantas hospedeiras mais de 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies, dentro das quais incluem alfafa, feijões, trevos, ervilha, batata, fumo, hortelã, soja, girassol, tomate, canola, sendo as três últimas consideradas altamente suscetíveis (FERREIRA et al., 1979; STEADMAN, 1983; JACCOUD-FILHO et al., 2010; HARTMAN et al., 1999; BOLTON et al., 2006; SAHARA e METHA, 2008; JULIATTI e JULIATTI, 2010).

A disseminação da *S. sclerotiorum* pode ser feita por micélios dormentes, os quais sobrevivem tanto em resíduos de plantas infectadas como internamente na semente, ou ainda este fungo pode ser transportado por frações impuras do lote de sementes contendo escleródios que são estruturas de resistência (FERREIRA et al., 1979; STEADMAN, 1983; HARTMAN et al., 1999; YANG et al., 1998; BOLTON et al., 2006; SAHARA e METHA, 2008; JULIATTI e JULIATTI, 2010). Desta

forma, áreas com presença de estruturas de resistência estarão impróprias para a rotação ou sucessão de culturas antes que esse inóculo inicial seja reduzido, o que limita a elaboração de um programa econômico de rotação de culturas (CARDOSO et al., 2005; CARREGAL et al., 2005).

No Brasil, tem-se verificado a preocupação com relação à infecção das sementes por micélio de *S. sclerotiorum* em diversas culturas (HENNEBERG et al., 2012; BOTELHO et al., 2013; TELES et al., 2013), embora, a taxa de transmissão do patógeno, para muitos de seus hospedeiros, ainda não tenha sido quantificada, tampouco, tem-se relacionado a infecção fúngica com o vigor de sementes e desenvolvimento de plantas.

Sendo o crambe uma cultura suscetível a esse patógeno assim como a soja, que é a cultura principal do Estado de Mato Grosso do Sul, é importante que se tenha maior conhecimento sobre o comportamento do crambe frente a *S. sclerotiorum*, principalmente com relação à fonte de inóculo, para que possam ser tomadas decisões no manejo da doença e no estabelecimento de sistemas de sucessão e rotação com essas duas culturas.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho são: avaliar a reação de cultivares de crambe à inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando-se de três métodos de inoculação, além de verificar a transmissibilidade de *S. sclerotiorum*, a partir de sementes de crambe inoculadas artificialmente, assim como, avaliar a sua relação e implicação sobre a emergência das plântulas.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do crambe

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) é originário da região mediterrânea, tem sido cultivado no continente africano, na Ásia central e oeste, Europa, Estados Unidos e América do Sul (OPLINGER et al., 1991; DESAI, 2004).

Essa cultura foi utilizada pela primeira vez em 1933, na Estação Botânica Boronez, na antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas - URSS (MASTEBROEK et al., 1994). Há evidência de trabalhos de investigação experimental na Rússia, Suécia e Polônia, após a segunda Guerra Mundial (ZIMMERMANN, 1962; PAPATHANASIOU et al., 1996).

Por enquanto, o crambe ainda está em desenvolvimento como cultura agrícola e não é amplamente cultivado. Desde a década de 1950, houve inúmeras tentativas em desenvolver a produção comercial de óleo com alto teor de ácido erúico proveniente do crambe (MEIJER et al., 1999).

Na década de 90, houve um grande esforço das instituições norte-americanas para buscar alternativas não alimentícias, voltadas para a produção de óleo e desta forma, desenvolveram-se pesquisas e parcerias com produtores, agroindústrias e cientistas para a introdução da cultura do crambe (OLIVA, 2010). No mesmo período foram introduzidos no Brasil materiais vindos do México, os quais foram selecionados por pesquisadores da Fundação de Mato Grosso do Sul, em 1995, originando a primeira cultivar de crambe (FMS Brilhante) no país, adaptada às condições brasileiras (FALASCA et al., 2010; PITOL et al., 2010).

O crambe é uma planta da família Brassicaceae, também conhecida como família das crucíferas, da qual fazem parte plantas como a mostarda (*Brassica campestris* L.), a canola (*Brassica napus* L.) e a nabiça (*Raphanus raphanistrum* L.), sendo composta por cerca de 350 gêneros e 3200 espécies (WATSON e DALLWITZ, 1992).

Trata-se de uma cultura anual, herbácea, com cerca de um metro de altura. Sua haste ramifica-se próxima ao solo, formando galhos ramificados denominados de galhos terciários. As flores podem ser amarelas ou brancas, e produzem um grande número de pequenas sementes. O fruto é uma cápsula verde, o qual passa para coloração amarelada à medida que amadurece (PITOL et al., 2010).

Cada cápsula contém uma única semente verde ou marrom esverdeada. O tamanho da semente varia consideravelmente no diâmetro (0,8 a 2,6 mm), sendo influenciada pelo número de sementes por planta, fertilidade do solo e chuva (DESAI et al., 1997).

Suas raízes podem chegar a mais de quinze centímetros de profundidade, fazendo com que a planta tenha grande tolerância a períodos de seca, sua precocidade e o percentual de óleo total são as grandes vantagens dessa cultura, porém, não é adaptável a solos muito úmidos ou alagados (DUKE, 2002; FALASCA et al., 2010). Esse enraizamento profundo depende de um solo corrigido quanto à acidez e a presença de alumínio tóxico, desta forma, haverá um melhor aproveitamento das adubações num sistema de rotação de culturas. Recomenda-se adubações moderadas de reposição de nutrientes, de acordo com a produtividade esperada, exportação da cultura e disponibilidade do nutriente no solo: 10 a 20 kg ha⁻¹ de N; 20 a 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅; e 15 a 20 kg ha⁻¹ de K₂O (PITOL et al., 2010).

O crambe é uma cultura de outono-inverno, sendo uma alternativa como cultura sucessora à soja, para semeadura no período compreendido entre março e abril, com espaçamento entre linhas de 17 a 45 cm e densidade de plantio entre 8 a 22,5 kg ha⁻¹ com profundidade de 3 cm (PITOL et al., 2010). Seu florescimento ocorre aos 35 dias e tem ciclo de 85 a 95 dias, com maturação uniforme (DUKE, 2002).

Segundo Oplinger et al. (1991), o crambe pode suportar temperaturas de 4°C negativos, adaptando-se melhor a solos bem drenados, com pH entre 6 e 7. Para Pitol et al. (2010), geadas fortes prejudicam a produção apenas quando ocorrem na fase inicial da plântula e no florescimento, sendo que as geadas leves não causam maiores danos. Nas outras fases tolera as fortes geadas, sendo que temperaturas amenas, até 25°C, podem elevar o seu potencial produtivo e a tolerância à seca. Em relação a altas temperaturas não existem registros, mas sabe-se que o crambe é mais tolerante a estas do que a colza e a canola. Silveira et al. (2009) não observaram danos, pelo menos visuais, nas fases vegetativa e reprodutiva causada por geadas no Rio Grande do Sul.

O crambe exige boa umidade no solo para germinação e estabelecimento da cultura, com necessidade máxima entre 150 e 200 mm de água até o pleno florescimento (PITOL et al., 2010). Li et al. (2011) evidenciam uma importante vantagem para essa cultura, pois não realiza fecundação cruzada com outras

oleaginosas, permitindo a aplicação de procedimentos de transgenia sem o risco de ocorrer fluxo gênico com outras culturas.

No Brasil, Pitol et al. (2010) registram produções de 1.000 a 1.500 kg ha⁻¹ e uma eficiência de extração que pode chegar a 70% do óleo total. O óleo não é comestível, porém possui grande utilidade como matéria-prima industrial, pois apresenta cerca de 60% de ácido erúxico (CARLSSON, 2009).

2.2 Importância econômica

2.2.1 Características do óleo

A espécie *C. abyssinica* produz óleo com propriedades físico-químicas (densidade, viscosidade, índice de acidez, poder calorífico, dentre outros) semelhantes ao diesel extraído do petróleo, tornando um forte candidato a integrar o grupo de plantas oleaginosas que irá fazer parte de programas mundiais de energias renováveis. Outro aspecto importante da cultura é o fato do fruto conter cerca de 56% de ácido erúxico, um ácido graxo de cadeia longa que tem alto valor industrial e farmacêutico (VARGAS-LOPES et al., 1999). Por este motivo, o óleo produzido pelo crambe não é comestível, sendo utilizado para fabricação de produtos químicos intermediários que, posteriormente, serão utilizados como insumos na fabricação de sacos de plástico, cosméticos, produtos de higiene pessoal, entre outros, além de ser um lubrificante eficiente, inibidor de corrosão e mais biodegradável do que óleos minerais (LEONARD, 1993; LAZZERI et al. 1997; OPLINGER et al. 2000; WANG et al. 2000).

Para Rudolff e Wang (2012), existem três razões que fizeram e ainda fazem do crambe uma cultura oleaginosa única: entre as brássicas é a espécie que mais contém ácido erúxico, de grande interesse industrial; possui grande rendimento, se comparado à colza, necessitando, no entanto de menos esforços de cultivo; além de não hibridizar naturalmente com outras brássicas.

2.2.2 Produtos e co-produtos do crambe

Existem três tipos de utilização de espécies de crambe como: vegetais (ervas aromáticas ou raízes), na fitorremediação de solos contaminados e semente

oleaginosa (RUDOLFF e WANG, 2012), enquanto que no setor agrícola, o óleo pode ser usado como adjuvante em aplicações de herbicidas, fungicidas e inseticidas, substituindo o óleo mineral, além de ser utilizado no setor farmacêutico, como substituto para fontes animais de óleos de cadeia longa (PITOL et al., 2010).

Conforme a metodologia de extração do óleo, o co-produto apresenta características diferentes. Se a extração é mecânica, o resíduo tem cerca de 20% de óleo, sendo chamado de torta, mas se a extração é feita com solvente, o resíduo é o farelo que apresenta cerca de 2% de óleo (PITOL et al., 2010). Massoura et al. (1998) afirmam que a torta de crambe contém aproximadamente 47% de proteína, podendo ser utilizada na fabricação de ração animal.

Estudos em andamento pretendem avaliar a utilização dos subprodutos da extração do óleo como adsorventes dos metais pesados cádmio, chumbo e cromo, em águas contaminadas, visando o aproveitamento destes subprodutos (COELHO et al., 2011; LINDNER et al., 2011; RUBIO et al., 2011). Neste contexto, Oliveira e Franca (2009) apontam que a torta prensada de crambe, que seria um resíduo e pode se tornar um co-produto, é uma alternativa sustentável e promissora no tratamento de efluentes industriais contaminados com corantes básicos. Rudolff e Wang (2012) relatam ainda a habilidade de *C. abyssinica* a tolerar e acumular quantidades bastante elevadas de arsênico.

2.3 Doenças associadas à cultura

O crambe tem grande potencial como cultura oleaginosa, mas um de seus problemas é a baixa resistência a doenças, sendo que as causadas por fungos são consideradas um dos principais problemas fitossanitários (WANG et al., 2000; PITOL et al., 2010). Há relatos da ocorrência de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), manchas de alternaria (*Alternaria* sp.), canela preta (*Leptosphaeria maculans*) e podridão de raiz causada por *Pythium* (GLASER, 1996), além de fusário (*Fusarium* sp.) e plasmodiofora (*Plasmodiophora* sp.) em plantas de crambe em épocas de elevada precipitação e umidade relativa do ar. O mofo branco deve ser tratado com atenção, pois afeta também outras culturas importantes no Brasil, como é o caso da soja e do feijão (PITOL et al., 2010).

