LUISA BASTOS DOMINGOS

INDUTORES DE GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS E USO DE FUNGICIDAS NO MANEJO DE *Sclerotium cepivorum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA – MINAS GERAIS
2015

LUISA BASTOS DOMINGOS

INDUTORES DE GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS E USO DE FUNGICIDAS NO MANEJO DE *Sclerotium cepivorum*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Data de Aprovação:

Profª. Liliane Evangelista Visôtto
(Coorientador)

Prof. Pedro Ivo Vieira Good God
(Coorientador)

Prof. Vinícius Ribeiro Faria

RIO PARANAÍBA – MINAS GERAIS
2015

A Deus,

À minha Vó Marieta,

À minha tia Maria Helena,

Aos meus familiares,

Aos meus amigos,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Everaldo Antônio Lopes pela paciência, apoio, confiança e pelos ensinamentos que me proporcionaram a realização desta pesquisa, crescimento profissional e acadêmico.

Ao meu esposo, Diego Domingos, pelo incentivo, compreensão e carinho durante estes anos de formação. Sem seu apoio esta jornada não seria possível.

Aosmeus pais pela educação e ensinamentos da vida. Aos meus sogros, pelo eterno e fraternal companheirismo. Ao meu irmão, que mesmo de longe sempre me apoiou e incentivou. E a todos os meus familiares que estiveram presentes nesta trajetória de lutas. Com muito amor agradeço.

À Associação Nacional dos Produtores de Alho (ANAPA) pela concessão do auxílio financeiro e pela oportunidade de desenvolver esta dissertação e os conhecimentos gerados.

À Cooperativa de Agronegócios do Cerrado Brasileiro (COOPACER) pela disponibilização dos horários para desenvolver este trabalho e aos companheiros de serviço, pelas trocas de informação e apoio desprendidos.

Aos funcionários e proprietários da Shimada Agronegócios, que permitiram com tanto apresso que parte dos experimentos pudesse ser desenvolvida a partir de dados das suas áreas.

A todos os produtores de alho do Alto Paranaíba, que direta ou indiretamente auxiliaram na finalização deste trabalho.

Aos professores do programa de Pós-graduação por todos os conhecimentos que souberam trasmitir.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba pela grata oportunidade de desenvolver esta dissertação e confiar que podemos transformar conhecimentos em resultados.

Ao amigo Pedro Henrique Caixeta pela ajuda nos diversos experimentos e pelos momentos de alegria que me proporcionou.

SUMÁRIO

RESUMO vi
ABSTRACT viii
INTRODUÇÃO GERAL 1
LITERATURA CITADA 5

CAPÍTULO I

EXTRATOS DE ALHO E DIALIL DISSULFETO COMERCIAL INDUZEM A GERMINAÇÃO DE *Sclerotium cepivorum*

1. INTRODUÇÃO 9
2. MATERIAL E MÉTODOS 10
   2.1. Locais de realização dos experimentos 10
   2.2. Obtenção dos isolados de *Sclerotium cepivorum* 11
   2.3. Preparo dos extratos de alho. 11
   2.4. Efeito de extratos de alho sobre a germinação e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* 11
   2.5. Viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados a partir de extratos de alho 12
   2.6. Eficiência da percolação de Dialil Dissulfeto pelo perfil do solo 12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 14
   3.1. Efeito de extratos naturais de alho sobre a germinação e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* 14
   3.2. Viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados a partir de extratos de alho. 16
   3.3. Eficiência da percolação de Dialil Dissulfeto através do perfil do solo 18
4. CONCLUSÕES 19
5. LITERATURA CITADA 20

CAPÍTULO II

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*

1. INTRODUÇÃO 26

2. MATERIAL E MÉTODOS 27
2.1. Locais de realização dos experimentos 27
2.2. Obtenção dos isolados de *Sclerotium cepivorum* 27
2.3. Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* 27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 30
3.1. Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* 30
4. CONCLUSÃO 33
5. LITERATURA CITADA 33
6. CONCLUSÕES GERAIS 36

RESUMO

DOMINGOS, Luisa Bastos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Setembro de 2015. **Indutores de germinação de escleródios e uso de fungicidas no manejo de *Sclerotium cepivorum***. Orientador: Everaldo Antônio Lopes. Co-orientadores: Liliane Evangelista Visôtto e Pedro Ivo Vieira Good God.

A podridão branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum*, é uma das principais doenças, que ocorre em todo o mundo, que pode causar graves perdas nos cultivos de alho (*Allium sativum* L.) e cebola (*Allium cepa* L.). Escleródios de *S. cepivorum* são capazes de sobreviver por até 30 anos no campo. A gama de hospedeiros do fungo compreende plantas do gênero *Allium* e a germinação dos escleródios é induzida pela presença de exsudatos *Allium*, especialmente em solos úmidos e sob condições de temperatura entre 13 – 18 ° C. A erradicação do patógeno de áreas infestadas é muito difícil e a densidade de escleródios viáveis deve ser reduzida por meio de estratégias diferentes, tais como indutores de germinação e fungicidas. A aplicação de extratos de alho em campos de pousio pode induzir escleródios a germinarem e diminuir o número de estruturas de sobrevivência viáveis. Fungicidas podem inibir a germinação de escleródios e crescimento micelial. Assim, o efeito do extrato de alho e dialil dissulfeto (DADS) sobre a germinação de esclerócios de *S. cepivorum* e o potencial de fungicida sobre a inibição do crescimento micelial foi avaliado neste trabalho. Extrato aquoso e etanólico de alho preparados em laboratório (20 % m:v), as águas residuais de agroindústria de alho e extrato aquoso produzido por Shimada Agronegócios (20 %, m:m) foram utilizados como indutores de germinação aos 17 e 27 °C em laboratório. Além disso, o efeito de DADS em estimular a germinação de escleródios foi avaliada usando tubos plásticos com solo e contendo escleródios enterrados a 10, 20 e 30 cm de profundidade. Todos os extratos de alho induziram a germinação dos escleródios, independentemente da temperatura avaliada. DADS induziu a germinação de escleródios de 10 a 30 cm de profundidade, embora o efeito tenha sido maior sobre escleródios localizados a 10 cm. Em outro experimento, o fungicidas tebuconazol + trifloxystrobina, trifloxistrobina + protioconazol, tebuconazol, triadimenol, tiofanato metílico e fluazinam foram adicionados a meio batata dextrose agar (BDA) + extrato aquoso de alho (20 % m:m) em volumes equivalentes a 200 e 20.000 L/ha. Discos de micélio de 5 mm de diâmetro de *S. cepivorum* foram removidos da borda de culturas do fungo com 15 dias de idade em BDA e colocadas no centro de placas de Petri contendo

BDA + extrato de alho, com ou sem fungicidas. O fungo foi incubado a 17 ± 2 ºC por 30 dias, quando o crescimento mycelial foi avaliado. Todos fungicidas reduziram o crescimento do fungo em mais de 90 %. Os fungicidas triadimenol e fluazinam inibiram completamente o crescimento de *S. cepivorum*, independemente do volume da solução fungicida. A eficácia de tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina foi reduzida quando o volume da solução foi aumentada de 200 para 20.000 L. Extratos de alho, residuo de agroindústria de alho e DADS induzem a germinação de escleródios de *S. cepivorum*. Triadimenol, fluazinam, tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina suprimem o crescimento de *S. cepivorum* in vitro, especialmente em volume de soluçãofungicida equivalente a 200 $L.ha^{-1}$. Estudos adicionais em campo são necessários para avaliar o uso integrado de extratos de alho, DADS e os fungicidas triadimenol, fluazinam, tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina no manejo da podridão branca.

ABSTRACT

DOMINGOS, Luisa Bastos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2015. **Germination inducers of sclerotia and fungicides on the management of *Sclerotium cepivorum***. Adviser: Everaldo Antônio Lopes. Co-advisers: Liliane Evangelista Visôtto and Pedro Ivo Vieira Good God.

White rot, caused by the fungus *Sclerotium cepivorum*, is a major disease worldwide that can cause severe losses in garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.). Sclerotia of *S. cepivorum* are able to survive for up to 30 years in the field. The host range of the fungus comprises plants from the genera *Allium* and the sclerotia germination is induced by the presence of *Allium* exsudates, especially in moist soils and at 13 – 18 °C. Since eradication of the pathogen from infested areas is very difficult, the density of viable sclerotia must to be reduced by using different strategies, such as germination inducers and fungicides. The application of garlic extracts at fallow fields may induce sclerotia germination and decrease the number of viable resting propagules. Fungicides may inhibit sclerotia germination and mycelial growth. Thus, the effect of garlic extract and diallyl disulfide (DADS) on the germination of sclerotia of *S. cepivorum* and the potential of fungicides on the inhibition of mycelial growth were evaluated in this work. Aqueous and ethanolic extracts of garlic prepared in laboratory (20 % m:v), wastewater of garlic agroindustry and aqueous extract produced by Shimada Agronegócios (20 % m:m) were used as germination inducers at 17 and 27 °C in laboratory. In addition, the effect of DADS in stimulating germination of sclerotia was assessed using plastic tubes filled with soil and containing sclerotia buried at 10, 20 and 30 cm depth. All extracts stimulated sclerotia germination, regardless the temperature. DADS induced germination of sclerotia at 10 to 30 cm depth, although the effect was higher at 10 cm. In other experiment, the fungicides tebuconazole + trifloxystrobin, trifloxystrobin + protioconazole, tebuconazole, triadimenol, thiophanate methyl and fluazinam were added into potato dextrose agar (PDA) + garlic aqueous extract (20 % m:m) broth at dosages equivalent to 200 and 20.000 $L.ha^{-1}$. Mycelial discs (5 mm in diameter) of *S. cepivorum* were removed from the border of 15 day cultures in PDA cultures and placed on the center of Petri dishes with PDA+garlic aqueous extract, amended or not with fungicides. The fungus was incubated at 17 ± 2 ºC for 30 days, when the mycelial growth was assessed. All fungicides reduced the growth of the fungus by more than 90 %. The fungicides triadimenol and fluazinam inhibited

completely the growth of *S. cepivorum*, regardless the volume of the solution. The efficacy of tebuconazole and tebuconazole + trifloxystrobin was reduced when the volume of the soultion was increased from 200 to 20.000 L. Garlic extracts, wastewater of garlic agroindustry and DADS induce germination of sclerotia of *S. cepivorum*. Triadimenol, fluazinam, tebuconazole and tebuconazole+trifloxystrobin suppress the growth of *S. cepivorum* in vitro, especially at the volume of fungicide solution equivalent to 200 $L.ha^{-1}$. Further studies under field conditions are needed to evaluate the integrated use of garlic extracts, DADS and the fungicides triadimenole, fluazinam, tebuconazole and tebuconazole + trifloxystrobin on the management of the white rot.

