

AÇÃO DE MUTANTES DE *TRICHODERMA HARZIANUM* NA FORMAÇÃO, GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* E SOBREVIVÊNCIA DE PLANTAS DE ALFACE

ANA MARIA R. CASSIOLATO^{1*}; RALPH BAKER² & ITAMAR S. DE MELO^{3**}

¹UNESP/Fac.Eng./Depto.Biologia, Caixa Postal 31, 15385-000, Ilha Solteira, SP

²*In memorium*. Department of Plant Pathology & Weed Science, Colorado State University, Fort Collins, CO, 80523, EUA

³CNPMA/EMBRAPA, Caixa Postal 69, 13.820-000, Jaguariúna, SP

(Aceito para publicação em 17/07/96)

CASSIOLATO, A.M.R.; BAKER, R. & MELO, I.S. Ação de mutantes de *Trichoderma harzianum* na formação, germinação carpopogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e sobrevivência de plantas de alface. Fitopatol. bras. 22:34-38. 1997.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a habilidade antagonista de mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai (isolados TW5 e WT-T95) resistentes ao fungicida benomil, em relação ao crescimento micelial, formação de escleródios, germinação carpopogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) e aumento no percentual de sobrevivência de plantas de alface. Todos os mutantes e linhagens selvagens de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95) reduziram o crescimento micelial e o número de escleródios formados por *S. sclerotiorum*, em meio de BDA. Entretanto, eles não exibiram atividade hiperparasítica contra escleródios quando

o teste de viabilidade foi realizado depositando os escleródios previamente tratados sobre fatias de cenoura, em placas de Petri. Mutantes e linhagens selvagens de *T. harzianum* TW5 e WT-T95 mostraram tanto diminuir o número de estipes e apotécios formados por escleródios de *S. sclerotiorum*, *in vitro* e *in vivo*, quanto aumento porcentual de plantas de alface sobreviventes, em substrato infestados artificialmente com escleródios.

Palavras-chave: Benomil, controle biológico, *Lactuca sativa*, mofo-branco.

ABSTRACT

Action of *Trichoderma harzianum* mutants on the formation and carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia and lettuce plant survival

The objective of this research was to evaluate the antagonistic ability of benomyl-resistant mutants of *Trichoderma harzianum* (TW5 and WT-T95) against mycelial growth, sclerotia formation, carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*, and their impact on lettuce plant survival. All mutants and wild types were able to reduce the mycelial growth and the number of sclerotia formed in the PDA medium. However, they did not exhibit

hyperparasitic activity against sclerotia when viability test was performed by placing treated sclerotia on freshly cut carrot slices on a glass Petri dish. Also, some of those mutants were shown to decrease the stipes and apothecia production by sclerotia of *S. sclerotiorum*, *in vitro* or *in vivo*, and to increase the percentage of lettuce plant survival by using a substrate which was artificially infested with sclerotia.

INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Sclerotinia* têm causado perdas em culturas importantes no Brasil e no mundo, especialmente em espécies cultivadas durante o inverno (Purdy, 1979; Kissmann, 1988). Um único escleródio, através da germinação miceliogênica, pode ser suficiente para infectar e matar uma planta e, através da germinação carpopogênica, começar uma

epidemia (Adams & Ayers, 1979; Cook *et al.*, 1975; Schwartz & Steadman, 1978; Steadman, 1983). *S. sclerotiorum* têm por característica a elevada capacidade para germinação carpopogênica de seus escleródios. A ocorrência de podridões tem sido consistentemente correlacionada à frequência da germinação carpopogênica. Os ascósporos, em elevadas proporções, produzidos em apotécios no próprio campo, são violentamente liberados, podendo ainda ser dispersados pelo vento. Normalmente, os apotécios formados dentro das culturas são os maiores responsáveis pela produção de ascósporos (Purdy & Bordin, 1953; Abawi & Grogan,

* Parte da tese de Doutorado - ESALQ/USP, bolsista do CNPq.

** Bolsista do CNPq.

1975; Schwartz & Steadman, 1978; Patterson & Grogan, 1985; Ben-Yephet *et al.*, 1986).

Trichoderma spp. têm sido relatados como eficientes agente de biocontrole, acarretando na supressão de vários patógenos. Sua eficácia está relacionada com habilidades como, produção de antibióticos, competição e micoparasitismo. Sua presença tem sido associada com a redução e destruição de hifas, escleródios e inibição da germinação carpogênica, em condições de laboratório, casa-de-vegetação e de campo (Adams & Ayers, 1979; Davet, 1986; Dennis & Webster, 1971a,b; Whipps, 1987).