Além destas, ainda podem surgir, ocasionalmente, infecções por *Cladosporium* spp., *Epicoccum* spp., *Stemphium* spp., *Botrytis* spp., além do

nematoide *Heterodera schachtii* (CARLSSON et al., 2007). Há relatos de ocorrência de *Rhizoctonia solani*, um patógeno de solo com grande capacidade saprofítica, parasitando a cultivar FMS Brilhante, na cidade de Santa Helena, Oeste do Paraná (CORRER, 2008). Há suscetibilidade ao vírus do mosaico do nabo (*Turnip mosaic virus*) do gênero Potyvirus, que é relatada por Maringoni (2005), como uma das doenças relacionada às brássicas, sendo transmitido por pulgões.

Segundo Colodetti et al. (2012), as doenças são favorecidas quando as condições do clima estão desfavoráveis à cultura, como a alta ocorrência de precipitações pluviais, causando um acréscimo da umidade do ar e do solo, tornando a cultura do crambe muito suscetível aos patógenos.

Para Oplinger et al. (1991), a principal doença ligada ao crambe é causada pelo fungo *Alternaria brassicicola* que provoca manchas escuras por toda a parte aérea da planta, com grande risco de infecção se a colheita atrasar. No Brasil, há três relatos até o momento de manchas de alternaria em crambe: Carneiro et al. (2009) identificaram *A. brassicicola* na estação experimental do Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, na cidade de Londrina; Macagnan et al. (2010) identificaram o referido fungo no estado de Goiás, que é uma das regiões mais importantes na produção de matéria-prima para o biodiesel; e Pitol et al. (2010) também observaram *Alternaria* sp. em Mato Grosso do Sul.

De acordo com Pitol et al. (2010), os principais fungos associados às sementes de crambe são *Alternaria* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* sp., *Plasmodiophora* sp., *Leptosphaeria maculans*, *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Stemphilium* sp. e *Botrytis* sp.. Carlsson et al. (2007) relatam que esporos de fungos, incluindo diferentes gêneros de *Alternaria*, são comuns nas sementes de crambe logo após a colheita.

No levantamento de doenças na cultura do crambe, na região oeste do Paraná, Moers (2012) constatou a incidência de fungos e bactérias nos dois lotes de sementes avaliados, além de ter identificado *Fusarium* sp. causando damping off em plantas jovens, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causando podridão negra e manchas de *Alternaria brassicae* em plantas adultas.

Os fungos presentes nas sementes podem interferir desde a germinação até o final do ciclo da cultura. Na germinação, esses patógenos deterioram as reservas dos cotilédones afetando o vigor. Em relação às plântulas, doenças como o tombamento podem diminuir o número destas no estande, ocasionando falhas na

lavoura. Já no decorrer do desenvolvimento da cultura, podem ocorrer algumas doenças veiculadas pelas sementes, que podem levar à morte ou ocasionar manchas foliares, as quais reduzem a área fotossintética das folhas e interferem no processo de enchimento dos grãos. Em ambos os estádios de desenvolvimento da planta, os patógenos são favorecidos pela presença de alta umidade no ambiente (PITOL et al., 2010).

Tem-se conhecimento de vários patógenos que causam doenças na cultura, porém as informações técnicas em relação à eficiência de fungicidas tanto no tratamento de sementes quanto em aplicação na parte aérea, são escassas e requerem maior atenção, uma vez que o objetivo é aumentar a produtividade, viabilizando o seu plantio e posterior utilização na produção de biodiesel (MOERS, 2012).

Maciel et al. (2014) avaliaram a eficiência de fungicidas em tratamento de sementes e da parte aérea das plantas no controle de *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp e *Phoma* spp na cultura do crambe, sendo que a combinação dos fungicidas piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (via tratamento de sementes) + difenoconazole (via aplicação aérea) obteve o melhor resultado em relação às variáveis analisadas (índice de velocidade de emergência, sanidade das sementes antes do plantio e a incidência dos fungos, incidência e severidade à campo), porém, nenhum dos tratamentos tiveram resultados satisfatórios em relação ao controle de doenças na cultura.

Há relatos de muitas culturas com potencial bioenergético, com sintomas da doença conhecida como mofo branco, causada pela *Sclerotinia sclerotiorum* (BRADLEY et al., 2003; YANG et al., 2007; REIMONTE e CASTAÑO, 2008). Este fungo apresenta um potencial para causar sérias perdas no rendimento (LU, 2003). Carlsson et al. (2007) constataram, em Dakota do Norte (EUA), a suscetibilidade do crambe ao mofo branco e alternaria, onde condições de umidade excessiva, durante todo o ano de 1993 resultaram em perda significativa de rendimento, devido a estas doenças. Já, Wang et al. (2000) relatam a relação entre a data de plantio da cultura do crambe com a porcentagem da doença causada pela *Sclerotinia sclerotiorum*. Utilizaram cinco datas de plantio entre outubro e novembro e demonstraram que quanto mais tardio o plantio, maior a porcentagem da doença. O plantio no mês de outubro obteve um melhor resultado, devido à temperatura de 15 a 18°C e precipitação suficiente para o desenvolvimento da cultura.

2.4 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)

A doença conhecida como mofo branco ou podridão branca, causada pelo fungo *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary, recebe essas denominações em função dos sintomas e sinais externos causados na planta, como: presença de lesões encharcadas nos órgãos afetados, coloração parda e consistência mole, com micélio branco de aspecto cottonoso cobrindo porções dos tecidos, atingindo hastes, pecíolos, folhas e vagens. O patógeno também atinge internamente a haste principal da planta, formando micélio e escleródios (FERREIRA et al., 1979; STEADMAN, 1983; HARTMAN et al., 1999; LEITE, 2005; BOLTON et al., 2006; SAHARA e METHA; 2008, JULIATTI e JULIATTI, 2010).

Sclerotinia sclerotiorum é um patógeno que causa danos em muitas culturas de interesse econômico, sendo que Boland e Hall (1994) relacionaram 408 espécies como hospedeiras do patógeno. O mofo branco é um problema do feijão na safra de inverno no Brasil (PAULA JÚNIOR et al., 2009). Além da cultura do feijão que é muito suscetível à doença destacam-se também: soja, girassol, canola, ervilha, alfafa, fumo, tomate, algodão, nabo forrageiro e batata (GARCIA e JULIATTI, 2012; JULIATTI et al., 2013). Há relatos de um grande número de hortaliças como hospedeiras do patógeno: cenoura, alho, cebola, maxixe, pepino, melão dentre outras (MENDES et al., 1998). O milho e o sorgo não são culturas hospedeiras, sendo consideradas opções para a rotação de cultura (FERREIRA et al., 1979; STEADMAN, 1983; HARTMAN et al., 1999; BOLTON et al., 2006; SAHARA e METHA; 2008; JULIATTI e JULIATTI, 2010).

Trata-se de um fungo que apresenta as fases reprodutivas anamórfica e teleomórfica, pertencente ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae. A espécie *S. sclerotiorum* é conhecida e estudada desde 1837 e está distribuída mundialmente (GÖRGEN et al., 2009). Esse fungo ocorre em um grande número de países, principalmente de clima temperado e subtropical (BIANCHINI et al., 2005).

O fungo *S. sclerotiorum* produz estruturas de resistência denominadas escleródios ou esclerócios, dentro e na superfície dos tecidos colonizados, que retornam ao solo com os resíduos da cultura e são responsáveis pela sua sobrevivência no solo por mais de 10 anos (LEITE, 2005). Estas estruturas apresentam formato irregular, com um a vários milímetros de diâmetro e

comprimento (KIMATI et al., 2005); a princípio apresentam coloração branca, e posteriormente, tornam-se negros e duros. O escleródio é formado por uma massa compactada e melanizada de micélio e, após sua germinação, é geralmente o responsável inicial pela infecção da planta cultivada (AGRIOS, 2005).

Os escleródios são compostos por três camadas distintas: uma parede grossa rica em melanina, responsável pela sua coloração negra, uma parede fina (córtex) e a medula branca, que nada mais é do que o micélio dormente do fungo. A melanina confere resistência às condições adversas do solo, fazendo com que estes permaneçam viáveis por vários anos, mesmo na ausência de plantas hospedeiras (GÖRGEN et al., 2009).

Para Abdullah et al. (2008), os escleródios desempenham papel importante no ciclo de vida de *S. sclerotiorum*, pois em condições favoráveis e na presença de um hospedeiro suscetível, o mesmo germina e produz micélio, onde a germinação pode ocorrer de duas maneiras: a germinação miceliogênica (forma anamórfica) é mais rara e ocorre por penetração direta nos tecidos da base da planta, enquanto que a germinação carpogênica (forma teliomórfica) forma apotécios onde são produzidos milhares de esporos, denominados ascósporos, os quais são liberados infectando principalmente as flores. Segundo Bianchini et al. (2005), os ascósporos ejetados aderem a parte aérea da planta e uma parte é disseminada pelo vento a curtas distâncias.

Os fatores ambientais condicionantes da germinação carpogênica do escleródio incluem temperatura, umidade do solo e profundidade em que o escleródio encontra-se no solo. A espécie hospedeira também pode estimular a germinação de escleródios, por meio de exsudatos radiculares e pelo microclima formado sob o seu dossel (GÖRGEN et al., 2009). O ciclo de vida da *S. sclerotiorum* é dependente das condições ambientais, das fases da cultura e de certas práticas agronômicas. A doença tende a se concentrar em reboleiras, e raramente afeta totalmente o campo (SCHWARTZ et al., 2012).

S. sclerotiorum requer uma fonte exógena de energia para que os ascósporos infectem as folhas, vagens ou hastes (ABAWI e GROGAN, 1975; DOMSCH et al., 1980; STEADMAN, 1983). A infecção ocorre, via geral, diretamente através da cutícula por meio de enzimas e/ou força mecânica (GUIMARÃES e STOTZ, 2004), com a formação de apressórios, exceto quando a penetração ocorre via estômatos em alguns hospedeiros. Após o contato com o

hospedeiro, o fungo secreta fatores de patogenicidade múltiplos que incluem o ácido oxálico e um grande arsenal de enzimas líticas (COTTON et al., 2003).

A colonização ocorre associada à liberação de enzimas capazes de degradar a parede celular das células hospedeiras. Acredita-se que a enorme variedade de celulases, hemicelulases e pectinases produzidas por este fungo sejam um dos fatores que contribuem para a sua falta de especificidade (RIOU et al., 1991)

O ácido oxálico e enzimas pectolíticas estão associados com o desenvolvimento do mofo branco. O ácido oxálico penetra no tecido ao redor da lesão, reduzindo o pH de aproximadamente 6,8 para 4,0 e fornece um pH ótimo para a ação da enzima pectolítica (MARCIANO et al., 1983) e enfraquece as paredes celulares (FERRAR e WALKER, 1993).

Apesar de ainda não se conhecerem seus mecanismos exatos de ação, o ácido oxálico, além de propiciar um pH adequado para ação de suas enzimas, interfere com a produção do ácido abscísico e desregula as células-guarda dos estômatos, provocando a murcha das folhas e pode ser diretamente tóxico às plantas, enfraquecendo suas defesas (CESSNA et al., 2000; GUIMARÃES e STOTZ 2004).