INTRODUÇÃO GERAL

Espécies do gênero *Allium* estão entre as principais hortaliças cultivadas no Brasil, com destaque para o estado de Minas Gerais. Aproximadamente 2.500 há foram cultivados na safra 2014/15 (Conab, 2015), sendo 2.120 ha no Alto Paranaíba, especialmente nos municípios de São Gotardo, Ibiá e Rio Paranaíba. No entanto, uma doença tem sido motivo de preocupação para os produtores de alho do cerrado mineiro. Trata-se da podridão-branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum*. Essa enfermidade já foi relatada em várias áreas produtoras da região e é considerada a doença de solo mais ameaçadora para os cultivos de alho (*Allium sativum* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) em todo o mundo (Stewart & McLean, 2007).

Sclerotium cepivorum pode atacar o hospedeiro desde a fase de emergência das plântulas, levando a morte antes da colheita, até o armazenamento, causando deterioração dos bulbos (Entwistle, 1990). O sintoma mais facilmente reconhecível da podridão-branca, bem como de muitos outros agentes patogênicos que infectam o sistema radicular, é o amarelecimento e 'dieback' das folhas, seguido de morte das folhas afetadas. Devido à morte das raízes, as plantas infectadas são facilmente arrancadas do solo. O bulbo apresenta podridão-mole nos tecidos e crescimento micelial esbranquiçado na base da planta, progredindo para a produção de massas de pequenos escleródios pretos, dando aspecto enegrecido aos bulbos (Nunes & Kimati, 2004).

A doença é disseminada quando escleródios ou material infectado são transportados durante o cultivo, o que pode ocorrer por meio de implementos agrícolas e sapatos contendo solo infestado aderido; enxurrada ou água de irrigação capaz de carrear solo. O foco inicial no primeiro ano de cultivo pode ser pequeno; porém, aumenta rapidamente na lavoura pelo movimento de máquinas e implementos e com o uso de irrigação (Entwistle, 1990). Existe alta correlação entre a densidade de inóculo na ocasião do plantio, caracterizada pelo número de escleródios no solo, e a incidência da podridão-branca no alho (Crowe et al., 1980).

Os escleródios atuam como fonte de inóculo primário da doença. O fungo não produz esporos e a infecção da planta ocorre por meio de hifas formadas a partir dos escleródios. Embora o patógeno tenha uma gama de hospedeiros restrita a plantas do gênero *Allium* e sua dispersão seja limitada ao transporte passivo de escleródios ou

materiais de plantio infectados, a agressividade e a capacidade de sobrevivência do fungo no solo por até 20 anos fazem que essa doença limite o cultivo de plantas suscetíveis em áreas infestadas (Coley-Smith, 1959; Coley-Smith, 1990; Clarkson et al., 2002; Valle, 2004; Maude, 2006).

Os escleródios germinam em resposta a estímulos químicos induzidos por exsudatos radiculares de plantas do gênero *Allium* e quando o solo encontra-se úmido e com temperaturas variando entre 13 – 18 °C (Voss & Mayberry, 1999). Parte dos escleródios recém-formados sofre dormência constitutiva, não germinando imediatamente, mesmo em condições ideiais. Necessitam, portanto, de serem condicionados durante período de tempo variável no solo, para que estejam aptos a germinar (Willetts & Bullock, 1992).

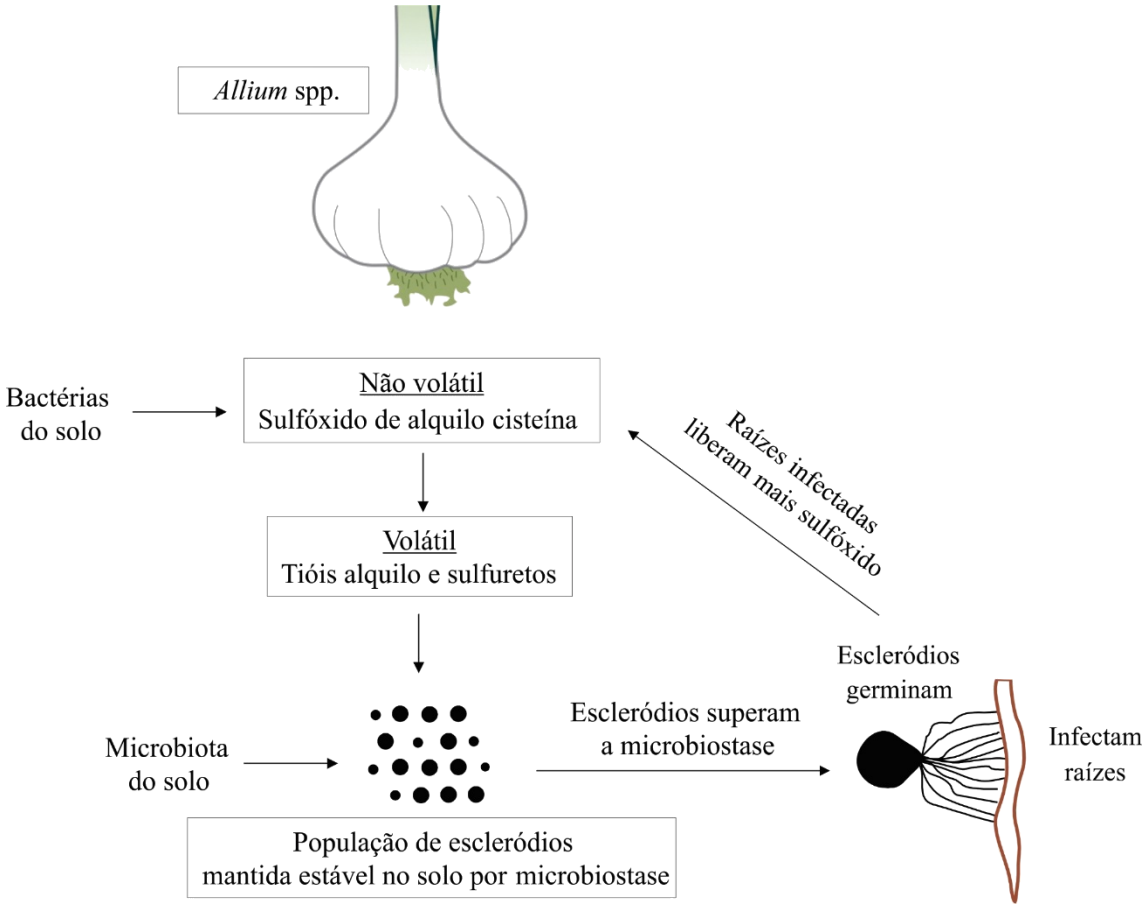


Figura 1. Indução da germinação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* por compostos produzidos por plantas do gênero *Allium*. Adaptado de Coley-Smith (1987).

Escleródios não dormentes emitem tubo germinativo após sete dias consecutivos em condições de solo adequadas, iniciando o processo infectivo em lavouras de alho e cebola já instaladas. Em países de clima quente, para que o alho atinja seu ponto ótimo de crescimento, os plantios ocorrem principalmente em áreas com temperaturas entre 15 – 25 ºC (Voss & Mayberry, 1999), com a bulbificação ocorrendo nos meses mais frios do ano. Considerando que a produção de exsudatos rediculares é maior durante a bulbificação, o fungo encontra condições favoráveis para germinar e causar a doença principalmente nessa fase do ciclo das culturas.

O manejo da doença depende da combinação de diferentes métodos de controle. O uso de fungicidas isoladamente não é suficiente para controlar a podridão-branca, devido à incapacidade dos compostos ativos atuarem sobre a maior parte dos escleródios no solo e pela dificuldade em proteger os locais de infecção nas raízes. Além disso, as moléculas podem ser rapidamente degradadas no solo (Coley-Smith, 1990; Zewide et al., 2007). A longa sobrevivência do fungo no solo limita a adoção de rotação de culturas e de pousio. No entanto, o patógeno não sobrevive por muito tempo na forma de hifa, sendo mais exposto ao ataque de antagonistas, à ação de compostos químicos e às condições adversas do ambiente. Assim, reduzir a viabilidade dos escleródios, seja por induzí-los à germinação ou por degradação por compostos químicos, pode contribuir para o manejo da doença, por diminuir a quantidade de inóculo inicial na área.

A aplicação de compostos químicos similares aos liberados na rizosfera por plantas de *Allium* pode estimular a germinação dos escleródios, desde que o solo esteja úmido e a temperatura esteja entre 13 e 18 °C. Se a aplicação for feita em condições de pousio, o escleródio do fungo germinará e o patógeno morrerá por não conseguir obter nutrientes do hospedeiro. Com isso, a densidade de propágulos no solo será reduzida. O dialil dissulfeto (DADS), por exemplo, é um composto volátil que estimula a germinação de escleródios de *S. cepivorum* e que já foi usado para o manejo da podridão-branca na Austrália, Canadá, Estados Unidos e Nova Zelândia (Hovius & McDonald, 2002; Davis et al., 2007; Stewart & McLean, 2007; Villalta et al., 2012). Há relatos de que a aplicação de DADS reduziu a incidência de podridão-branca a menos de 1% quando a densidade inicial foi de 70 – 150 escleródios por kilo de solo (Hovius & McDonald, 2002). No Brasil, o produto não está disponível no mercado e ainda não foi avaliado para o manejo da doença. A aplicação de extratos de alho pode ser usada em substituição ao DADS, mas demanda estudos para ajustar as concentrações, doses e quantidades de aplicações necessárias para estimular a

germinação dos escleródios. Além disso, é possível que fungicidas que não são efetivos diretamente sobre os escleródios limitem o crescimento micelial do fungo após a germinação, mesmo na presença da planta hospedeira.