O objetivo deste trabalho foi determinar a habilidade antagonista dos mutantes de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95), resistentes ao fungicida benomil, sobre a formação e germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* bem como da sobrevivência de plantas de alface cultivadas em substrato infestado artificialmente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições de laboratório de Controle Biológico e casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia e Plantas Daninhas, Colorado State University, Fort Collins, CO, EUA.

Os mutantes resistentes ao benomil foram obtidos, com o emprego da luz U.V., à partir dos isolados *T. harzianum* TW5 (coleção de culturas do CNPMA/EMBRAPA), e *T. harzianum* WT-T95. Quanto ao patógeno, o isolado #1 de *S. sclerotiorum* foi proveniente de planta de tomate da região de Guaíra, SP, enquanto o isolado #2, de restos de culturas de feijoeiro cultivadas na região nordeste do Estado do Colorado, EUA.

Avaliação da atividade hiperparasítica dos mutantes de *T. harzianum* sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, *in vitro*.

Discos de meio de BDA contendo crescimento micelial de *S. sclerotiorum* isolado #1, foram transferidos para o centro das placas de Petri contendo meio de aveia, e incubados por 24 horas a 25°C. A seguir, discos de meio de BDA contendo crescimento micelial dos mutantes foram transferidos para três pontos equidistantes a aproximadamente 1.0cm de seus bordos (Método I), ou sobre as colônias dos patógenos e exatamente ao lado do discos-inóculo (Método II). A incubação deu-se à temperatura de 25°C. A avaliação consistiu da contagem do número de escleródios formados por tratamento, após 21 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$.

Avaliação da atividade hiperparasítica dos mutantes de *T. harzianum* sobre escleródios de *S. sclerotiorum*, *in vitro*.

O comportamento hiperparasítico dos mutantes de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95) sobre escleródios de *S. sclerotiorum* foi avaliado utilizando-se placas de Petri de vidro (10 cm de diâmetro) contendo vermiculita mais farelo de trigo (0,01%) umedecidos e autoclavados por 45 minutos. Escleródios, produzidos em meio de aveia, foram lavados em hipoclorito de sódio (10%) por dois minutos, enxaguados em

água destilada esterilizada, secados sobre papel de filtro esterilizado e transferidos para a superfície da vermiculita contida em placas de Petri. A pré-inoculação da vermiculita com os mutantes deu-se através da transferência de 0,5 ml das suspensões de conídios (10^6 conídios por ml) por placa. As placas foram seladas usando parafilme e mantidas a 22°C por 15 dias. Após, os escleródios foram recuperados, lavados e partidos ao meio, para serem observados quanto à integridade de medula. A seguir, foram transferidos para a superfície de fatias de cenoura sobre papel de filtro umedecido esterilizado contido em placas de Petri de vidro. As metades de cada escleródio foram transferidas para duas placas de Petri, em posições correspondente. Antes de serem fatiadas, as cenouras foram submersas em hipoclorito de sódio 10% durante três minutos, para desinfestação superficial. O material foi incubado por cinco dias a 22°C. A avaliação consistiu da verificação das colônias do patógeno desenvolvidas sobre o substrato, ao redor dos escleródios. Cada tratamento foi repetido três vezes sendo cada uma desta constituída por duas placas de Petri contendo as correspondentes metades de cada escleródio (10 por placa). Os experimentos foram realizados separadamente para cada isolado do patógeno, e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

Influência de mutantes de *T. harzianum* na produção de estipes e apotécios formados por escleródios de *S. sclerotiorum*, *in vitro*.

O experimento teve como objetivo avaliar a influência dos mutantes de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95) na formação de estipes e apotécios por escleródios de *S. sclerotiorum*, *in vitro*. O preparo das placas de Petri contendo vermiculita e a obtenção, preparo e transferência dos escleródios para as placas de Petri contendo vermiculita, deram-se como descrito acima. Após seladas com parafilme, as placas foram mantidas a 20-22°C por 45 dias. A avaliação consistiu da contagem do número de estipes e apotécios formados em cada um dos escleródios, com auxílio de microscópio estereoscópio. Cada tratamento foi constituído por quatro repetições, com dez escleródios por placa. O experimento foi repetido duas vezes e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.

Influência de mutantes de *T. harzianum* TW5 e WT-T95 sobre o números de estipes e apotécios formados por escleródios de *S. sclerotiorum*.