As recomendações para o controle do mofo branco baseiam-se no sistema integrado de medidas, como rotação de culturas, espaçamento entrelinhas, época de semeadura, uso de fungicidas, controle biológico e o uso de sementes isentas do patógeno (FERREIRA et al., 1979; HARTMAN et al., 1999; NASSER et al., 1999; JÚNIOR e ABREU, 2000; VIEIRA et al., 2001; FONTANA et al., 2006; REMUSKA e DALLA PRIA, 2007; DALLA PRIA e SILVA, 2010; GRABICOSKI et al., 2010; JACCOUD FILHO et al., 2010; JULIATTI e JULIATTI, 2010; MANOSSO NETO et al., 2010; VRISMAN et al., 2010).

A transmissão do fungo via semente pode ocorrer por este patógeno estar aderido às camadas externas ou no embrião. Tu (1988), estudando a capacidade da sobrevivência de *S. sclerotiorum* em sementes infectadas por meio de micélios dormentes nos cotilédones, observou que sementes infectadas semeadas em solo/areia, as quais não germinaram, apodreceram e no seu lugar formaram de três a seis escleródios do fungo, concluindo que a detecção de micélios dormentes do patógeno na semente é importante, não somente na disseminação do fungo, mas também na epidemiologia da doença.

A transmissibilidade de *S. sclerotiorum* pelas sementes não depende apenas da constatação de sua presença, mas também de fatores externos (ambientais

e bióticos), inerentes ao patógeno (patogenicidade, agressividade, potencial de inóculo, etc.) e ao hospedeiro (susceptibilidade/resistência, mecanismos de resistência, etc.). Workneh e Yang (2000) observaram maior incidência de *S. sclerotiorum* nas regiões de Minnesota e Iowa (Estados Unidos) em função das condições ambientais favoráveis.

Recentemente, Manosso Neto et al. (2010), ao estudarem a incidência de *S. sclerotiorum* em plantas de soja em Arapoti – PR, semeadas em oito épocas iniciando em 15 de setembro de 2009 com intervalos quinzenais e, finalizando em 30 de dezembro de 2009, observaram que a incidência foi maior nas semeaduras realizadas entre setembro e outubro. Não houve ocorrência da doença na segunda quinzena de novembro e na primeira e segunda quinzena de dezembro, devido a elevadas temperaturas médias que reduzem a formação de apotécios, concluindo que as condições ambientais e as épocas de semeadura podem propiciar o desenvolvimento da doença, tornando-as áreas de risco para produção de sementes de soja.

Para Barbosa e Gonzaga (2012), os métodos de controle do mofo branco, por serem limitados, devem ser tomados de maneira integrada para melhor eficiência. Primeiramente, deve-se fazer todo o possível para impedir a entrada do patógeno em áreas onde a doença ainda não foi constatada, devido a difícil erradicação.

É essencial o uso de sementes sadias, certificadas, de procedências conhecidas e tratadas com fungicidas recomendados e registrados para a cultura e doenças, além da limpeza minuciosa dos implementos agrícolas, principalmente no caso de terem sido utilizados em áreas onde a doença já tenha sido instalada e evitar condições ambientais que favoreçam o desenvolvimento do patógeno (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

Para a realização de um manejo integrado de doenças, faz-se necessário conhecer o ciclo da doença, o histórico da área, o sistema de cultivo, as variações climáticas características do local, a realidade do produtor e definir as táticas agrônomicas. Estas táticas significam reduzir a população do patógeno na área, reduzir a taxa de progresso da doença, aumentar a resistência das plantas, modificar o ambiente tornando-o desfavorável à doença e favorecer antagonistas para o controle biológico (GÖRGEN et al., 2009). Práticas agrônomicas, tais como manejo de irrigação, rotação de cultura, densidade de plantas e hábitos de crescimento são

estritamente relacionadas com o ciclo de vida do patógeno e o manejo da doença (SCHWARTZ et al., 2012).

MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ensaios com diferentes metodologias de inoculação

O experimento foi realizado no período de Julho a Outubro de 2014, na Faculdade de Ciências Agrárias, situada na unidade II da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada na Rodovia Dourados à Itahum, km 12 – Dourados- MS.

O ensaio experimental foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação. A implantação ocorreu em 11 de Julho de 2014, semeou-se uma cultivar de crambe, FMS Brilhante e uma linhagem, FMSCR 1101, fornecidas pela Fundação MS, safra 2014/2014 e três cultivares de soja: TMG 7262 RR; TMG 1264 RR; TMG 1067 RR. Os genótipos de soja foram utilizados apenas como uma referência para a avaliação dos testes, devido à falta de genótipos de crambe no início do desenvolvimento do experimento.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (genótipos de crambe e soja) e cinco repetições para cada método de inoculação utilizado, sendo eles: método do palito, disco de micélio em folhas destacadas e disco de micélio nas axilas foliares.

O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho Distroférrico, juntamente com areia e substrato Bioplant na proporção de 1:1:1. A semeadura foi feita em vasos plásticos contendo 4 kg da mistura, adubado na base com 1,5 gramas/vaso do fertilizante FH444 – 02-16-16 + 10% Ca + 7%S + 1%Mg + 0,1%B + 0,06%Mn + 0,01%Mo + 0,2%Zn + 10% turfa.

Sementes de crambe foram tratadas com carbendazim + tiram, na dose de 1mL/100 gramas de sementes e 5mL de água destilada /100 gramas de sementes (solução com 0,6mL). As sementes de soja vieram tratadas pelo fabricante com Carboxin + Tiram.

Foram semeadas 10 sementes por vaso e, dezessete dias após a emergência, procedeu-se o desbaste deixando-se quatro plantas por vaso. Após sete dias, fez-se o segundo desbaste deixando apenas duas plantas por vaso, de maneira que uma planta foi inoculada e a outra testemunha (sem inoculação). Os vasos foram irrigados, mantendo-se um turno de rega de dois dias, de modo a manter a umidade do solo em 60% da capacidade de campo. Fez-se necessária uma aplicação de

fungicida piraclostrobina + epoxiconazol no dia 4 de agosto de 2014, na dose de 3 mL⁻¹ de água para controle de oídio. As plantas foram inoculadas pelos métodos palito (GASPERI, 2000) e discos de micélio fúngico nas axilas foliares, aos 66 dias após a semeadura (DAS).

O isolado do fungo *S. sclerotiorum* utilizado foi obtido em lavouras de soja da região, e seus escleródios estavam armazenados em geladeira. Esses escleródios foram desinfestados em álcool 70%, hipoclorito a 1% e água destilada estéril, no tempo de dois minutos para cada tratamento. Posteriormente, os escleródios foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (batata, dextrose e Agar). As placas de Petri foram incubadas a 23 ± 3°C e fotoperíodo de 12 horas para germinação miceliogênica, obtendo assim os discos de micélio.

3.1.1 Método de inoculação do palito

Palitos de dente com 15mm de comprimento foram autoclavados e acondicionados em posição vertical em placas de Petri contendo meio BDA, ainda não solidificado, de modo que 3mm da ponta dos palitos permanecessem acima do meio de cultura. Posteriormente, foram distribuídos, no centro das placas, discos de micélio de 5mm de diâmetro para promover a colonização dos palitos pelo fungo. Algumas placas não receberam o fungo, para que os palitos fossem inseridos nas plantas testemunhas. Depois do período de incubação, os palitos foram inseridos no caule da planta na altura do seu terço médio aos 60 DAE (Figura 1).

As plantas inoculadas foram cobertas com sacos plásticos transparentes, e água destilada pulverizada em seu interior, prendendo-os com barbante de modo a formar uma câmara úmida, na qual permaneceram por um período de 24 horas. Após esse período, iniciaram-se as avaliações da severidade da doença, por ocasião da retirada da câmara. As avaliações foram diárias e utilizou-se régua graduada para a medição da lesão. Avaliou-se o comprimento da lesão aos 25 dias após a inoculação (CL 25 DAI), a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a formação de número de escleródios produzidos por *S. sclerotiorum* no interior do caule dos genótipos de crambe, bem como o peso desses escleródios

Para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizou-se a equação citada por Shaner e Finney (1977).

$$AACPD = \sum_{i=1}^n [(Y_{i+1} + Y_i)/2] * [(T_{i+1} - T_i)], \text{ sendo:}$$

n – é o número de observações

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

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

Os dados, relacionados à severidade, AACPD e formação de escleródios, foram submetidos a análise de variância com auxílio do programa SANEST e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

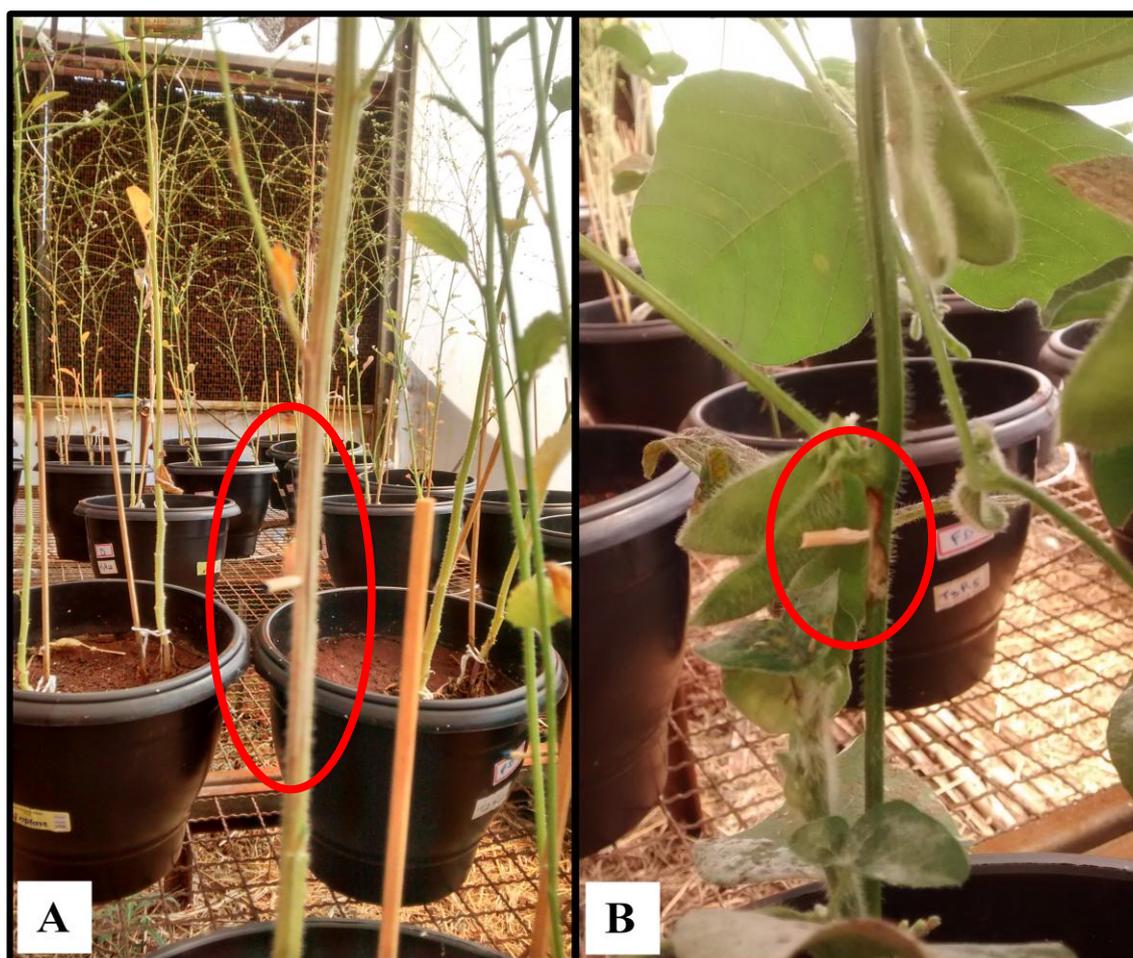


FIGURA 1. Inoculação de plantas utilizando-se o método do palito. (A) Crambe; (B) Soja.