Diante da escassez de informações e da necessidade de se estabelecer práticas eficientes de manejo da doença, objetivou-se com este trabalho:

a) Estudar o efeito da aplicaçãode extrato de alho para indução da germinação dos escleródios;
b) Avaliar o efeito da aplicação de dialil dissulfeto na indução da germinação de escleródios;
c) Avaliar o efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de *S. cepivorum*.

LITERATURA CITADA

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

COLEY-SMITH, J. R. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. III. Host range; Persistance and viability of sclerotia. **Annals of Applied Biology**, v. 47(3), p. 511-518, 1959.

COLEY SMITH, J. R. Alternative methods of controlling white rot disease of *Allium*, in **Innovative Approaches to Plant Disease Control**, Edited by Chet, I., John Wiley and Sons, New York, p.161-177, 1987.

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

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

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento): http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_07_28_15_20_04_alhojunho2014.pdf.

CROWE, F.J.; HALL, D.H.; GREATHEAD, A.S.; BAGHOTT, K.G. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, v. 70, p. 64-9, 1980.

ENTWISTLE, A. R. Root diseases, in Onions and Allied Crops. In: RABINOWITCH, H.D.; BREWSTER, J.L. (Ed.). **Agronomy, Biotic Interactions, Pathology, and Crop Protection**. Florida: CRC Press, 1990. p. 103-154.

HOVIUS, M. H. Y. and McDONALD M. R. Management of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil-applied diallyl disulphide

and di-N-propyl disulphide. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 24, p. 281-286, 2002.

MAUDE, R. B. Onion Diseases. In: COOKE, B. M.; JONES, D. G.; KAYE, B. (Ed.). **The Epidemiology of Plant Diseases**. 2 ed. Dordrecht: Springer, 2006. p. 506-509.

NUNES, M.E.T.; KIMATI, H. Doenças do alho e cebola. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. Piracicaba: Ceres, 2004. p. 49-64.

STEWART, A.; MCLEAN, K. L. Biological control of onion white rot. In: CHINCHOLKAR, S.B.; MUKERJI, K.G. (Ed.). **Biological Control of Plant Diseases**. New York: The Haworth Press, 2007. p. 123-148.

VALLE, R. V.; AGUILAR, M. M. M. Persistencia de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. Em suelos infestados de Aguascalientes y Zacatecas, México. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 22, p. 143-146, 2004.

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

VOSS, R. E.; MAYBERRY, K. S. Fresh market bulb onion production in California, Vegetable Research and Information Center, *Vegetable Production Series*, puplication 7242. 1999.

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

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

CAPÍTULO I

EXTRATOS DE ALHO E DIALIL DISSULFETO INDUZEM A GERMINAÇÃO DE *Sclerotium cepivorum*

RESUMO: Escleródios de *S. cepivorum* podem permanecer dormentes por três décadas em campos cultivados com *Allium*. Plantas susceptíveis ao fungo exsudam compostos que são metabolizados pelos microorganismos do solo, resultando em uma mistura de tióis e sulfuretos. Estas substâncias estimulam *S. cepivorum* a germinar. A aplicação de extrato de alho em campos de pousio pode induzir a germinação de escleródios, por conter compostos sulfurosos similares aos exsudatos por *Allium* spp. Escleródios de *S. cepivorum* germinam apenas uma vez, e na ausência de culturas susceptíveis eles irão morrer. Portanto, a utilização de estimulantes de germinação pode ser uma estratégia adicional no manejo gestão da podridão branca. Com base nesta premissa, avaliou-se o efeito do extrato aquoso e etanólico de alho preparados em laboratório (20% m: v), resíduo aquoso de agroindústria do alho e extrato aquoso produzido por Shimada Agronegócios (20%, m: m) como indutores de germinação aos 17 e 27 ° C em laboratório. Além disso, o efeito de DADS em estimular a germinação de esclerócios foi avaliado usando tubos de plástico contendo solo e escleródios enterrados a 10, 20 e 30 cm de profundidade. Todos os extratos estimularam a germinação de escleródios, independentemente da temperatura. DADS induziu a germinação de esclerócios de 10 a 30 cm de profundidade, embora o efeito tenha sido maior a 10 cm. Os extratos de alho, resíduo de agroindutria de alho e DADS induzem a germinacao de esclerodios de *S. cepivorum*.

Palavras-chave: *Allium sativum*, Escleródios, Podridão branca.

GARLIC EXTRACTS AND DIALLYL DISULFIDE INDUCE GERMINATION OF *Sclerotium cepivorum*

ABSTRACT: Sclerotia of *S. cepivorum* can remain dormant for three decades in the field until an *Allium* crop is grown. Susceptible plants exude compounds which are metabolized by microorganisms of the soil resulting in a mixture of thiols and sulphides. These substances stimulate *S. cepivorum* to germinate. The application of garlic extracts at fallow fields may induce sclerotia germination. Since *S. cepivorum* sclerotia germinate only once, they will die in the absence of susceptible crops. Therefore, the use of germination stimulants may be an additional strategy on the management of white rot. Based on this premise, we assessed the effect of aqueous and ethanolic extracts of garlic prepared in laboratory (20% m:v), wastewater of garlic agroindustry and aqueous extract produced by Shimada Agronegócios (20%, m:m) as germination inducers at 17 and 27 °C in laboratory. In addition, the effect of DADS in stimulating germination of sclerotia was assessed using plastic tubes filled with soil and containing sclerotia buried at 10, 20 and 30 cm depth. All extracts stimulated sclerotia germination, regardless the temperature. DADS induced germination of sclerotia at 10 to 30 cm depth, although the effect was higher at 10 cm. Garlic extracts, wastewater of garlic agroindustry and DADS induce germination of sclerotia of *S. cepivorum*.

Key words: *Allium sativum*, Sclerotia, White rot.

1. INTRODUÇÃO

Sclerotium cepivorum é o agente causal da podridão-branca do alho, doença específica de plantas do gênero *Allium*. A doença limita a produção de alho e cebola em todo o mundo, causando perdas de até 100% da lavoura. Áreas infestadas podem se tornar inviáveis para a produção de alho após quatro anos de cultivos sucessivos (Brewster, 2008) e a erradicação do patógeno de áreas infestadas é difícil e cara. Várias medidas devem ser adotadas visando à redução da população do patógeno no solo. O controle químico da doença tem eficiência limitada, devido à incapacidade dos fungicidas em eliminar os escleródios, em proteger os locais de infecção nas raízes e pela rápida degradação de alguns princípios ativos no solo (Coley-Smith, 1990; Zewide et al., 2007). Embora o patógeno parasite apenas plantas do gênero *Allium*, a rotação de culturas não é um método recomendado para o manejo da doença, uma vez que os escleródios podem sobreviver no solo por 10 a 30 anos (Brewster, 2008). Assim, o manejo integrado da doença deve incluir diferentes estratégias de controle, dentre elas, a aplicação de indutores de germinação dos escleródios.

Plantas do gênero *Allium* liberam na rizosfera compostos não voláteis, como sulfóxidos alquilo e alilcisteína, principalmente durante o período de bulbificação. Esses compostos são metabolizados pela microbiota do solo, especialmente bactérias e resultam na produção de compostos voláteis, a exemplo do di-n-propil dissulfureto (DPDS) e dissulfeto de dialila (DADS). Tais substâncias voláteis estimulam a germinação de escleródios de *S. cepivorum* (Coley-Smith & King, 1969; Coley-Smith, 1987), resultando na produção de hifas que infectarão o hospedeiro (Figura 1).

Considerando que a germinação dos escleródios dependa da presença desses compostos, a densidade do patógeno no solo pode ser reduzida pela aplicação de substâncias que estimulam a germinação, contendo ou mimetizando as substâncias químicas voláteis dos exsudatos de raízes de *Allium*. Se a aplicação for feita em solo úmido, com temperatura de 13 a 18 °C, os escleródios podem germinar na ausência do hospedeiro. Micélios formados a partir de escleródios germinados podem persistir por diferentes períodos, variando de poucos dias a várias semanas dependendo da temperatura do solo. No entanto, morrem depois de esgotar as reservas de nutrientes do escleródio e pela ausência de tecido vegetal para infectar (Davis et al., 2007).

A substância mais comumente utilizada para indução da germinação é o dialil dissulfeto (DADS) (Stewart & McLean, 2007), com produtos comerciais à base desse composto disponíveis na Oceania e América do Norte (Hovius & McDonald, 2002;

Davis et al., 2007; Stewart & McLean, 2007; Villalta et al., 2012). A aplicação no campo contendo 70 – 150 escleródios por kilo de solo, com duas aplicações de DADS na dose de 10 L. ha^{-1} em 500 L. ha^{-1} de água, reduziu a incidência de podridão-branca em cebola, a menos de 1% (Hovius & McDonald, 2002). Há relatos de que extratos e óleos de plantas do gênero *Allium* também podem induzir a germinação do fungo (Merriman et al., 1980; Sommerville & Hall, 1987; Villalta et al., 2012). No entanto, ao contrário do DADS comercial que já foi mais estudado e possui concentração padronizada pelo fabricante, as concentrações, doses e formas de aplicação dos extratos devem ser avaliadas antes da recomendação para aplicação no campo.

Considerando a possibilidade de uso do DADS ou de extratos de alho para o manejo da podridão-branca, avaliou-se neste trabalho a eficiência da indução da germinação de escleródios a partir de extratos de alho 'in vitro' e a ação do DADS como estimulante de germinação do fungo ao longo do perfil de solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais de realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica, Fitopatologia e Genética Molecular, localizados na Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba.