O experimento teve por objetivo observar a atividade hiperparasítica dos mutantes de *T. harzianum* sobre as estipes e apotécios de escleródios germinados carpogenicamente em condições assépticas, e posteriormente avaliados quanto ao número de estipes e apotécios presentes na superfície do vaso. Para tanto, os escleródios germinados carpogenicamente (na ausência dos mutantes) foram obtidos seguindo o procedimento anteriormente descrito. Os escleródios exibindo estipes e apotécios foram cuidadosamente transferidos para placas de Petri com 14cm de diâmetro, contendo vermiculita esterilizada, e inoculadas com 0.5ml de um suspensão de conídios de mutantes de *T. harzianum* (10^6 conídios/ml). Após esta operação, as placas foram seladas com parafilme e o material foi mantido por sete dias à temperatura de

22-24°C. Decorrido este período, os escleródios foram transferidos para a superfície dos vasos (9X10cm) contendo uma mistura de serrapilheira e perlita (3:1). Os escleródios foram alocados a 1cm de profundidade e a 1cm das plantas de alface var. Grand Rapids (Henry Fields Seeds Co.) transplantadas com 15 dias de idade e com uma semana de antecedência da inoculação com o patógeno. Após 45 dias da instalação do experimento, as plantas de alface foram podadas. A avaliação deu-se pela contagem do número de estipes e apotécios presentes na superfície do substrato. Cada tratamento foi repetido seis vezes e cada repetição conteve três plantas por vaso e dois escleródios por cada uma desta, e o experimento foi repetido duas vezes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cultivares de alface são suscetíveis à *Sclerotinia* sp. Estes fitopatógenos podem formar estruturas de resistência, os escleródios, os quais sobrevivem no solo por vários anos, diminuindo a eficiência das medidas de controle. Neste trabalho procurou-se observar o comportamento antagonístico de mutantes de *T. harzianum* TW5 e WT-T95, resistentes ao fungicida benomil, em diferentes fases de ciclo vital de *S. sclerotiorum*.

Análise de variância seguidas pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$) dos dados obtidos, mostrou diferenças estatísticas significativas da ação dos mutantes sobre hifas de *S. sclerotiorum*, *in vitro* (Tabela 1). Todos os tratamentos com os mutantes ou linhagens selvagens de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95) diferiram significativamente da testemunha (au-

TABELA 1 - Atividade hiperparasítica de mutantes de *Trichoderma harzianum* TW5 e WT-T95, sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, através dos testes de antagonismo em confrontação direta de micélio, *in vitro*.

| Mutantes | Número de escleródios formados | | | |
|------------|--------------------------------|---------|-----------|----------|
| | Método I | | Método II | |
| | Exp. I | Exp. II | Exp. I | Exp. II |
| TW5 | 0.00 d | 2.00 b | 4.60 cd | 6.40 bcd |
| TW5-2B1 | 2.20 b | 2.00 b | 9.40 b | 9.80 bc |
| TW5-2B2 | 1.20 bc | 1.80 b | 4.20 cd | 4.80 cd |
| TW5-2B6 | 0.80 cd | 0.00 c | 9.18 b | 12.40 b |
| TW5-410 | 0.00 d | 0.00 c | 2.40 d | 4.00 d |
| TW5-523 | 0.40 cd | 0.40 c | 3.40 d | 5.80 cd |
| WT-T95 | 0.00 d | 0.00 c | 3.40 d | 12.20 b |
| T95 | 0.00 d | 3.00 b | 7.20 bc | 9.20 bc |
| Testemunha | 20.20 a | 20.20 a | 18.20 a | 20.20 a |

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

Cada número representa a média de cinco repetições
CV(%) = 13.90, 14.50, 14.36 e 22.59, respectivamente.

sência destes), com redução do número de escleródios formados.

As espécies do gênero de *Trichoderma* têm mostrado eficiência para controlar a podridão de esclerotínia, em condições de laboratório, casas-de-vegetação e campo, promovendo a redução no crescimento micelial e formação de escleródios (Merriman, 1976).

T. harzianum tem mostrado ser destruidor de hifas e escleródios, alterando a integridade de medula, contribuindo para redução do número de escleródios viáveis no solo (Imolehim *et al.*, 1980; Santos & Dhingra, 1982; Zazzarini & Tosi, 1985). Sua atividade lítica tem sido atribuída principalmente às enzimas β -(1,3)-glucanase e quitinase (Chet & Elad, 1983; Cook & Baker, 1983). Apesar de crescer usando laminarina ou quitina como única fonte de carbono (Cassiolato, 1995), os mutantes de *T. harzianum* TW5 e WT-T95 não mostraram ser eficientes parasitas de escleródios.