3.1.2 Método de inoculação com discos de micélio nas axilas foliares

Discos de 5mm de diâmetro contendo micélio fúngico foram retirados a partir das margens crescentes da colônia, e inoculados 60 DAE nas axilas das folhas

do terço médio das plantas de forma invertida, ou seja, a superfície que continha o micélio foi colocada em contato com a planta (Figura 2).



FIGURA 2. Inoculação das plantas de crambe utilizando-se do método do disco de micélio.

Após a inoculação foi realizada uma câmara úmida conforme descrito anteriormente, a qual permaneceu por um período de 24 horas.

3.1.3 Método de inoculação com discos de micélio em folhas destacadas

As folhas necessárias para a instalação do experimento foram retiradas de plantas, contidas em vasos, semeadas no mesmo período dos métodos anteriores. Destacou-se o pecíolo junto às hastes aos 60 DAE, sendo imediatamente levadas ao laboratório para o devido acondicionamento.

As folhas foram acondicionadas em gerbox devidamente esterilizado com hipoclorito a 1%, e, em seguida, enxaguado com água destilada estéril, onde após sua secagem natural, foram colocadas quatro folhas de papel filtro borrifadas com água de modo a garantir a umidade relativa no interior do gerbox. Para a folha destacada não ficar em contato direto com o papel filtro, utilizou-se uma lâmina de

vidro, colocando-se a folha sobre ela (uma folha por gerbox). O pecíolo da folha foi envolvido com algodão umedecido com água destilada estéril. Com este procedimento as folhas destacadas estavam prontas para serem inoculadas (Figura 3).



FIGURA 3. Inoculação com discos de BDA contendo micélio de *S. sclerotiorum* em folíolos destacados de crambe (método do disco de micélio em folha destacada).

Antes da inoculação, as folhas foram pulverizadas com água destilada e, a seguir, receberam um disco de micélio de 5 mm. As caixas gerbox foram incubadas em câmara BOD à temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Para cada tratamento inoculado, foi feita uma testemunha (sem inoculação) para posterior comparação durante a avaliação. As avaliações de severidade foram realizadas, diariamente, com base na escala diagramática elaborada por Garcia e Juliatti (2012), iniciando-se 48 horas após a inoculação (Figura 4).

Com relação a formação de escleródios, as avaliações foram realizadas diariamente por um período de quinze dias, observando-se sua formação e fazendo a contagem de escleródios formados em cada tratamento e repetição.

Os dados relacionados à severidade e formação de escleródios, foram submetidos a análise de variância conforme mencionado no item 3.1.1.

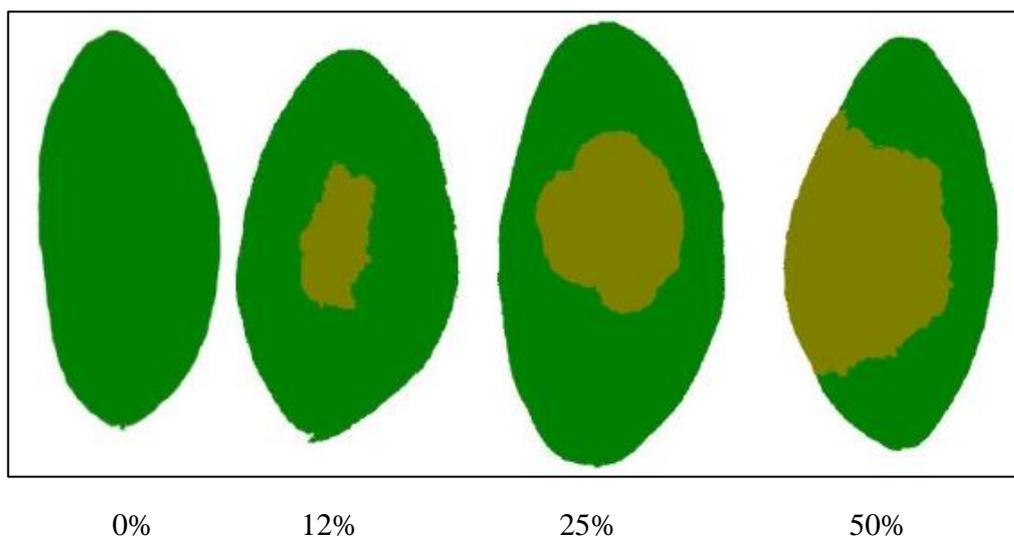


FIGURA 4. Escala diagramática para avaliação dos sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas inoculadas de planta de soja (Garcia e Juliatti, 2012).

3.2 Reação de genótipos de crambe à *S. sclerotiorum*

O experimento foi realizado no período de Setembro a Novembro de 2014, na Faculdade de Ciências Agrárias, situada na unidade II da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) localizada na Rodovia Dourados à Itahum, km 12 – Dourados- MS.

O ensaio experimental foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação. A implantação ocorreu em 25 de Setembro de 2014, quando foram semeadas 10 sementes por vaso das cultivares de crambe FMS Brilhante, Mario e Galáctica, e uma linhagem da mesma cultura, FMSCR 1101.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (genótipos) e cinco repetições para cada método de inoculação utilizado, sendo eles: método do palito, disco de micélio em folhas destacadas e método do disco de micélio nas axilas foliares.

A metodologia utilizada foi a mesma relatada anteriormente, com a diferença no tamanho do vaso que foi reduzido e a quantidade de 1,3 kg da mistura, citada no experimento anterior/vaso, a dose do adubo foi de 0,75g/vaso. Dezesete dias após a semeadura, fez-se o desbaste deixando quatro plantas por vaso, após dez dias, fez-se o segundo desbaste deixando apenas duas plantas por vaso, uma para

inoculação e a outra testemunha (sem inoculação). Os vasos foram irrigados, mantendo-se um turno de rega conforme a necessidade para manter o bom desenvolvimento da cultura. A inoculação foi realizada aos 29 dias após a emergência, sendo que no método do disco de micélio nas axilas foliares, fez-se o envolvimento com papel filme para evitar o ressecamento do disco.

As avaliações foram iniciadas 48 horas após as plantas terem sido inoculadas, realizadas diariamente e utilizando-se régua graduada para medir o comprimento da lesão, tanto para o método do palito quanto para o disco de micélio nas axilas foliares. Para o método de inoculação de disco de micélio em folha destacada, os sintomas foram avaliados com base na escala diagramática elaborada por Garcia e Juliatti (2012).

Para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizou-se a equação citada por Shaner e Finney (1977).

Os dados, relacionados à severidade máxima e AACPD, para os métodos do palito e disco de micélio em folha destacada, e severidade máxima, severidade aos 13 dias e AACPD para o método do disco de micélio nas axilas foliares, foram submetidos a análise de variância com auxílio do programa SANEST e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Transmissão de *S. sclerotiorum* via sementes

O experimento foi realizado no período de Março a Junho de 2015, na Faculdade de Ciências Agrárias, situada na unidade II da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) localizada na Rodovia Dourados à Itahum, km 12 – Dourados- MS.

O ensaio foi implantado em 20 de Março de 2015. Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* foram obtidos no interior dos caules do crambe dos ensaios anteriormente realizados, submetidos à assepsia em álcool 70%, hipoclorito de sódio a 1% e lavados com água destilada e esterilizada por um minuto, posteriormente, secos em câmara de fluxo de ar. Após esse procedimento, os escleródios foram acondicionados em placas de Petri contendo meio BDA, as quais foram vedadas com filme plástico e incubadas em BOD a 20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12 horas para promover a colonização do meio de cultura pelo patógeno.

Depois do crescimento micelial, 250 sementes dos genótipos FMS Brilhante e Mario provenientes da Fundação MS, safra 2014/2014 foram previamente desinfestadas, como mencionado para os escleródios, depositadas em camada única e levemente pressionadas sobre o meio colonizado, onde permaneceram por um período de 20 horas. Como testemunha, utilizaram-se sementes incubadas nas mesmas condições, porém, apenas em meio BDA. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 2 X 2 (genótipos x com/sem inoculação) com cinco repetições.

A semeadura foi realizada em 31 de Março de 2015, quando foram semeadas 50 sementes por parcela, em bandejas plásticas contendo solo peneirado do tipo Latossolo Vermelho Distroférico, substrato Bioplant e areia, na proporção de 1:1:1. A irrigação foi realizada conforme a necessidade, de modo a manter a umidade adequada para o bom desenvolvimento da cultura.

A patogenicidade do fungo às culturas foi analisada por meio da contagem de plantas emergidas com e sem sintomas da doença, aos nove dias após a semeadura, e uma segunda contagem aos 18 dias.

Para avaliação da transmissibilidade do patógeno via sementes, foram coletadas quatro sementes não emergidas, quatro plântulas assintomáticas de cada tratamento e repetição, além de um número variado de plântulas com sintomas, devido em algumas repetições não serem encontradas as quatro plântulas necessárias em 22 de abril de 2015. Estas foram lavadas em água corrente para retirada do solo aderido a elas e submetidas à assepsia em álcool 70% e hipoclorito de sódio a 0,5% por um minuto, sendo, posteriormente, lavadas com água destilada e esterilizada. Os fragmentos vegetais, bem como as sementes, foram plaqueados em meio Neon S (NAPOLEÃO et al., 2006). Utilizou-se meio de cultura com a seguinte composição: 39 g de BDA para 1 litro de água destilada (autoclavados), sendo posteriormente acrescentado 50 mg de azul de bromofenol e 50 mg de cloranfenicol, após a diminuição da temperatura, o suficiente para não solidificação do meio. As placas foram incubadas a 19°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), no escuro constante, e as leituras foram realizadas aos sete e doze dias após a incubação, observando a formação de micélio, bem como a mudança da cor do meio, de azul para amarelo.

Quando o halo amarelo não era formado, mas havia presença de micélio, aparentemente de *S. sclerotiorum*, as sementes e/ou partes de plântulas foram incubadas em câmara úmida, em caixas gerbox, devidamente vedadas com papel

filme e incubadas a 19°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), no escuro constante, por 21 dias. As avaliações foram realizadas por meio da observação visual da formação de escleródios, para determinação do número de sementes e plântulas contaminadas.

As características avaliadas foram: porcentagem de emergência de plantas da primeira e segunda avaliação e porcentagem de plantas com sintomas da primeira e segunda avaliação, foram submetidos a análise de variância com auxílio do programa SANEST e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. A porcentagem de plantas com sintomas foi calculada em relação ao número de plantas emergidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio com diferentes metodologias de inoculação

As plantas inoculadas pelo método do palito que apresentaram sintomas típicos da doença causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, com micélio branco visível nas hastes e em algumas folhas, foram as dos genótipos de crambe FMS Brilhante e FMSCR 1101, enquanto que os genótipos de soja, não apresentaram sintomas característicos da doença. As plantas de crambe inoculadas apresentaram lesões maiores que as de soja, resultando em menor severidade da doença durante o período avaliado para os genótipos de soja (Tabela 1).