2.2. Obtenção dos isolados de *Sclerotium cepivorum*

Os isolados de *S. cepivorum* utilizados neste estudo foram obtidos a partir de plantas de alho doentes cultivadas em São Gotardo – MG. No laboratório, os escleródios foram desinfestados em álcool 50 % e hipoclorito de sódio a 0,5 %, por 30 e 180 segundos, respectivamente. Em seguida, foram enxaguados duas vezes em água destilada estéril e transferidos para placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA), enriquecidos com extrato de alho aquoso a 20 % m:m. As placas de Petri foram incubadas a 17 ± 2 ºC, com fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias.

2.3. Preparo dos extratos de alho

Bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) foram descascados, lavados em água corrente e desinfestados em hipoclorito de sódio, a 1,0 %, durante cinco minutos, a fim de eliminar possíveis microrganismos presentes na superfície do tecido vegetal. Em seguida, o material foi transferido para um copo de liquidificador contendo etanol 96 % ou água destilada estéril e triturados por 1 minuto nas respectivas proporções de 20 % m:m e 20 % m:v. Os extratos foram mantidos em repouso por três dias. A separação dos extratos do material sólido residual foi realizada através de filtração utilizando papel filtro de poros de tamanho de 14 µm e gramatura de 80 $g.m^{-2}$. Os extratos foram armazenados em tubos vedados de coloração âmbar e mantidos em geladeira a 4 ºC, até o momento do uso. Além desses extratos, também foram incluídos no estudo o efluente de fábrica de tempero de alho do Sul de Minas, constituído pelo resíduo da lavagem e maceração do bulbilho de alho em água, alternativa ao descarte em córregos e rios, e o extrato aquoso produzido através da picagem de bulbilhos, na concentração de 20% m:m, oriundo de fazenda comercial do Alto Paranaíba.

2.4. Efeito de extratos de alho sobre a germinação e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum*

Os extratos de alho foram adicionados ao meio ágar – ágar a 45 ºC, juntamente com antibiótico sulfato de estreptomicina na concentração de 500 mg. L^{-1}. A dose do extrato seguiu recomendação de Villalta (2012). Para isso, 10 L de extrato para 1000 L de água, sendo que a proporção de uso baseou-se no volume total de meio de cultura utilizado em cada tratamento. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio, um escleródio de *S. cepivorum* foi depositado no centro das placas. Os escleródios foram obtidos a partir de cultura pura em BDA com 15 dias de idade. As placas foram incubadas em BOD, com fotoperíodo de 12 horas, a 17 e 27 ± 2 °C por 25 dias. As avaliações iniciaram-se a partir da formação de novos escleródios nas placas acrescidas de extrato. O número de escleródios formados foi avaliado com auxílio de microscópio estereoscópico. Placas contendo apenas ágar – ágar foram utilizadas como testemunha. O experimento foi conduzido duas vezes.

O delineamento utilizado foi do tipo inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo quatro tipos de extrato de alho e a testemunha, considerando-se cada

placa uma unidade experimental. A testemunha continha apenas o solvente puro (água destilada estéril) acrescido ao meio ágar – ágar.

O número de escleródios formados foi submetido ao teste de Lilliefors para testar a normalidade das variâncias. Realizou-se a análise de variância (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) e os tratamentos foram comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, com o uso do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (Silva, 2002).

2.5. Viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados a partir de extratos de alho

Para confirmar a viabilidade dos escleródios formados a partir da indução da germinação em meio de cultura com poucos nutrientes (ágar-ágar-extrato), quatro escleródios *S. cepivorum* foram transferidos, com o auxílio de pinça, e posicionados em pontos equidistantes na superfície de placas contendo BDA enriquecido com os mesmos extratos descritos anteriormente. As placas foram mantidas em BOD a 17 ± 2°C e a testemunha continha apenas água. Todos os procedimentos foram realizados em câmra de fluxo laminar sob condições assépticas. Avaliou-se a germinação e a formação de novos escleródios aos 32 dias após o início do experimento.

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, considerando-se cada placa uma unidade experimental. O experimento foi conduzido duas vezes. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para testar a normalidade das variâncias. Realizou-se a análise de variância (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) e os tratamentos comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, com o uso do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (Silva, 2002).

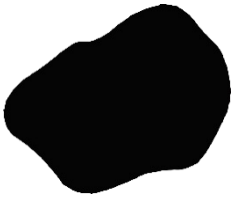
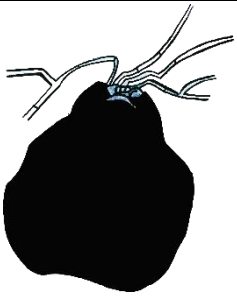
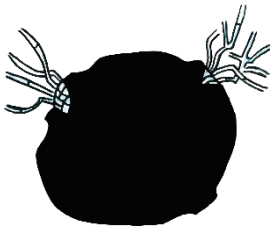
2.6. Eficiência da percolação de Dialil Dissulfeto pelo perfil do solo

Tubos de PVC de 30 cm de altura e 10 cm de diâmetro foram usados para avaliar o efeito da percolação do DADS ao longo do perfil do solo. Os tubos foram preenchidos com solo de textura média coletados em áreas não infestadas com o patógeno e previamente autoclavado a 121 °C por 120 minutos. Bolsas de poliéster de 75 cm², com fibras internas de 0,04 mm², foram preenchidas com 10 escleródios de

Sclerotium cepivorum e dispostas no tubo com solo nas profundidades de 10, 20 e 30 cm. Todos os escleródios foram desinfestados (0,5 % NaOCl) superficialmente durante 1 minuto e lavados três vezes em água estéril, antes de serem transferidos para as bolsas de poliéster. Uma bolsa foi colocada em cada profundidade e o local em que se encontravam foi demarcado na face externa do tubo.

O efeito da percolação do produto no solo foi testado a partir da simulação de duas lâminas de irrigação, 3 e 5 mm, comumente usadas por produtores de alho do cerrado mineiro. Para o volume de calda, foi realizada equivalência a partir da área da boca do tubo em relação à 10.000 m². Foram utilizados 10 L de DADS para 1.000 L de água, conforme recomendação de Villalta (2012). Água foi adicionada em substituição ao DADS nas testemunhas em ambas as lâminas de irrigação.

Os tubos foram mantidos em incubadora do tipo BOD por 40 dias, a 17 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. As bolsas de poliéster foram então retiradas e a porcentagem de germinação de escleródios em cada profundidade foi quantificada com auxílio de microscópio trinocular com objetivas invertidas. Os escleródios foram classificados e descritos de acordo com a Figura 2. Foi considerado germinado o escleródio que emitiu tubo germinativo ou se encontrava rompido (chocho).

Chocho	**Intacto**	**Germinando**	**Germinação Ativa**
			

DESCRIÇÃO

Chocho: escleródio vazio, com casca rompida (sem micélio em seu interior).

Intactos: sem emissão de tubo germinativo e a casca não possui fissuras.

Germinando: plug de hifas saindo de um único ponto da casca.

Germinação ativa: tubo germinativo e micélio aparente em mais de um ponto da casca, já rompida.

Figura 2. Classificação dos escleródios após aplicação de dialil dissulfeto ou água e incubação em solo mantido em tubos de PVC por 40 dias a 17 ± 2 °C.

Os experimentos foram delineados em esquema fatorial 2x2x3, sendo os tratamentos com e sem DADS, duas lâminas de irrigação e três profundidades de avaliação, em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, considerando-se cada tubo de PVC uma unidade experimental. O experimento foi conduzido duas vezes. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para testar a normalidade das variâncias. Realizou-se a análise de variância (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) e os tratamentos comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, com o uso do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (Silva, 2002).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito de extratos de alho sobre a germinação e formação de escleródios de *Sclerotium cepivorum*

Os extratos induziram a germinação dos escleródios, em ambas as temperaturas testadas (Figura 3). Este resultado demonstra que escleródios de *S. cepivorum*, podem crescer fora da faixa de temperatura adequada 10 a 20 °C, formando um número inferior de escleródios, frente ao crescimento induzido em faixa ótima. Locke (1967) relatou a ocorrência de *S. cepivorum* em uma faixa de temperatura ampla, 5 a 30 °C, que é a mesma relatada para o crescimento micelial em cultura (Crowe et al., 1980). O resultado encontrado também está de acordo com Locke (1967), onde a infecção por micélio pode ser iniciada em temperaturas diferentes da faixa dos 10 aos 20 °C, mas a germinação de escleródios é restrita. Levando em consideração que os escleródios plaqueados sob temperatura de 27 °C, são escleródios formados a partir de cultura pura e armazenados em temperaturas abaixo de 20 °C, acredita-se que estes já teriam iniciado o processo de germinação antes de serem plaqueados e por isso, ao serem replaqueados em meio enriquecido com os extratos, mantiveram o seu desenvolvimento micelial e posteriormente a formação de novos escleródios.

Para escleródios crescidos dentro da faixa ótima de temperatura, observou-se diferença no número final de estruturas produzidas, indicando uma potencial extração diferencial de compostos do alho quando em água e etanol. No entanto, há necessidade de estudos adicionais para identificar os compostos extraídos. Para todos os tratamentos com extrato de alho, houve formação de escleródios na lateral das placas de Petri, o que corrobora com as conclusões de outros trabalhos (Entwistle & Munasinghe,

1978). Coley-Smith (1959), descreve que hifas cresceram a distâncias de vários milímetros do corpo de escleródios primários. A frequência de produção de escleródios secundários é baixa, mas existente. Portanto, é pouco provável que esta produção seja um fator significativo para a reposição de populações de escleródios no solo, quando estes são estimulados por indutores de germinação por mais de um ciclo de estímulo (Merriman et al., 1981).