No teste de viabilidade de escleródios, os mutantes e linhagens selvagens de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95), que em trabalhos anteriores mostraram ser capazes tanto de promover a redução na formação de escleródio de *Sclerotinia* spp. (Cassiolato *et al.*, 1996; Silva, 1991), como crescerem usando quitina ou laminarina como única fonte de carbono (Cassiolato, 1995), não exibiram hiperparasitismo de escleródio. Esse resultado foi comprovado através de observações sobre a germinação de escleródios tratados sobre fatias de cenoura, e da integridade da medula dos mesmos.

Na cultura de alface, o hábito de crescimento das plantas e a origem das fontes de inóculo influenciam no controle do mofo-branco. *S. sclerotiorum* tem por característica a alta frequência da germinação carpogênica por seus escleródios. Os ascósporos provenientes de apotécios locais limitam o controle químico por aplicações foliares enquanto que os ascósporos aéreos, provenientes de outros campos ou os carregados pela reutilização da água de irrigação, limitam muito a eficácia das aplicações de fungicidas ao solo e do controle local (Ben-Yephet *et al.*, 1986; Patterson & Grogan, 1985; Steadman, 1979).

Para a atividade hiperparasítica de mutantes de *T. harzianum* TW5 e WT-T95 sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*, as análises de variância seguidas pelo teste de Tukey ($p \leq 0.01$ e $p = 0.05$) dos resultados obtidos, detectaram diferenças estatísticas significativas da influência destes na produção de estipes e apotécios produzidos, *in vitro* e *in vivo*. De acordo com a Tabela 2, todos os tratamentos que receberam os mutantes ou linhagens selvagens de *T. harzianum* (TW5 e WT-T95) não diferiram entre si ou da testemunha não-inoculado, e reduziram significativamente o número de estipes e apotécios formados. Quanto aos resultados apresentados na Tabela 3 (Experimento I) os mutantes TW5-2B6, TW5-523 e T95 não diferiram entre si ou do controle não-inoculado, porém diferiram do controle inoculado, com menores números de estipes e apotécios. No Experimento II, os resultados obtidos foram bem diferentes. Os mutantes TW5-2B1, TW5-2B2, TW5-410, T95 e a linhagem selvagem WT-T95 não diferiram entre si, porém diferiram do controle inoculado e do controle não-inoculado, com os menores números de estipes e apotécios formados.

TABELA 2 - Influência de mutantes de *Trichoderma harzianum* TW5 e WT-T95 no número de estipes e apotécios formados por escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*.

| Mutantes | Número de estipes e apotécios formados | |
|------------------------|--|----------------|
| | Experimento I | Experimento II |
| TW5 | 1.45 b | 1.20 c |
| TW5-2B1 | 1.63 b | 1.53 bc |
| TW5-2B2 | 1.85 b | 1.30 bc |
| TW5-2B6 | 1.85 b | 1.63 bc |
| TW5-410 | 2.13 b | 1.15 c |
| TW5-523 | 1.95 b | 1.53 bc |
| WT-T95 | 2.10 b | 1.52 bc |
| T95 | 1.80 b | 2.15 b |
| <i>S. sclerotiorum</i> | 4.48 a | 7.97 a |

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0.01$).

Cada número representa a média de quatro repetições sendo cada uma constituída da média de dez escleródios.

CV(%)=6.15 e 5.32, respectivamente.

TABELA 3 - Influência de mutantes de *Trichoderma harzianum* TW5 e WT-T95 sobre a formação de estirpes e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum*, e presentes na superfície dos vasos contendo plantas de alface var. Grand Rapid.

| Mutantes | Número de estipes e apotécios observados | |
|------------------------|--|----------------|
| | Experimento I | Experimento II |
| TW5 | 2.33 bc | 3.50 abc |
| TW5-2B1 | 1.50 bc | 2.50 bc |
| TW5-2B2 | 1.83 bc | 2.33 bc |
| TW5-2B6 | 0.50 c | 3.50 abc |
| TW5-410 | 3.00 abc | 1.17 cd |
| TW5-523 | 0.67 c | 3.83 ab |
| WT-T95 | 7.00 a | 2.83 bc |
| T95 | 0.50 c | 2.00 bc |
| <i>S. sclerotiorum</i> | 5.17 ab | 6.17 a |
| Controle | 0.00 c | 0.00 d |

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0.05$).