TABELA 1. Comprimento da lesão no caule aos 25 dias após a inoculação (CL 25 DAI) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para lesão em crambe e soja, submetidas à inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* pelo método do palito

	GENÓTIPOS	CL 25 DAI (cm)	AACPD
CRAMBE	FMS Brilhante	79,80 a*	264,96 a
	FMSCR 1101	59,00 a	229,44 a
SOJA	TMG 7262 RR	0,50 b	4,50 b
	TMG 1264 RR	0,50 b	3,82 b
	TMG 1067 RR	0,00 b	0,00 b
	CV (%)	74,19	62,62

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ($p>0,05$). Dados médios de cinco repetições. CV = coeficiente de variação.

As lesões observadas no caule dos genótipos de crambe e soja ocorreram dois dias após a inoculação, com exceção do genótipo TMG 1067 RR, onde não ocorreu lesão. Para inoculação da haste, tem-se verificado início dos sintomas em torno de três dias após a inoculação (WEGULO et al., 1998). Na cultura do crambe, as lesões evoluíram, enquanto que, na soja mantiveram-se estabilizadas. Embora os genótipos de soja utilizados não sejam resistentes a *Sclerotinia sclerotiorum*, a lesão causada não se desenvolveu como em crambe.

Tanto cultivares resistentes quanto suscetíveis apresentam suscetibilidade para serem infectadas em fase inicial, enquanto, àquelas resistentes são capazes de promover o retardamento do desenvolvimento do patógeno, tanto

sobre a superfície da planta como dentro dos tecidos do hospedeiro (GARG et al., 2010). Pela rapidez com que o patógeno infecta seu hospedeiro, antes que o mesmo possa expressar sua defesa (YANG et al., 2007), pode-se considerar a velocidade de colonização como um importante fator de patogenicidade de *S. sclerotiorum*. Sendo assim, os materiais de soja testados mostraram-se mais resistentes que os de crambe. Não foram detectadas diferenças entre os materiais de soja, nem entre os de crambe.

Desta forma, utilizando-se a metodologia do palito, poderia se prever que a introdução do patógeno nos tecidos da planta desconsideraria, caso houvesse, os mecanismos de defesa pré-formados e resultaria no desenvolvimento mais rápido das lesões, evidenciado pela presença das mesmas após a retirada das plantas da câmara úmida. Isso significa que os materiais de crambe poderiam ter mecanismos de resistência que não se apresentaram neste teste. A inoculação com discos de micélio poderia comprovar a existência ou não desses mecanismos. Este método foi realizado, porém, não foram obtidos resultados, devido ao disco de micélio ter ressecado, por causa da alta temperatura no ambiente.

As plantas de crambe inoculadas apresentaram lesões nas hastes, as quais atingiram as hastes por completo. Salienta-se a velocidade com que as lesões progrediam no tecido da planta, proporcionando AACPD para lesão significativamente muito superior comparada à soja. Foi observado, nas plantas de crambe, que a lesão acima do local inoculado foi consideravelmente maior comparado ao crescimento verificado abaixo do ponto de inoculação (Figura 5). Essa observação sugere que a translocação do ácido oxálico, produzido pelo patógeno, seria no sentido ascendente, juntamente com o fluxo de água na planta. Este ácido fornece um pH ótimo para a ação de enzimas, as quais vão degradar a parede celular da planta, permitindo a penetração e desenvolvimento do patógeno (GIRARD et al., 2004).

Com a expansão da lesão, observou-se o avanço da doença sobre os tecidos afetados, resultando na morte das plantas de crambe. Com a sequência do processo infeccioso, têm-se a morte da célula do hospedeiro e este processo é então desviado para as necessidades nutricionais do fungo, que por ser necrotrófico, alimenta-se de tecido vegetal morto (DICKMAN, 2007). Posteriormente à extração dos compostos essenciais, inicia-se o desenvolvimento dos escleródios.



FIGURA 5. Planta de crambe com crescimento da lesão maior acima do ponto de inoculação comparado ao crescimento abaixo deste.

Não foi avaliada a quantidade de escleródios produzidos em soja, uma vez que as plantas não morreram devido à doença e apresentavam lesões pouco extensas em suas hastes. Em crambe, foi possível observar e coletar os escleródios produzidos no caule, mostrando diferença significativa entre os materiais testados (Figura 6).

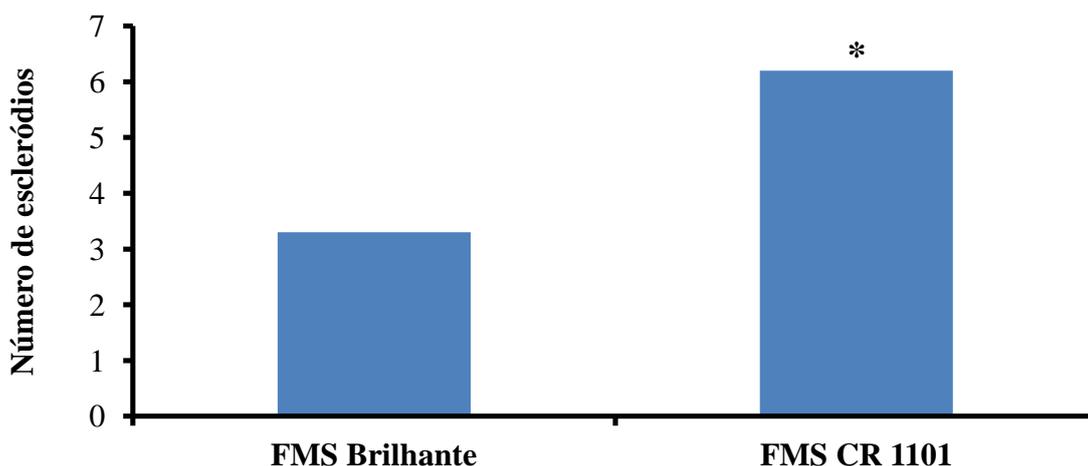


FIGURA 6. Número de escleródios produzidos por *S. sclerotiorum*, no interior do caule dos genótipos de crambe, pelo método do palito, Dourados/MS, 2014. * Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Com relação à linhagem de crambe FMSCR 1101, houve maior quantidade de escleródios produzidos, o que significa uma maior quantidade de inóculo deixado no solo para a próxima cultura. Consequentemente, o peso dos escleródios foi maior para a linhagem FMSCR 1101 (Figura 7).

Em trabalhos conduzidos por Vuong et al. (2004), houve diferenças significativas na formação de escleródios dentro do caule da cultivar de soja Williams 82 (padrão de suscetibilidade), com 4,5 escleródios por planta, e NKS 19-90 (padrão de resistência), com 1,2 escleródios por planta. Juliatti et al. (2014), dentre outras avaliações, observaram diferença significativa quanto ao número de escleródios produzidos entre as cultivares de soja avaliadas pela utilização do método de inoculação do disco de micélio, com e sem fermento.

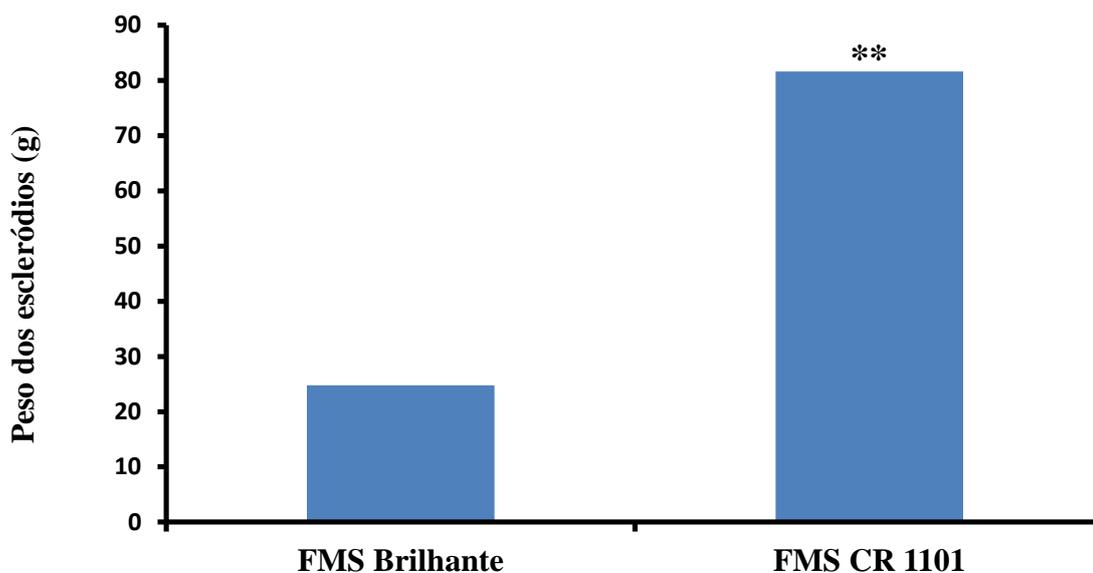


FIGURA 7. Peso dos escleródios (gramas) produzidos por *S. sclerotiorum*, no interior do caule dos genótipos de crambe, pelo método do palito, Dourados, MS, 2014. ** Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade.

Não foi possível obter resultados no método do disco de micélio em folha destacada para a cultura do crambe, devido ao estágio avançado de desenvolvimento da cultura, contavam-se apenas com algumas folhas em tamanho pequeno e desta forma as notas das observações eram muito maiores quando comparadas as cultivares de soja. Wegulo et al. (1998) sugerem pontos importantes para garantir a consistência do método da folha destacada, como: uniformidade do tamanho da folha, localização do inóculo na folha e umidade adequada durante a inoculação.

Não houve diferença significativa para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para lesão em soja pelo método do disco de micélio em folha destacada, mostrando assim, que os genótipos estudados não diferiram com relação à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum*. Garcia e Juliatti (2012), avaliando a resistência da soja a *S. sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo, verificaram que o método do disco de micélio em folhas destacadas identifica as variações na reação de diferentes genótipos ao patógeno, porém a utilização desse método, isoladamente, não é recomendado devido à reação diferenciada que uma mesma cultivar apresentou quando inoculada pelo método do disco de micélio em folha destacada e quando a inoculação ocorreu sobre folhas na planta, devido à interrupção dos mecanismos de defesa da planta quando a folha é destacada.

Wegulo et al. (1998) avaliaram a resposta de doze cultivares de soja a *S. sclerotiorum* a campo e em ambiente controlado, utilizando diversos métodos de inoculação como: inoculação com discos de micélio em folhas destacadas, além de inoculação em folhas e hastes à campo e a resposta ao ácido oxálico. Os autores observaram que a inoculação de folhas destacadas e a exposição ao ácido oxálico apresentaram uma boa correlação com resultados de campo.

As médias dos resultados obtidos pela avaliação no método do disco de micélio em folha destacada não diferiram significativamente entre si tanto para quantidade de escleródios produzidos, como número de horas para produção dos mesmos nas cultivares de soja. Isso mostra que os genótipos estudados produzem a mesma quantidade de inóculo, pois são os escleródios que permanecem no solo, tornando-se fonte de inóculo primário para a cultura seguinte. Deste modo, uma cultivar que possibilitasse a produção de fungo com menor número de escleródios produzidos, seria interessante no manejo da doença.

Juliatti et al. (2014), avaliando métodos de inoculação e da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*, mostraram diferença significativa no número de escleródios produzidos por genótipos de soja.

4.2. Reação de genótipos de crambe à *S. sclerotiorum*

As plantas de crambe inoculadas pelos métodos do palito e do disco de micélio em folha destacada apresentaram sintomas típicos da doença causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, como lesão nas hastes e micélio branco visíveis em algumas folhas. Com relação à severidade máxima (Sev. Max.) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), pode-se observar que não houve diferença significativa entre os genótipos em ambos os métodos de inoculação utilizados (Tabela 2).