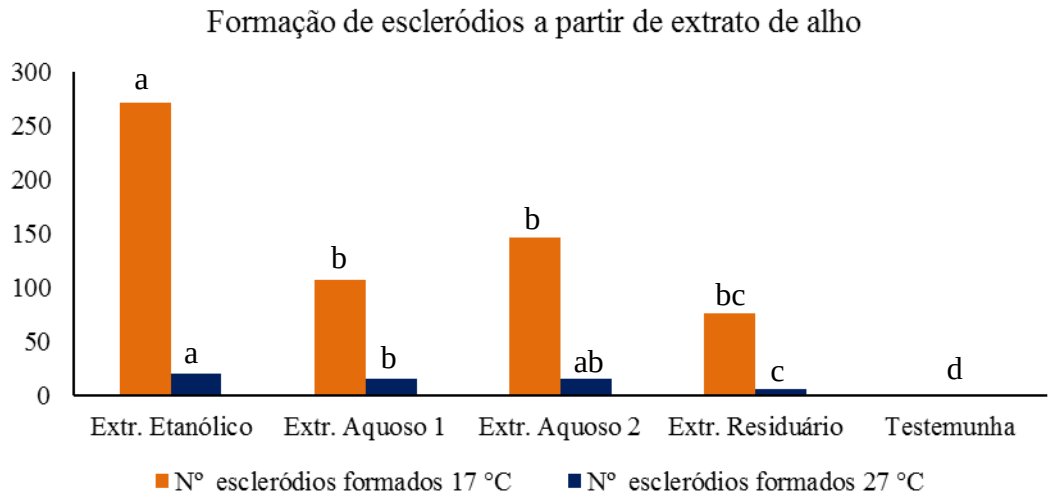


Figura 3. Número de escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados após plaqueamento em ágar-ágar enriquecido com extratos de alho, incubados a 17 °C e 27 °C. Sendo: Extrato Etanólico (20% m:m – produzido em laboratório); Extrato Aquoso 1 (20% m:v – produzido em laboratório); Extrato Aquoso 2 (20% m:m – cedido por fazenda comercial de alho); Extrato Residuário (Rejeito de fábrica de tempero de alho). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para que o uso do extrato de alho seja eficaz no campo é necessário levar em consideração fatores ambientais como a temperatura e a umidade no momento da aplicação, uma vez que nos testes laboratoriais as condições são controladas de forma que o extrato obtenha o máximo desempenho. É importante também, considerar o processo de extração, já que a filtragem é um fator primordial para que partículas de material vegetal não sejam aplicadas favorecendo a produção de novos escleródios.

3.2. Viabilidade de escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados a partir de extratos de alho

Os escleródios secundários plaqueados em BDA estavam viáveis, independentemente do tipo de extrato que foi incorporado ao ágar-ágar (Tabela 3), com porcentagens de germinação média de 75% para os escleródios incubados à 17 °C e 50% para os escleródios incubados à 27 °C. O número de escleródios formados a 17 °C foi maior do que a 27 °C, independentemente do extrato (Tabela 3).

Observou-se durante o experimento que o fator graus dias é importante para que ocorra a germinação dos escleródios. A presença de temperaturas na faixa dos 13 – 18 °C, por 12 horas durante cinco dias consecutivos foi suficiente para que o patógeno emita tubo germinativo e hifas radiais pelo meio de cultura. A produção de novos escleródios foi rápida, independente da temperatura em que foram formados (Figura 4). A germinação de escleródios se dá na forma eruptiva ou miceliogênica (Somerville, 1987; Coley-Smith, 1979). Os primeiros sinais da germinação são o aparecimento de um inchaço na superfície dos escleródios, e em seguida, o invólucro é submetido a uma grande ruptura densa e um ou mais tampões de micélio são empurrados para fora; hifas começam a crescer e se ramificam livremente a partir de cada tampão (Coley-Smith & Cooke, 1971).

Tabela 3. Número de escleródios de *Sclerotium cepivorum* germinados e formados em BDA mantidos por 30 dias em BOD.

Tipo de Extrato	Concentração	% Nº escleródios germinados		Nº de escleródios formados			
		17 °C	27 °C	17 °C		27 °C	
Extrato Etanólico	20% m/m	75	50	3128	aA[(1)]	1721	aA
Extrato Aquoso	20% m/v	50	50	2580	aA	1616	aA
Extrato Aquoso	20% m/m	75	50	2678	aA	1789	aA
Extrato Residuário	--------	100	50	2632	aA	1253	aA
Testemunha				0*		0*	

[(1)]Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.
*A testemunha não foi analisada, devido à ausência de formação de escleródios.

A viabilidade dos escleródios pode estar relacionada com a superação da latência constitutiva pelos inóculos de *S. cepivorum*.O patógeno causador da podridão-branca

possui latência constitutiva de 1 – 3 meses (Coley-Smith, 1990). A latência é um período de adaptação que interrompe o desenvolvimento do organismo e é mantida por fatores constitutivos que garantem a persistência de um organismo nesta condição por um período mínimo necessário no seu ciclo de vida (Lucas, 1998). Quando há superação da latência, os escleródios no solo podem germinar, desde que não haja fatores ambientais limitantes, como, por exemplo, temperatura, umidade, aeração e microbiostase (Coley-Smith & Cooke, 1971).

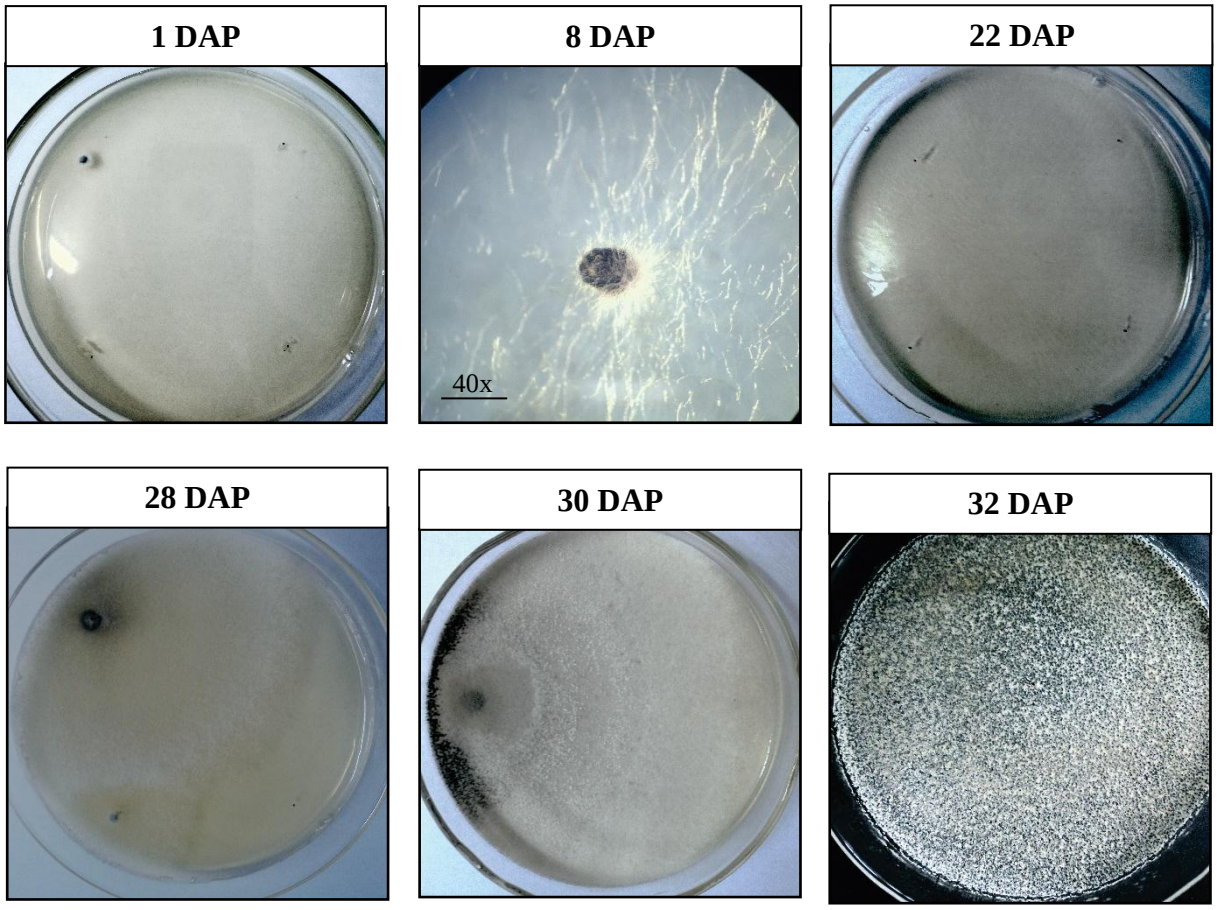


Figura 4. Viabilidade de escleródios provenientes de teste de indução de germinação a partir de extrato de alho sob temperatura de incubação de 17 °C até os 32 dias após o plaqueamento (DAP).

Em laboratório, todas as condições favoráveis são fornecidas para o patógeno germinar, produzir micélio e novos escleródios. Estudos posteriores são necessários para entender se a capacidade de produção de escleródios secundários ocorre no solo logo após a indução de germinação por extratos de alho ou similares e por quantos ciclos os escleródios são formados. Se a produção de escleródios ocorrer na ausência da

planta hospedeira e o fungo utilizar, como fonte nutricional fragmentos de alho nos extratos, a aplicação desses extratos pode não ser uma opção segura para o manejo do patógeno. No entanto, se a produção de escleródios secundários ocorrer apenas em função das reservas contidas no escleródio primário, o que acredita-se que ocorra, o uso dos extratos reduzirá a viabilidade do patógeno no solo e deverá ser encorajada.