Pelo método do palito, observou-se a rápida formação das lesões nas hastes, sendo constatado que todas as plantas mostraram-se doentes no terceiro dia após a inoculação. Com a expansão da lesão, ocorreu o avanço da doença sobre os tecidos afetados, resultando na morte das plantas.

TABELA 2. Severidade máxima (Sev. máx.) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para dois métodos de inoculação (palito e disco de micélio em folha destacada) de *Sclerotinia sclerotiorum*, em quatro genótipos de crambe

Genótipos	Métodos de inoculação		
	Palito		Folha destacada
	Sev. máx.	AACPD	AACPD
Galáctica	47,2 a*	400,15 a	828,32 a
Mario	35,6 a	372,35 a	803,16 a
FMSCR 1101	45,7 a	388,70 a	786,50 a
FMS Brilhante	40,3 a	392,85 a	823,25 a
CV (%)	25,23	16,89	6,35

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ($p>0,05$). Dados médios de cinco repetições. CV = coeficiente de variação.

Yang et al. (2007) relataram o aparecimento de lesões necróticas em inoculação de folhas de canola após 12 horas, enquanto que em inoculação de hastes seja pelo método de pecíolo ou discos de micélio, tem-se verificado início dos sintomas em torno de 2 a 3 dias após a inoculação na cultura da soja (WEGULO et al., 1998), níger (BRADLEY et al., 2003) e canola (ZHAO et al., 2004).

Com relação ao método do disco de micélio em folha destacada, os sintomas também foram observados no terceiro dia após a inoculação. Algumas folhas não apresentaram nenhum sintoma típico da doença até o final das avaliações, enquanto que outras, tiveram sua área foliar completamente afetada pela doença de um dia para o outro.

Garcia e Juliatti (2012) avaliaram a resistência da soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo, observaram comportamento variado quanto à reação ao fungo e ao método de inoculação utilizado. As cultivares que foram resistentes e moderadamente resistentes pelo método do disco de micélio em folha destacada, não comportaram-se da mesma forma quando a inoculação ocorreu sobre folhas na planta. Desta forma, eles concluíram que apenas o uso do método do disco de micélio em folhas destacadas não é indicado para avaliação de resistência de soja a *S. sclerotiorum*.

Apesar do nível de repetibilidade relatado no estudo para o ensaio das folhas destacadas, o método parece ser útil na avaliação de cultivares de soja quanto à resistência a *S. sclerotiorum* e para assegurar a coerência do estudo três fatores podem ser considerados, tais como: umidade e tamanho da folha, colocação do inóculo sobre a mesma e a umidade adequada no ambiente que rodeia as folhas

inoculadas. Trata-se de um método que proporciona economia de tempo para avaliação de um número elevado de cultivares (WEGULO et al., 1998).

Com relação ao método de inoculação com discos de micélio nas axilas foliares, embora os genótipos tenham apresentado sintomas típicos da doença aos três dias após a inoculação, observou-se que não diferiram significativamente quanto à severidade máxima (Sev. Max.) e severidade aos 13 dias após a inoculação (Sev. 13 DAI). A velocidade com que as lesões progrediam no tecido das plantas proporcionou uma área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) com diferença significativa entre os genótipos Mario e FMS Brilhante. Sendo assim, pode-se dizer que o genótipo Mário apresenta uma maior resistência ao patógeno, com relação ao genótipo FMS Brilhante (Tabela 3).

TABELA 3. Severidade máxima (Sev. máx.), severidade aos 13 dias após a inoculação (Sev. 13 DAI) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o método de inoculação nas axilas foliares com disco de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum*, em quatro genótipos de crambe

Genótipos	Sev. máx.	Sev. 13 DAI	AACPD
Galáctica	39,4 a*	24,6 a	355,20 ab
Mario	31,5 a	21,8 a	338,50 b
FMSCR 1101	43,4 a	22,6 a	395,63 ab
FMS Brilhante	41,7 a	25,3 a	446,35 a
CV (%)	32,88	17,44	14,14

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ($p>0,05$). Dados médios de cinco repetições. CV = coeficiente de variação.

Utilizando métodos de inoculação (disco de micélio em folha destacada, plantas em vasos com e sem ferimento nas hastes), para avaliação de resistência a *S. sclerotiorum* em genótipos de soja, Juliatti et al. (2014) concluíram que o método de inoculação realizado com ferimento no terço médio das plantas, que se encontravam no final do florescimento e início de enchimento dos grãos, inoculadas com discos de BDA, mostrou melhor resultado na avaliação à resistência de genótipos de soja ao patógeno.

Estudos realizados por Bradley et al. (2006) mostraram que a técnica de inoculação do pecíolo pode ser um método para comparar os níveis de resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* entre as cultivares de canola, sob condições controladas.

Zhao et al. (2004) também demonstraram a efetividade do método para a mesma cultura.

Rahmanpour et al. (2011) observaram a reação de espécies Brassicas à *S. sclerotiorum*, utilizando técnicas de inoculação, entre elas a do disco de micélio em folhas na planta com e sem ferimento, sendo que as folhas inoculadas mostraram sintomas de necrose e lesões de coloração acinzentada 60 horas após a inoculação. Houve diferenças significativas no tamanho da lesão entre os genótipos, sendo que as lesões em folhas feridas foram maiores que nas folhas não feridas. Com base no tamanho do diâmetro da lesão, alguns genótipos de canola foram considerados suscetíveis, enquanto que os de mostarda resistentes. Os resultados revelaram que os efeitos de genótipo e ferimento foram significativos sobre a taxa de expansão da lesão, porém não houve interação significativa entre genótipo e ferimento, pois se comportaram da mesma forma.

Neste trabalho, utilizando a inoculação com disco de micélio em axila foliar sem ferimento, os sintomas foram observados três dias após a inoculação e para genótipos de crambe foi o único dos métodos utilizados no experimento, que detectou diferença entre os genótipos avaliados.

4.3. Transmissão de *S. sclerotiorum* via sementes

A presença do fungo *S. sclerotiorum* nas sementes de crambe resultou em menor emergência das plântulas. A porcentagem de emergência foi significativamente diferente nas duas avaliações, tendo a testemunha apresentado maiores médias em relação às inoculadas, no entanto, os genótipos não se diferenciaram quanto a esse critério. Não houve diferença significativa para plantas com sintomas entre os genótipos estudados para os tratamentos inoculado e testemunha, nas duas épocas avaliadas (Tabela 4). Para o genótipo FMS Brilhante, a redução da emergência com sementes inoculadas foi de 59% e do genótipo Mario foi de 79%.

TABELA 4. Plantas com sintomas e porcentagem de emergência de plantas com sintomas aos 9 e 18 dias após a emergência (DAE) de dois genótipos de crambe inoculados com *S. sclerotiorum*

Plantas com sintomas - 9 DAE			
	Mario	FMS Brilhante	Média
Inoculado	*1,4	0	0,7 a
Testemunha	0	0	0 a
Média	0,7 A	0 A	

% de emergência - 9 DAE			
	Mario	FMS Brilhante	Média
Inoculado	12,4	22,4	17,4 b
Testemunha	61,2	56	58,6 a
Média	36,8 A	39,2 A	

Plantas com sintomas - 18 DAE			
	Mario	FMS Brilhante	Média
Inoculado	8	6,7	7,35 a
Testemunha	3,34	0,58	1,96 a
Média	5,67 A	3,64 A	

% de emergência - 18 DAE			
	Mario	FMS Brilhante	Média
Inoculado	12,8	25,6	19,2 b
Testemunha	61,2	62,8	62 a
Média	37 A	44,2 A	

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%. Dados médios de cinco repetições. *Dados originais, para fins de análise estatística os dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

O resultado obtido, com relação à porcentagem de emergência, corrobora com o encontrado por Venturoso et al. (2015), que inocularam *S. sclerotiorum* em sementes de oleaginosas tais como, canola (*Brassica napus* var. *oleifera*), cártamo (*Carthamus tinctorius*), crambe (*Crambe abssynica*), girassol (*Helianthus annuus*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *oleiferus*) e níger (*Guizotia abyssinica*), destacando-se as quatro últimas, que apresentaram redução superior a 60% na emergência de plantas. Os autores observaram maior quantidade de sementes mortas na cultura do crambe, constatando-se apenas 4,4% de emergência para as sementes inoculadas.

A germinação de sementes de feijão inoculadas com *S. sclerotiorum* reduziu conforme aumentou o tempo de exposição ao patógeno de 36, 72 e 96 horas em temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12 horas (BOTELHO et al., 2013). No presente trabalho, foi observado comportamento semelhante aos estudados pelos autores, porém com tempo de exposição de 20 horas. Mueller et al. (1999) observaram que a maioria das sementes de soja infectadas com o fungo nem chegaram a germinar. Machado et al. (2001) enfatizaram que o fungo localiza-se internamente nas sementes, uma vez que em mais de 90% das sementes desinfestadas com hipoclorito detectou-se a presença do fungo. Este fato demonstra a maior dificuldade e importância no controle do patógeno, quando associado às sementes.

No teste para verificação da transmissão do patógeno em sementes mortas, plântulas com sintomas e aparentemente saudáveis, foram incubadas em meio Neon.

Nesse método, a presença de *S. sclerotiorum* é caracterizada pela formação de halo com coloração amarela no meio de cultura, que ocorre na presença de substâncias ácidas (ácido oxálico) liberadas pelo fungo durante seu crescimento. Porém foi detectada a presença de outros fungos que produzem o mesmo efeito no meio, levando a um resultado falso-positivo (Figura 8). No entanto, trata-se de um dos métodos recomendados pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para detecção do patógeno.

Das plantas incubadas para a confirmação da presença do patógeno acondicionadas em gerbox, apenas em uma, FMS Brilhante inoculada com *S. sclerotiorum* e sem sintoma, houve o aparecimento de três escleródios, confirmando-se a transmissão do patógeno. Venturoso et al. (2015) avaliaram a transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas, inoculando *S. sclerotiorum* em sementes de oleaginosas, e verificaram a patogenicidade do fungo associado às sementes e plântulas comprovada por meio do teste Neon, assim, o patógeno pode ser transmitido para as plântulas das culturas quando associado às suas sementes, sendo uma importante fonte de inóculo em condições favoráveis ao patógeno, além de reduzir a porcentagem e velocidade de emergência das culturas.

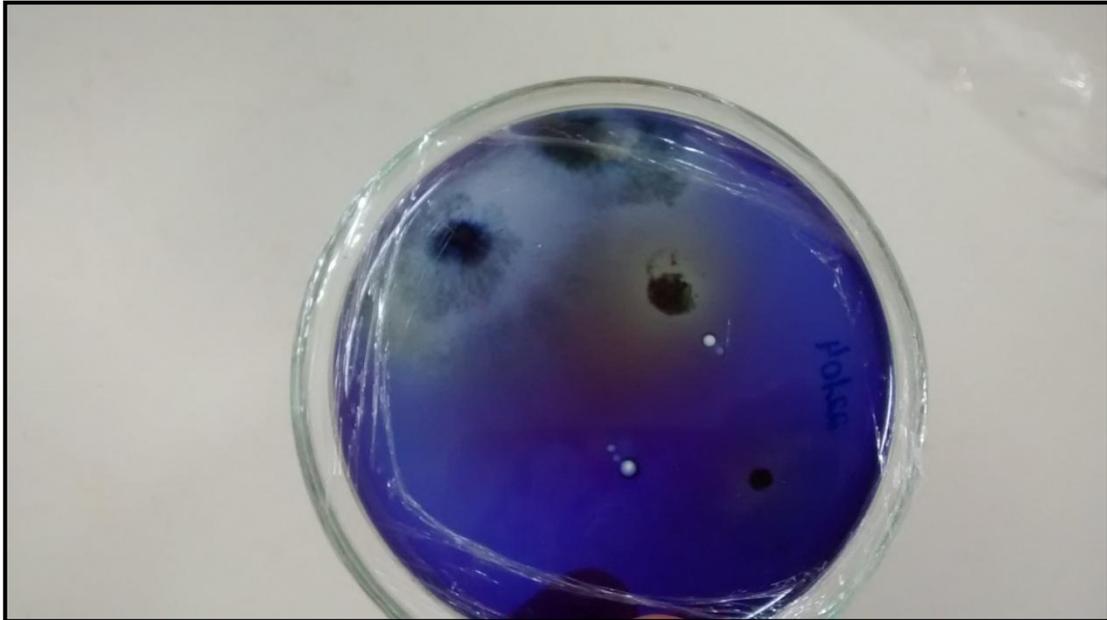


FIGURA 8. Placa contendo sementes de crambe em meio Neon S apresentando halo amarelado formado pela presença de fungo com características distintas de *S. sclerotiorum* (falso-positivo).

Há relatos de produção de escleródios no solo a partir de sementes de feijão (TU, 1988) e soja (YANG et al., 1998). Mueller et al. (1999) verificaram, por duas safras consecutivas 1997/1998, a produção de escleródios e apotécios de *S. sclerotiorum* a partir de sementes de soja infectadas e seu controle por meio de tratamento de sementes com fungicidas. Foi observada a campo, formação de 754 escleródios e produzidos 10 apotécios a partir de 1.000 sementes infectadas durante o período de dois anos.

É relevante o estudo da transmissibilidade, por sementes, da doença mofo branco, uma vez que a detecção do patógeno em uma semente é considerada um grande potencial de inóculo (STEADMAN, 1983; MUELLER et al., 1999), desta forma o fungo pode ser introduzido em áreas indenas por meio das sementes infectadas.

CONCLUSÕES

Houve uma maior formação de escleródios do fungo sobre a linhagem de crambe FMSCR 1101.

Pelo método de inoculação com disco de micélio nas axilas foliares, houve maior progresso da lesão para FMS Brilhante, comparado ao genótipo Mario

Confirmou-se a transmissibilidade de *S. sclerotiorum* associada às sementes de crambe

Há efeito direto da *S. sclerotiorum* na porcentagem de emergência das plântulas.

O método de inoculação com disco de micélio nas axilas foliares permite a melhor avaliação da resistência de genótipos de crambe à *S. sclerotiorum*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ABDULLAH, M. T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 27, n. 10, p. 1354-1359, 2008.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005.
- 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. 110-114, 2012.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 37, p. 333-349.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, 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.
- BOTELHO, L. S.; ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; BARROCAS, E. N. Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 153-160, 2013.
- BRADLEY, C. A.; DEL RÍO, L. E.; JOHNSON, B. L. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* on niger (*Guizotia abyssinica*). **Plant Disease**, v. 87, n. 5, p. 602, 2003.
- BRADLEY, C. A.; HENSON, R. A.; PORTER, P. M.; LE GARE, D. G.; DEL RÍO, L. E.; KHOT, S. D. Response of canola cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum* in controlled and field environments. **Plant Disease**, v. 90, n. 2, p. 215-219, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Manual de análise sanitária de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF:MAPA/ACS, 2009. 200p.
- CARDOSO, E. J. B. N. Doenças da soja – *Glycine max* (L.) Merrill. In: CARDOSO, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C. Doenças de Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.

- CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.
- CARLSSON, A. S. Plant oils as feedstock alternatives to petroleum – A short survey of potencial oil crop platforms. **Biochimie**, v. 91, p. 665-670, 2009.
- CARLSSON, A. S.; CLAYTON, D.; SALENTIJIN, E. TOONEN, M. **Oil crop plataforms for industrial uses**. Out puts from the EPOBIO project. CpIpress. 2007.
- CARNEIRO, S. M. T. G.; ROMANO, E.; MARIANOWSKI, T.; OLIVEIRA, J. P.; GARBIM, T. H. S.; ARAÚJO, P. M. Ocorrência de *Alternaria brassicicola* em crambe (*Crambe abyssinica*) no estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**. v. 35. n. 2. p. 154. Jun. 2009.
- CARREGAL, L. H.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C. **Saiba mais sobre Mofo Branco**. 2005. Disponível em: <<http://www.ihara.com.br/index/ezsite.asp?ID=2065>> Acesso em: março 2015.
- CESSNA, S. G.; SEARS, V. E.; DICKMAN M. B.; LOW, P. S. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. **Sci Signal**, vol. 12, n. 11, p. 2191, 2000.
- COELHO, G. F.; GONÇALVES JR. A. C.; MENEGHEL, A. P.; NACKE, H.; GOMES, G. D.; SCHWANTES, D. Remoção de chumbo em águas por meio de adsorção em torta de crambe (*Crambe abyssinica*). In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Resumos**. 2011.
- COLODETTI, T. V.; MARTINS, L. D.; RODRIGUES, W. N.; BRINATE, S. V. B.; TOMAZ, M. A. Crambe: aspectos gerais da produção agrícola. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**. v. 8, n.14, p. 258, 2012.
- CORRER, C. J. Podridão radicular causada por *Rhizoctonia solani* em crambe. In: XVI SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E I MOSTRA DE TRABALHOS DA PÓS- GRADUAÇÃO, 2008. **Anais...** Disponível em: <http://www.unifil.br/docs/simposio/XVI/Ciencias_Biologicas.pdf>. Acesso em: 26 mai. 2010.
- COTTON, P.; KASZA, Z.; BRUEL, C.; RASCLE, C.; FÈVRE, M. Ambient pH controls the expression of endopolygalacturonase genes in the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 227, n. 2, p. 163-169, 2003.
- DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. Antracnose. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Uepg, 2010. p. 49-56.
- DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook: biology, production processing and storage**. New York: Marcel Dekker, 1997. 627 p.
- DESAI, B. B. **Seeds handbook: biology production processing and storage**; New York: Marcel Dekker, 2 ed, 2004, p. 787.

DICKMAN, M. B. Approaches for improvement crop to soil-borne fungal diseases through biotechnology using *Sclerotinia sclerotiorum* as a case study. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, n. 2, p. 116-123, 2007.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**, 1, London Academic Press, 1980.

DUKE, J.; **Handbook of energy crops**; IENICA, 2002; Disponível em: <http://www.ienica.netcropsdatabase.htm> Acessado em março 2015.

FALASCA, S. L.; FLORES, N.; LAMA, M. C.; CARBALLO, S. M.; ANSCHAU, A.; Crambe abyssinica: An almost unknown crop with a promissory future to produce biodiesel in Argentina. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 11, p. 5808-5812, 2010.

FERRAR, P. H.; WALKER, J. R. L. O-diphenol oxidase inhibition-na additional role for oxalic acid in the phytopathogenic arsenal of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia rolfii*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 43, n. 6, p. 415-422, 1993.

FERREIRA, L. P.; LEHMAN, P. S.; ALMEIDA, A. M. R. **Doenças da soja no Brasil**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1979. 42p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 1)

FONTANA, J. A.; CAPELETTI, J. L.; KALSING, M. S.; MAZARO, S. M.; GOUVEA, A.; MARI, L. F.; TARTARI, L. D.; LINK, L.; CAMINI, N. A.; ZANOTTI, J.; PAZINATTO, H.; RAMOS FILHO, J. B.; DONAZZOLO, J. Manejo de doenças na cultura da soja no sudoeste do Paraná na safra 2005/2006. **Synergismus scyentifica**, v. 1, n. 1/4, p. 150-155, 2006.

GARCIA, R.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição à inóculo. **Tropical Plant Phatology**, v. 37, n. 3, p. 196-203, 2012.

GARG, H.; LI, H.; SIVASITHAMPARAM, K.; KUO, J.; BARBETTI, M. J. The infection processes of *Sclerotinia sclerotiorum* in cotyledon tissue of a resistant and a susceptible genotype of *Brassica napus*. **Annals of Botany**, v. 106, n. 6, p. 897-908, 2010.

GIRARD, V.; FÈVRE, M.; BRUEL, C. Involvement of cyclic AMP in the production of the acid protease Acpl by *Sclerotinia sclerotiorum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 237, n. 2, p. 227-233, 2004.

GLASER, L. K. **Crambe: An economic assessment of feasibility of providing multiple-peril crop insurance**. Economic Research Service of the Risk Management Agency. Federal Crop Insurance Corporation. 1996. Disponível em: <http://www.rma.usda.gov/pilots/feasible/pdf/crambe.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2014.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma*

harzianum em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

GRABICOSKI, E. M.; JACCOUD-FILHO, D. S.; HENNEBERG, L.; VRISMAN, C. M.; MANOSSO NETO, M. O. Potencial inibitório de extratos de plantas para *Sclerotinia sclerotiorum*. In: XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA/ XLIII ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN PHYTHOPATHOLOGICAL SOCIETY, 23, 2010, Cuiabá. **Fitopatologia Brasileira**, v. 35, supl., p. 28, 2010.

GUIMARÃES, R. L.; STOTZ, H. U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Physiology**, v. 136, n. 3, p. 3703-3711, 2004.

HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4th ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1999.

HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JACCOUD-FILHO, D. S.; PANOBIANCO, M. Efficiency of methods to detect *Sclerotinia sclerotiorum* in commercial soybean seed lots. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 61-69, 2012.

JACCOUD FILHO, D. S.; MANOSSO NETO, M. O.; VRISMAN, C. M.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; BERGER NETO, A.; SARTORI, F. F.; DEMARCH, V. B. e ROCHA, C. H. Análise, Distribuição e Quantificação do “Mofo Branco” em Diferentes Regiões Produtoras do Estado do Paraná: XXXI REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 16, 2010, Brasília. **Resumos**: Brasília: EMBRAPA-SOJA, p. 226-228, 2010.

JULIATTI, F. C.; CRATO, F. F.; JULIATTI, F. C.; COUTO, K. R.; JULIATTI, B. C. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 676-680, 2013.

JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C. A. **Podridão Branca da haste de soja**: manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção. Uberlândia: Composer, 33p., 2010.

JULIATTI, F. C.; SAGATA, E.; JACCOUD FILHO, D. de S.; JULIATTI, B. C. M. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biosci. J.**, v. 30, n. 4, p. 958-968, 2014.

JÚNIOR, M. L.; ABREU, M. S. Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em diferentes temperaturas e pH. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 521-526, 2000.

KIMATI, Y.; BERGAMIN FILHO, A. Princípios Gerais de Controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.;

CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 2005, v.2.

LAZZERI, L.; MATTEI, F.; BUCELLI, F.; PALMIERI, S. Crambe oil - a potential new hydraulic oil and quenchant. **Industrial Lubrication and Tribology**, v. 49, n. 2, p.71 – 77, 1997.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005, p.1-3(Comunicado Técnico, 76).

LEONARD, E.C. High-erucic vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, v. 1, n. 2-4, p.119-12, 1993.