3.3. Eficiência da percolação de Dialil Dissulfeto no perfil do solo

A aplicação de DADS estimulou a germinação dos escleródios de *S. cepivorum* localizados de 10 a 30 cm de profundidade (Tabela 4), quando comparados com tubos que receberam apenas água. No entanto, o estímulo da germinação com a aplicação do DADS foi maior a 10 cm de profundidade e menor a 30 cm. Sem estímulo do DADS, a germinação dos escleródios variou entre 24 e 28 %. Não houve efeito significativo da lâmina de água aplicada na indução da germinação dos escleródios em tubos contendo DADS. Possivelmente, isso ocorreu devido ao fato do solo dos tubos estarem umedecidos até a capacidade de campo no momento da aplicação do produto, dependendo menos da ação da lâmina de água como agente carreador ao longo do perfil do solo. Assim, em condições de solo úmido, os compostos voláteis estimulantes da germinação atingiram os escleródios mesmo a 30 cm de profundidade (Coley-Smith, 1969; Crowe & Hall, 1980; Coley-Smith & Esler, 1983; Crowe, 1995).

Tabela 4. Porcentagem de escleródios de *Sclerotium cepivorum* germinados em tubos de PVC em diferentes profundidades de avaliação com e sem aplicação de dialil dissulfeto após 40 dias de incubação.

Tipo de Aplicação	Profundidade Avaliada (cm)		
	10	20	30
Com DADS	90 aA[(1)]	69 aB	35 aC
Sem DADS	28 bA	28 bA	24 bA

[(1)]Médias seguidas por letras maiúsculas na linha e letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A aplicação de DADS na dose de 10 $L.ha^{-1}$ induz a germinação de escleródios de *S. cepivorum* localizados ate a 30 cm de profundidade, sendo mais eficiente nos propágulos localizados mais próximos da superfície do solo. Para evitar efeito da dormência constitutiva (Crowe, 1983), escleródios já condicionados foram usados no experimento. Assim, todos os escleródios estavam aptos a germinar. Além disso, evitou

perdas do produto por volatilização pela manutenção da umidade do solo e os tubos a 20 °C, logo após a aplicação do DADS.

A eficiência do DADS na indução da germinação de escleródios de *S. cepivorum* depende da profundidade, como demonstrado neste trabalho e também da densidade de inóculo (Hovius & McDonald, 2002). Em condições de pressão de inóculo baixa ou moderada, o produto pode ser importante componente para o manejo da doença. Em solos altamente infestados, no entanto, outras estratégias devem ser adotadas 'a priori' antes da aplicação do DADS, visando a redução do inóculo, como, por exemplo, fumigação química, solarização, biofumigação ou inundação do solo.

4. CONCLUSÕES

Escleródios germinam na faixa de 10 a 20 °C e continuam o crescimento micelial até 30 °C.

Aplicação de DADS estimula a germinação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* de 10 a 30 cm de profundidade.

5. LITERATURA CITADA

AGRIOS, G. N. **Fitopatología**. Ed. Limusa, México, 2004. 838p.

BREWSTER, J. L. Onions and Other Vegetable *Alliums*, 2nd Ed. **Crop Production Science in Horticulture Series**, Volume 15, 2008.

COLEY-SMITH, J. R. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. IV. Germination of sclerotia. **Annals ofApplied Biology**, v. 48 (I), p. 8-18, 1960.

COLEY-SMITH J. R. Survival of plant pathogenic fungi in soil in the absence of host plant. *In*: soilborne plant pathogens. Schippers, B y Gams, W (eds.). New York, Academic. p. 39-57, 1979.

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

COLEY-SMITH J. R., COOKE R. C. Survival and germination of fungal sclerotia. Ann. **Rev. Phytopathol**, v. 9, p. 65-92, 1971.

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

CROWE, F. J. White rot. In.: **Compendium of Onion and Garlic Diseases**, (eds.). Schwartz, H. F. and Mohan, S. K., APS Press, USA, pp. 14-16, 1995.

CROWE, F.J.; HALL, D.H. Soil temperature and moisture effects on sclerotium germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. **Phytopathology**, v. 70, p. 74-80, 1980.

CROWE, F.J.; HALL, D.H.; GREATHEAD, A.S.; BAGHOTT, K.G. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, v. 70, p. 64-9, 1980.

DAVIS, R. M.; HAO, J. J.;ROMBERG, M. K.; NUNEZ, J. J. and SMITH, R. F. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot of garlic. **Plant Disease**, v. 91, n. 2, p. 204-208, 2007.

ENTWISTLE, A. R. Relationships between soil sclerotial population of Sclerotium cepivorum and the incidence of Allium white rot. En-twistle AR (ed). Proc. Third Intnatl. **Workshop on Allium White Rot**.. Wellesbourne, UK. pp: 21-24, 1986.

ENTWISTLE, A. R. Allium white rot and its control. **Soil Use and Management**, v. 6, p. 201-209, 1990.

ENTWISTLE, A. R. & MUNASINGHE, H. I. Epidemiology and control of white rot disease in onions. In: Scott, P. R. & Bainbridge, A. (Ed.), **Plant disease epidemiology**. Blackwell Scientific Publ. Oxford: 187-191, 1978.

ESLER G.; COLEY-SMITH J. R. Flavour and odour characteristics of species of *Allium* in relation to their capacity to stimulate germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. **Plant Pathology**, v. 33, p. 13-22, 1983.

HOVIUS, M. H. Y. and McDONALD M. R. Management of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil-applied diallyl disulphide and di-N-propyl disulphide. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 24, p. 281-286, 2002.

LOCKE, S. B. The role of soil temperature in the epiphytologyof onion white rot. (Abstr.) **Phytopathology**, v. 57, p. 100-101, 1967.

LUCAS, J. A. Plant pathology and plant pathogens. 3 ed. Berlin. **Blackwell Science Ltd**. p. 49, 1998.

MAUDE, R.B. Onion Diseases. In: COOKE, B.M.; JONES, D.G.; KAYE, B. (Ed.). **The Epidemiology of Plant Diseases.** 2 ed. Dordrecht: Springer, 2006. p. 506-509.

MERRIMAN, P. R.; ISAACS, S.; MACGREGOR R. B. and TOWERS, G. B. The evaluation of onion oils as a treatment for the control of *Sclerotium cepivorum* in onions. **Annals of Applied Biology**, v. 96, p. 163-168, 1980.

MERRIMAN P. R.; SAMSON I. M. and SCHIPPERS B. Stimulation of germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* at different depths in soil by artificial onion oil. **Neth. L. P1. Path**, v. 87, p. 45-53, 1981.

PAPAVIZAS, G.C. Isolation and enumeration of propagules of *Sclerotium cepivorum* from soil. **Phytopathology**, v. 62, p. 545-549, 1972.

SILVA, F. de. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional ASSISTAT para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 4, n.1, p. 71-78, 2002.

SOMERVILLE, P. A. and HALL, D. H. Factors affecting sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum*, secondary sclerotia formation, and germination stimulants to reduce inoculum density. **Plant Disease**, v. 71, n. 3, p. 229-233, 1987.

STEWART, A.; MCLEAN, K.L. Biological control of onion white rot. In: CHINCHOLKAR, S.B.; MUKERJI, K.G. (Ed.). **Biological Control of Plant Diseases**. New York: The Haworth Press, p. 123-148, 2007.

VILLALTA, O. Manejo integrado de la podredumbre blanca (*S. cepivorum*) de especies Allium en Australia. Brasil, 2012.

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

VIMARD, B.; LEGGET, M.E.; RAHE, J.E. Rapid isolation of sclerotia os *Sclerotium cepivorum* from muck soil by sucrose centrifugation. **Phytopathology**, v. 76, p. 465-467, 1986.

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

CAPÍTULO II

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*

RESUMO: Fungicidas podem reduzir o crescimento de *S. cepivorum*, ainda que tais produtos químicos não possuírem a mesma eficiência no controle da podridão branca quando comparado com doenças de parte aérea. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*. Os fungicidas tebuconazol + trifloxistrobina, trifloxistrobina propiconazole, tebuconazole, triadimenol, tiofanato de metílico e o fluazinam foram adicionados ao meio batata, dextrose, ágar (BDA) + extrato de alho aquoso (20% m: m) em doses equivalentes a 200 e 20.000 $L.ha^{-1}$. Discos de micélio (5 mm de diâmetro) de *S. cepivorum* foram retirados das bordas de colônias com 15 dias de idade em BDA e depositados no centro de placas de Petri com BDA + extrato de alho aquoso, com ou sem fungicidas. O fungo foi incubado a 17 ± 2 ºC durante 30 dias, quando o crescimento micelial foi avaliado. Houve interação entre o fungicida e o volume de calda do fungicida sobre o crescimento micelial do patógeno. Todos os fungicidas reduziram o crescimento do fungo em mais de 90 %. Os fungicidas triadimenol e fluazinam inibiram completamente o crescimento de *S. cepivorum*, independentemente do volume de calda. A eficácia de tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina foi reduzida quando o volume de calda foi aumentada de 200 a 20.000 L. Triadimenol, fluazinam, tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina suprimiram o crescimento de *S. cepivorum* in vitro, especialmente para o volume de calda equivalente a 200 $L.ha^{-1}$.

Palavras-chave: Controle químico, Fungitoxicidade, Podridão branca.

INHIBITION OF THE MYCELIAL GROWTH OF *Sclerotium cepivorum* BY FUNGICIDES

ABSCTRACT: Fungicides may reduce the growth of *S. cepivorum*, although such products do not have the same efficiency on the control of the white rot in comparison to aboveground diseases. Thus, the aim of this work was to evaluate the effect of fungicides on the inhibition of the mycelial growth of *Sclerotium cepivorum*. The fungicides tebuconazole + trifloxystrobin, trifloxystrobin + protioconazole, tebuconazole, triadimenol, thiophanate methyl and fluazinam were added into potato dextrose agar (PDA) + garlic aqueous extract (20% m:m) broth at dosages equivalent to 200 and 20.000 $L.ha^{-1}$. Mycelial discs (5 mm in diameter) of *S. cepivorum* were removed from the border of 15 day cultures in PDA cultures and placed on the center of Petri dishes with PDA+garlic aqueous extract, amended or not with fungicides. The fungus was incubated at 17 ± 2 ºC for 30 days, when the mycelial growth was assessed. There was interaction between the fungicide and the volume of fungicide solution on the mycelial growth of the pathogen. All fungicides reduced the growth of the fungus by more than 90 %. The fungicides triadimenol and fluazinam inhibited completely the growth of *S. cepivorum*, regardless the volume of the solution. The efficacy of tebuconazole and tebuconazole + trifloxystrobin was reduced when the volume of the soultion was increased from 200 to 20.000 L. Triadimenol, fluazinam, tebuconazole and tebuconazole+trifloxystrobin suppress the growth of *S. cepivorum* in vitro, especially at the volume of fungicide solution equivalent to 200 $L.ha^{-1}$.

Key words: Chemical control, White rot, Fungicitoxicity.

1. INTRODUÇÃO

A podridão-branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum*, é uma das principais doenças de plantas do gênero *Allium*. Este patógeno não produz esporos, mas vários escleródios pequenos e de cor preta, que atua como propágulo de dispersão e de sobrevivência (Couch & Kohn, 2000). Devido à longevidade dos escleródios no solo (entre 10 a 30 anos) e a dificuldade de manejo do patógeno, áreas infestadas podem se tornar impróprias para o cultivo de hospedeiros suscetíveis por vários anos (Davis et al., 2007). O manejo da doença depende da redução da viabilidade dos escleródios no solo e, para isso, várias medidas de controle são necessárias.

O controle químico do patógeno pode ser realizado via tratamento de solo, com produtos fumigantes, ou com a aplicação durante o ciclo das culturas (Nunes e Kimati, 2004). Após o plantio, pulverizações foliares seguidas de irrigação tem sido o método mais adequado para promover a chegada do ingrediente ativo até o sistema radicular. A simples aplicação de fungicida na parte aérea, sem considerar condições do ambiente e a umidade do solo pode comprometer toda a sequência no manejo químico de *S. cepivorum*, uma vez que o fungicida precisa infiltrar pelo perfil do solo para atingir o alvo, que são os escleródios (Pung, 2008). No entanto, os fungicidas não são eficientes em condições de altas densidades de inóculo (Fullerton & Stewart, 1991), assim como as demais medidas de controle da doença.

No Brasil, poucos fungicidas são registrados para o manejo da podridão-branca. Por muitos anos, o fungicida iprodione foi amplamente utilizado até que ocorresse o declínio na sua eficácia ou mesmo a substituição por fungicidas mais eficazes. Produtores de cebola da Austrália fazem uso de procimidona e tebuconazole para o controle da podridão-branca, com resultados satisfatórios (Wong & Maynard, 1986; Porter et al., 1991, Fullerton et al., 1995, Ryley, 1995). Além dos resultados do controle serem variáveis em função da densidade de inóculo e da eficiência de aplicação do produto junto ao alvo (Pung, 2008), alguns fungicidas sofrem degradação microbiana no solo, como, por exemplo, o iprodione (Entwistle, 1986; Walker et al., 1986; Slade et al., 1992) e o tebuconazole (Fullerton, 2005).

Em razão das poucas opções para o manejo químico da doença, principalmente no Brasil, torna-se necessário avaliar a ação de fungicidas na inibição do crescimento do patógeno. Assim, avaliou-se o efeito dos fungicidas tebuconazol + trifloxistrobina, trifloxistrobina + protioconazol, tebuconazol, triadimenol, tiofanato metílico e fluazinam sobre o crescimento micelial de *S. cepivorum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica, Fitopatologia e Genética Molecular, localizado na Universidade Federal de Viçosa, *Campus* de Rio Paranaíba.

2.2. Obtenção do isolado de *Sclerotium cepivorum*

O isolado de *S. cepivorum* utilizado neste estudo foi obtido a partir de plantas doentes de alho cultivadas em São Gotardo – MG. Em laboratório, os escleródios foram desinfestados em álcool 50 % e hipoclorito de sódio a 0,5 %, por 30 e 180 segundos, respectivamente. Em seguida, foram enxaguados duas vezes em água destilada estéril e transferidos para placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA), enriquecidos com extrato de alho aquoso à 20 % m/m. As placas de Petri foram mantidas a 17 ± 2 ºC, com fotoperíodo de 12 horas, por 20 dias. Após a germinação e crescimento micelial do fungo, foram retirados discos de micélio de 5 mm da borda da colônia. Os discos de micélio foram retirados antes que o fungo produzisse escleródios.

2.3. Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de *S. cepivorum*

A eficiência de fungicidas pertencentes aos grupos químicos triazol, estrobilurina, thiazolinthione, benzimidazol e fenilpiridinilamida (Tabela 1) foi feita com base nas informações de uso em campo na região do Alto Paranaíba. Os fungicidas foram incorporados em meio batata, dextrose, ágar (BDA), juntamente com extrato aquoso de alho a 20 % (m:m) e o antibiótico sulfato de estreptomicina na concentração de 500 $mg.L^{-1}$. As doses testadas objetivaram concentração final do ingrediente ativo presente nos produtos químicos e a incorporação do extrato de alho, se deu pela necessidade de manter as condições de crescimento do patógeno o mais próximo possível da realidade, isto é, favorecendo a germinação dos mesmos. Em seguida, o meio de cultura contendo os fungicidas foi distribuído em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. A concentração dos fungicidas foi padronizada conforme concentrações de ingredientes ativos próximas das condições de campo (Tabela 1). Após a solidificação

do meio, discos de micélio de 5 mm de diâmetro de *S. cepivorum* foram retirados das bordas de colônias com 15 dias de idade e depositados no centro das placas de Petri contendo BDA. A testemunha continha apenas BDA, acrescida de extrato de alho. As placas foram mantidas em BOD 17 ± 2 ºC por 30 dias. Após as colônias fúngicas em placas contendo apenas BDA (testemunha) atingirem toda a superfície do meio, o experimento foi finalizado, culminando com a medição do diâmetro das colônias com auxílio de régua. A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) foi obtida com base no diâmetro da colônia (Topps & Wain, 1957):

$$PICM = \frac{\text{diâmetro do tratamento testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100,$$

O delineamento utilizado foi do tipo inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x2+1, sendo seis tipos de fungicidas, dois volumes de calda (200 e 20.000 $L.ha^{-1}$) e a testemunha adicional. Os tratamentos foram repetidos cinco vezes e o experimento realizado em triplicata.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilks e Levene para averiguação das pressuposições de normalidade e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Em seguida, procedeu-se a análise de variância conjunta para os três experimentos (ANOVA, Teste F a 5% de probabilidade) e os fatores tipos de fungicidas e volume de calda foram comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. A porcentagem de inibição de crescimento micelial e os respectivos volumes de calda foram comparadas com a testemunha por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas com auxílio do pacote estatístico SAS 9.2 (SAS Institute, 2009).

Tabela 1. Doses utilizadas no teste de eficiência de fungicidas *in vitro* para o crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*.

Ingrediente Ativo (i. a.)	Dose. ha^{-1} (produto comercial utilizado no experimento)	Concentração de ingrediente ativo no produto comercial (independente da dose)	Doses (ppm) – produto comercial *	Doses (ppm) – produto comercial **	Dose de ingrediente ativo (ppm)*	Dose de ingrediente ativo (ppm)**
Tebuconazol		200 g. L^{-1}			2,000	20
+	2 $L.ha^{-1}$	+	10,000	100		
Trifloxistrobina		100 $g.L^{-1}$			1,000	10
Trifloxistrobina		150 $g.L^{-1}$			750	7,5
+	1 $L.ha^{-1}$	+	5,000	50		
Protioconazol		175 g. L^{-1}			875	8,75
Tebuconazol	2 $L.ha^{-1}$	200 $g.L^{-1}$	10,000	100	2,000	20
Triadimenol	2 $L.ha^{-1}$	150 $g.L^{-1}$	10,000	100	1,500	15
Tiofanato Metílico	1 $Kg.ha^{-1}$	700 $g.Kg^{-1}$	5,000	50	3,500	35
Fluazinam	1,5 $L.ha^{-1}$	500 $g.Kg^{-1}$	7,500	75	3,750	37,5

* Considerando um volume (V) de calda de 200 $L.ha^{-1}$;

** Considerando um volume (V) de calda de 20.000 $L.ha^{-1}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Influência dos fungicidas na inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*

O crescimento micelial de *S. cepivorum* foi influenciado pela interação entre tipo de fungicida e volume de calda aplicado (Tabela 2). De forma geral, todos os ingredientes ativos inibiram mais de 90 % o crescimento micelial do fungo, quando aplicados com volume de calda de 200 $L.ha^{-1}$. Para os fungicidas triadimenol e fluazinam, não houve diferença no volume de calda utilizado, mantendo a maior inibição do crescimento micelial (100 %) quando comparado aos demais tratamentos. Os fungicidas tebuconazol, triadimenol, fluazinam e a mistura tebuconazol + trifloxistrobina inibiram 100 % do crescimento micelial quando aplicados com volume de calda de 200 $L.ha^{-1}$, diferindo significativamente da testemunha (Figura 1). A eficiência dos fungicidas triadimenol, fluazinam e tebuconazole na redução do crescimento do fungo corroboram os resultados obtidos por Stewart & Fullerton (1991), Corbaz (1994) e Davies (1994). A menor redução foi observada em placas contendo tiofanato metílico.

Tabela 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* em meio de cultura batata, dextrose, ágar contendo fungicidas.