LI, X.; AHLMAN, A.; LINDGREN, H.; ZHY, L. H. Highly efficient *in vitro* regeneration of the industrial oilseed crop *Crambe abyssinica*. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 170-175, 2011.

LINDNER, G.; GONÇALVES JR., A. C.; COELHO, G. F.; RUBIO, F.; YOSHIHARA, M. M.; NACKE, H. Utilização da torta de crambe (*Crambe abyssinica*) como adsorvente de cromo de soluções aquosas. In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2011, Florianópolis. **Resumos técnicos...** São Paulo, SPQ, 2011.

LU, G. Engineering *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in oilseed crops. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 12, p. 509-516, 2003.

MACAGNAN, D.; CHAVES, Z. M.; CAFÉ- FILHO, A. C. First report of *Alternaria brassicicola* in Goiás State, Brazil. **Summa Phytopathologica**. v. 36. n. 3. p. 260. 2010.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 95-101, 2001.

MACIEL, V. A.; ARAÚJO, D. V.; DIAS, L. D. E.; SANTOS, E. P. M.; FREGONESE, T. E. Eficiência de fungicidas no controle de doenças na cultura do crambe. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 10, n. 8, p. 1451, 2014.

MANOSSO NETO, M. O.; JACCOUD-FILHO, D. S.; VRISMAN, C. M.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. Efeito de diferentes épocas de semeadura da cultura da soja e sua relação com a incidência do Mofo-Branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA/ XLIII ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN PHYTHOPATHOLOGICAL SOCIETY , 23, 2010, Cuiabá. **Fitopatologia Brasileira**, v.35, supl., p. 28, 2010.

- MARCIANO, P.; LENNA, P. D.; MAGRO, P. Oxalic acid, cell wall-degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. **Physiological Plant Pathology**, v. 22, n. 3, p. 339-345, 1983.
- MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Edt.). **Manual de Fitopatologia**. Vol.2. Doenças de plantas cultivadas. São Paulo. Agronômica Ceres. 2005. p. 285- 292.
- MASSOURA E, VEREIJKEN JM, KOLSTER P, DERKSEN JTP - Proteins from *Crambe abyssinica* oilseed. 11. Biochemical and functional properties. **J Am Oil Chem Soc**. 1998.
- MASTEBROEK, H. D.; WALLENBURG, S. C.; VAN SOEST, L. J. M. Variation for agronomic characteristics in *Crambe* (*Crambe abyssinica* Hochst). **Industrial Crops and Products**. v. 2, n. 2, p. 129-136, 1994.
- MEIJER, W. J. M.; MATHIJSEN, E. W.J.M.; KREUZER, A. D. Low pod numbers and inefficient use of radiation are major constraints to high productivity in *Crambe* crops. **Industrial Crops and Products**. v. 19. n. 3, p. 221- 233, 1999.
- MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A. F.; CASTRO, B. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1998. 569p.
- MOERS, E. M. **Ocorrência de doenças na cultura do crambe (*Crambe abyssinica*) cultivado na região oeste do paraná e efeito de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na produção da cultura**. 2012. 76 f. Dissertação (Pós-Graduação em Energia na Agricultura) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel-PR.
- MUELLER, D.S.; HARTMAN, G. L.; PEDERSEN, W. L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**, v. 83, n. 12, p. 1113-1115, 1999.
- NAPOLEÃO, R.; NASSER, L. C. B.; LOPES, C. A.; CAFÉ FILHO, A. C. Neon-S, um novo meio de detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 2, p. 180-182, 2006.
- NASSER, L. C. B.; NAPOLEÃO, R.; CARVAJAL, R. A. Mofa branco: cuidado com a semente. **Revista Cultivar: Grandes Culturas**, n. 4, p. 1-2, 1999.
- OLIVA, A. C. E. **Qualidade das sementes de crambe a métodos de secagem e períodos de armazenamento**. Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agrônomicas. Botucatu. 2010.
- OLIVEIRA, V. F.; FRANCA, A. S. Estudo do equilíbrio de adsorção da torta prensada de crambe (*Crambe abyssinica*) em sua aplicação como biosorvente em soluções aquosas de corante. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE

ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 30 de julho de 2009, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: UFV, 2009. 1 CD-ROM.

OPLINGER, E. S.; OELKE, E. A.; DOLL, J. D.; BUNDY, L. G.; SCHULER, R. T.. **Alternative Field Crops Manual: Crambe**. 1991. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acesso em: março de 2015.

OPLINGER, E.S.; OELKE, E.A.; KAMINSKI, A. R.; PUTNAM, D. H.; TEYNOR, T. M.; DOLL, J. D.; KELLING, K. A.; DURGAN, B. R.; NOETZEL, D. M. **Crambe: alternative field crops manual**. St. Paul: University of Wisconsin and University of Minnesota, 2000. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acesso em: 19 de abril de 2012.

PAPATHANASIOU, G. A.; LESSMAN, K. J.; NYQUIST, W. E. Evaluation of eleven introductions of Crambe, *Crambe abyssinica* Hochst. **Agronomy Journal**, v. 58, p. 587-589, 1996.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; ROCHA, P. R. R.; BERNARDES, A.; COSTA, E. L.; CARNEIRO, J. E. S.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. Intensidade do mofo branco em feijão em função de densidade de plantas, frequência de irrigação, cobertura vegetal do solo, *Trichoderma* spp. e fungicida. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 44-48, 2009.

PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe 2010**. Maracaju. Fundação MS. 1ª ed. 2010. 60p.

RAHMANPOUR, S.; BACKHOUSE, D.; NONHEBEL, H. M. Reaction of Brassica species to *Sclerotinia sclerotiorum* applying inoculation techniques under controlled conditions. **Crop Breeding Journal**, v. 1, n. 2, p. 143-149, 2011.

REIMONDE, G.; CASTAÑO, F. Susceptibility Fo sunflower hybrids (*Helianthus annuus*) to mid stem rot and broken stem caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Ciência e Investigación Agraria**, v. 35, n. 1, p. 27-35, 2008.

REMUSKA, A.C.; DALLA PRIA, M. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. Publ. UEPG **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 13, n. 3, p. 31-36, 2007.

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

RUBIO, F.; GONÇALVES JR., A. C.; DRAGUNSKI, D. C.; COELHO, G. F.; MENEGHEL, A. P.; GOMES, G. D.; WACHHOLZ, L. Adsorção de cádmio em águas contaminadas utilizando torta de crambe (*Crambe abyssinica*) como adsorvente de cromo de soluções aquosas. In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Resumos técnicos...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2011.

RUDOLFF, E.; WANG, Y. Crambe. In: KOLE, C. (Edt.) **Wild crop relatives: Genomic and Breeding Resources Oilseed**. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=zWp--MP3hAC&pg=PA111&lpg=PA111&dq=grain+and+oil+yields+of+crambe+abyssinica&source=bl&ots=8nIr029yFc&sig=Znc3HumL-1UO0hP0WN3WtvJt32Y&hl=pt-18BR&sa=X&ei=5OsKT8CyEMW_gQfe-5SpDg&ved=0CG4Q6AEwCQ#v=onepage&q=grain%20and%20oil%20yields%20of%20crambe%20abyssinica&f=false>. Acesso em: janeiro 2012.

SAHARA, G. S., MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. LXII. Springer,: Verlag GmbH, Heidelberg, 2008. 486p.

SCHWARTZ, H. F.; HARVESON, R. M.; STEADMAN, J. R. **White mold of dry beans**. Published by University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, 2012. Disponível em:<<http://www.ext.colostate.edu/pubs/crops/02918.pdf>>. Acesso em: março de 2015.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SILVEIRA, R. M; LUDTKE, A. N.; BOLZAN, J.; JOBIM, L. **Crambe: uma alternativa em Cachoeira do Sul**. 1º Salão de Iniciação científica da UERGS. 2009. Porto Alegre.

STEADMAN, J. R. White mold – a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, v. 67, n. 3, p. 346-350, 1983.

TELES, H.F.; PIRES, L. L.; CUNHA, M. G.; SANTOS, F. P.; NETO, F. A. Incidence of *Sclerotinia sclerotiorum* and the physical and physiological quality of soybean seeds based on processing stages. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 4, p. 409-418, 2013.

TRZECIAK, M. B.; NEVES, M. B. das; VINHOLES, P. S.; VILLELA, F. A. Utilização de sementes de espécies oleaginosas para produção de biodiesel. **Informativo ABRATES**, v. 18, n. 1, 2, 3, p. 30-38, 2008.

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

VARGAS-LOPEZ, J. M.; WIESENBORN, D.; TOSTENSON, K.; CIHACEK, L. Processing of Crambe oil and isolation of erucic acid. **J Am Oil Chem Soc (JAOCs)**, v. 76, n. 7, p. 801-809, 1999.

VENTUROSOS, R. V.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; VENTUROSOS, L. A. C.; PONTIM, B. C. A.; REIS, G. F. Inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de oleaginosas: transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas. **Ciência Rural**, v. 45, n. 5, p. 788-793, 2015.

- VIEIRA, R. F., PAULA JÚNIOR, T. J., PERES, A. P.; MACHADO, J. C. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 770-773, 2001.
- VRISMAN, C. M.; JACCOUD-FILHO, D. S.; MANOSSO NETO, M. O.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. Avaliação da eficácia de fungicidas e *Trichoderma* no controle do “Mofo Branco” (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA/ XLIII ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN PHYTHOPATHOLOGICAL SOCIETY , 23, 2010, Cuiaba. **Fitopatologia Brasileira**, v. 35, supl., p. 63, 2010.
- VUONG , T. D., HOFFMAN, D. D., DIERS, B. W., MILLER, J. F., STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of Soybean, Dry Bean, and Sunflower for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Crop Science**, v. 44, n. 3, p. 777–783, 2004.
- WANG, Y. P.; TANG, J. S.; CHU, C. Q.; TIAN, J. A preliminary study on the introduction and cultivation of *Crambe abyssinica* in China, an oil plant for industrial uses. **Industrial Crops and Products**, v. 12, n. 1, p. 47-52, 2000.
- WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval.** 1992. Disponível em: < <http://delta-intkey.com/angio/www/crucifer.htm>>. Acesso: março de 2015.
- WEGULO, S. N., YANG, X. B., MARTINSON, C. A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies. **Plant Disease**, v. 82, n. 11, p. 1264-1270, 1998.
- WORKNEH, F.; YANG, X. B.. Prevalence of *Sclerotinia* stem rot of soybeans in thenorth-central United States in relation to tillage, climate, and latitudinal positions. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1375-1382, 2000.
- YANG, X. B.; WORKENEH, F.; LUNDEEN, P. First report of sclerotium production by *Sclerotinia sclerotiorum* in soil on infected soybean seeds. **Plant Disease**, v. 82, n. 2, p. 264, 1998.
- YANG, B.; SRIVASTAVA, S.; DEYHOLOS, M. K.; KAV, N. N. V. Transcriptional profiling of canola (*Brassica napus* L.) responses to the fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Science**, v. 173, n. 2, p.156-171, 2007.
- ZHAO, J.; PELTIER, A. J.; MENG, J.; OSBORN, T. C.; GRAU, C. R. Evaluation of *Sclerotinia* stem rot resistance in oilseed *Brassica napus* using a petiole inoculation technique under greenhouse conditions. **Plant Disease**, v. 88, n. 9, p. 1033-1039, 2004.
- ZIMMERMANN, H. G. Une nouvelle plante oléagineuse de printemps *Crambe abyssinica* Hochst. **Oléagineux**, v.17, n. 6, p. 527-530, 1962.