Fungicidas	Percentual de inibição de crescimento micelial			
	200 $L.ha^{-1}$		20.000 $L.ha^{-1}$	
Tebuconazol + Trifloxistrobina	95,9	aA*	93,0	aB
Trifloxistrobina + Protioconazol	94,3	aA	89,3	aB
Tebuconazol	100,0	bA	98,8	bB
Triadimenol	99,2	bA	97,9	bA
Tiofanato Metílico	89,4	bA	87,8	bB
Fluazinam	100,0	aA	99,5	bA
Testemunha	0,0	aA	0,0	aA
CV (%)	1,64			

*Médias seguidas por letras maiúsculas na linha e letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

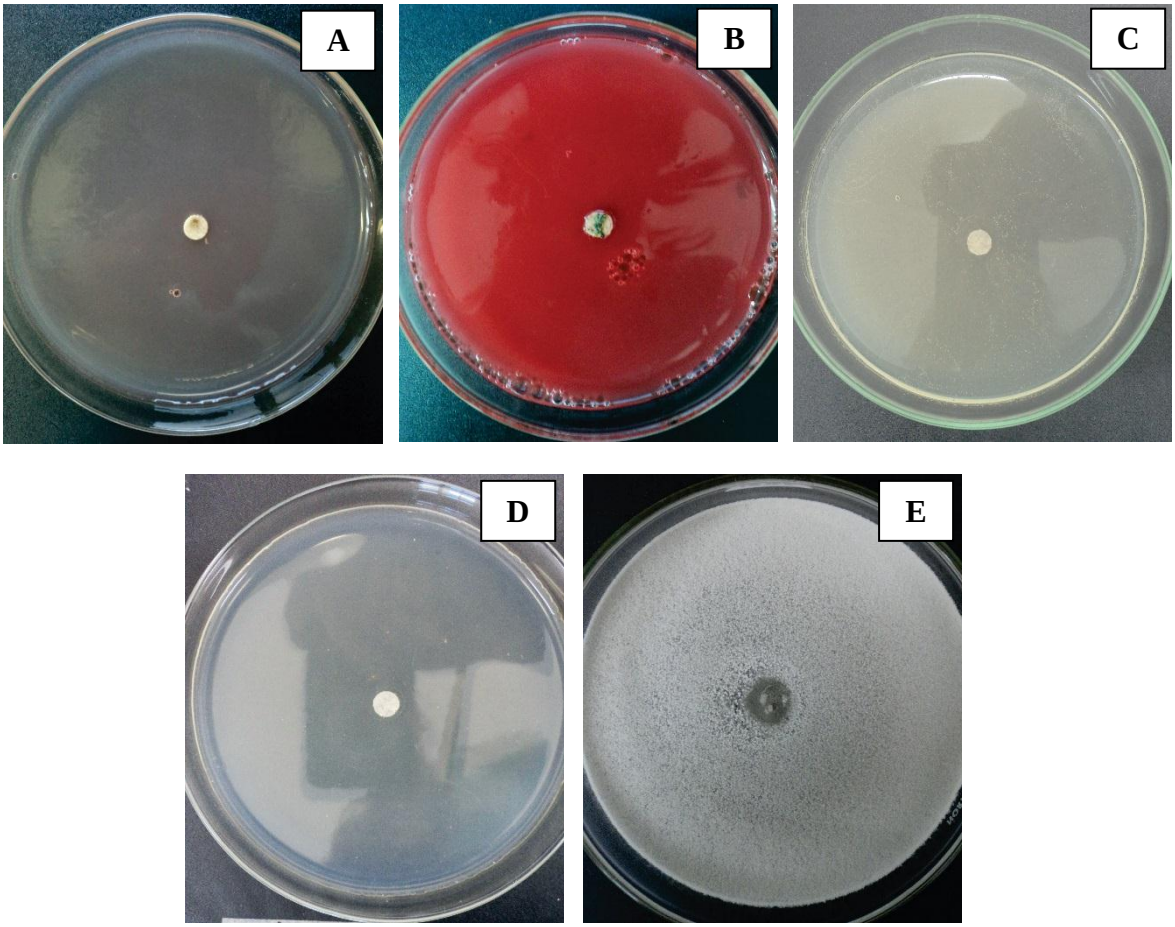


Figura 1. Crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum* em meio batata-dextrose-ágar contendo os fungicidas tebuconazol (A), triadimenol (B), fluazinam (C), tebuconazol + trifloxistrobina (D) no volume de calda de 200 $L.ha^{-1}$ e a testemunha (E).

A mistura tebuconazol + trifloxistrobina se mostrou mais eficiente na inibição do crescimento do fungo (100 % e 96 %) do que a mistura trifloxistrobina + protioconazol (95 % e 89,8 %), independente do volume de calda. Provavelmente, esta eficiência está correlacionada com a molécula tebuconazol, que foi eficiente mesmo em aplicação isolada, e se mostrou mais eficiente no controle de *S. cepivorum* do que procimidona em comparações anteriores (Duff et al, 2001).

Apesar dos resultados apresentados tebuconazol seria adequado apenas para aplicações foliares, uma vez que apresenta fitotoxicidade quando aplicado como tratamento de sementes (Fullerton et al., 1995). Tebuconazol e triadimenol, podem auxiliar no manejo da podridão branca (Tyson et al, 1999; Clarkson et al., 2002), mesmo que a longo prazo não se tenham evidências que possam sugerir que no campo a degradação dessas moléculas ocorra de forma acelerada (Tyson et al, 1999; Pung et al, 2008).

O uso dos fungicidas tebuconazol, triadimenol, fluazinam e tebuconazol + trifloxistrobina em áreas onde os escleródios foram estimulados a germinar por extratos de alho pode ser uma estratégia promissora, uma vez que esses compostos inibem o crescimento micelial de *Sclerotium cepivorum*.

4. CONCLUSÃO

Triadimenol, fluazinam, tebuconazol e tebuconazol + trifloxistrobina inibem o crescimento de *S. cepivorum* in vitro, especialmente em volume de solução fungicida equivalente a 200 $L.ha^{-1}$.

5. LITERATURA CITADA

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

CORBAZ, R. Possibilities for the control of Allium white rot (*Sclerotium cepivorum*) with ergosterol biosynthesis inhibitors (EBI) fungicides.Entwistle A. R. and J. M. Melero-Vara (eds). **Proc. Fifth Intnatl. Workshop on Allium White Rot**, 1994. Córdoba, Spain. Session 5. p:81-85, 1994.

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

DAVIES, J. M. L. Chemical control of Allium white rot: a review. Entwistle A. R. and J. M. Melero-Vara (eds). **Proc. Fifth Intnatl. Workshop on Allium White Rot**, 1994. Córdoba, Spain. Session 5. p. 73-80, 1994.

DAVIS, R.M.; HAO, J.J.; ROMBERG, M.K.; NUNEZ, J.J.; SMITH, R.F. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot of garlic. **Plant Disease**, v. 91, p. 204-208, 2007.

DUFF, A. A.; JACKSON, K. J., AND O'DONNELL, W. E. Tebuconazole (Folicur®) shows potential in the control of white rot (*Sclerotium cepivorum*) in garlic in subtropical queensland, Australia. **Proceedings of the 2nd International Symposium on Edible Alliaceae**, p. 247-250, 2001.

ENTWISTLE, A. R. Loss of control of *Allium* white rot by fungicides and its implications. **Aspects of Applied Biology**, v. 12, p. 210-219, 1986.

FULLERTON, R. A.; STEWART, A.; SLADE, E. A. Onion white rot – it won't go away. **Commercial Grower**. June/July Issue, p. 17-23, 1994.

FULLERTON, R. A.; STEWART, A.; SLADE, E. A. Use of demethylation inhibiting fungicides (DMIs) for the control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) in New Zealand. **NZ Journal of Crop & Horticultural Science**, v. 23, p. 121-125, 1995.

FULLERTON, R. A. Control of onion white rot in New Zealand. **Onion White Rot Workshop**, v. 22-23, 2005.

JACKSON, K. J.; DUFF, A. A.; O'DONNELL, W. E. Tebuconazole (Folicur^{TM}) shows potential in the control of white rot (*Sclerotium cepivorum*) in garlic in sub-tropical Queensland, Australia. 2nd International Symposium on Edible *Alliaceae*. p. 42, Adelaide, Australia, 1997.

NUNES, M. E. T.; KIMATI, H. Doenças do alho e cebola. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 4 ed. Piracicaba: Ceres, 2004. p. 49-64.

PORTER, I. J.; MAUGHAN, J. P.; TOWERS, G. B. Evaluation of seed, stem and soil applications of procymidone to control white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) of onions. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 31, p. 401-406, 1991.

PUNG, H. Investigations on the efficacy of folicur in lime super carrier and the development of alternative carriers for white rot control in onions. **Horticulture Australia**, 44 p, 2008.

RYLEY, M. J. Interactions between time of planting, inoculum levels and fungicides on onion white rot. **Final Report for HRDC project VG209**, 1995.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's Guide. Version 9.2. Cary: SAS Institute, 2009. 7869p.

SLADE, E. A.; FULLERTON, R. A.; STEWART, A.; YOUNG, H. Degradation of the dicarboximide fungicides iprodione, vinclozolin and procymidone in Paturmahoe clay loam soil, New Zealand. **Pesticide Science**, v. 35, p. 95-100, 1992.

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

TOPPS J. H.; WAIN R. L. Investigation on fungicides. III. The fungi toxicity of 3-and 5- alkyl salicylanilide and P-chloronilines. **Ann Appl Biol**, v. 45, n. 3, p. 506–511, 1957.

VILLALTA, O.; PORTER, I. J.; WITE, D.; STEWART, A.; MCLEAN, K. L. Stop the rot – managing onion white rot in spring onions. **Horticulture Australia project VG01096**. Final Report. 2005.

WALKER, A; BROWN, P. A.; ENTWISTLE, A. R. Enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil. **Pesticide Science**, v. 1, p. 183-93, 1986.

WONG, J. A. L.; MAYNARD, J. R. Application of procymidone to seed and fertlizer for the control of Allium white rot in bulb onions. Proceedings of the Third International Workshop on Allium white rot",(ed. Entwistle, ARTW), **Printing Associates Ltd. at Wellesbourne**, UK. 1986.

6. CONCLUSÕES GERAIS

- Extratos aquosos e etanólicos de alho (20% m:m) induzem a germinação de escleródios de *S. cepivorum* a 17 e 27 °C.
- Aplicação de DADS estimula a germinação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* de 10 a 30 cm de profundidade, com maior efeito sobre os escleródios mais próximos da superfície.
- Os fungicidas triadimenol, fluazinam, tebuconazol e tebuconazol+trifloxistrobina suprimem o crescimento de *S. cepivorum* in vitro, especialmente em volume de solução fungicida equivalente a 200 L/ha