Cada número representa a média de seis repetições contendo três plantas por vaso e dois escleródios por planta.

CV(%)= 29.59 e 18.26, respectivamente.

Explicações dentre os processos naturais que levam à um possível declínio da podridão branca causada por *S. sclerotiorum*, estão as possíveis reduções na sobrevivência de escleródios, justificadas pela diminuição de reservas causadas por formações sucessivas de apotécios, ou porque,

durante a formação de apotécios ocorrem aberturas naturais das camadas externas dos escleródios, as quais facilitam a entrada de microrganismos (Merriman, 1976).

Resultados idênticos a estes também foram relatados por Phillips (1989). O autor observou que os escleródios de *S. sclerotiorum* tratados com suspensão de conídios de *T. harzianum* apresentaram 0% de germinação carpogênica. Mueller *et al.* (1985), empregando uma modificação da técnica de Kohn, verificaram que apenas *Gliocladium virens* Miller, Giddens & Foster, ao contrário dos isolados de *T. viride* e *T. harzianum*, exibiram excelentes resultados nos testes de cultura pareada e com redução da viabilidade e número de apotécios formados por escleródio.

Um agente ideal de biocontrole, segundo Whipps (1987), é aquele que possui habilidade para competir e controlar o crescimento dos patógenos através do seu crescimento e ocupação de resíduos como fonte de alimento. Os resultados obtidos mostram que existe a possibilidade do uso de alguns destes mutantes de *T. harzianum* TW5 e WT-T95, resistentes ao benomil, na redução da incidência de mofo-branco causada por *S. sclerotiorum*, em condições de casa-de-vegetação. Entretanto, faz-se necessário estudar melhor as possibilidades no uso destes mutantes no controle integrado do patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S. & GROGAN, R.G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture in infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 65: 300-309. 1975.
- ADAMS, P.B. & AYERS, W.A. Ecology of antagonists of *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69: 896-899. 1979.
- BEN-YEPHET, Y.; BITTON, S. & GREENBERGER, A. Control of lettuce crop disease, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* with metham-sodium soil treatment and foliar application of Benomyl. *Plant Pathol.* 35: 146-151. 1986.
- CASSIOLATO, A.M.R. Parasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary por mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai. Piracicaba, 1995. 133p. (Doutorado -Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP).
- CASSIOLATO, A.M.R.; BAKER, R. & MELO, I.S. Parasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. minor* por mutantes de *Trichoderma harzianum* em segmentos de aipo. *Fitopatol. bras.* 21: 120-122. 1996.
- CHET, I. & ELAD, Y. Mechanism of mycoparasitism. *In: Les antagonismes microbiens. Mode d'action et application a la lutte biologique controle des maladies des plantes.* Bordeaux, 1983, Colloque de I.N.R.A. 18: 35-40. 1983.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, American Phytopathology Society, 1983. 539p.
- COOK, G.E.; STEADMAN, J.R. & BOOSALIS, M.G. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in Western Nebraska. *Phytopathology* 65: 250-255. 1975.

- DAVET, P. Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés; corrélation avec l'atititude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie* 6: 863-867. 1986.
- DENNIS, C. & WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of British Mycology Society*, 57: 41-48. 1971a.
- DENNIS, C. & WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of British Mycology Society*, 57: 41-48. 1971b.
- IMOLEHIM, E.D.; GROGAN, R.G. & DUNIWAY, J.M. Effect of temperature and moisture tension on growth, sclerotial production, germination and infection by *Sclerotinia minor*. *Phytopathology* 70: 1153-1157. 1980.
- KISSMANN, K.G. Sclerotinia. *Atualidades Agrícolas (BASF)*, 4: 16-19. 1988.
- MERRIMAN, P.R. Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 385-389. 1976.
- MUELLER, J.D.; CLINE, M.N.; SINCLAIR, J.B. & JACOBSEN, B.J. An *in vitro* test for evaluating efficacy of mycoparasites on sclerotinia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 69: 584-587. 1985.
- PATTERSON, C.L. & GROGAN, R.G. Differences in epidemiology and control of lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 69: 766-770. 1985.
- PHILLIPS, A.J.L. Fungi associated with sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in South Africa and their effects on the pathogen. *Phytophylactica* 21: 135-139. 1989.
- PURDY, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, disease and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. *Phytopathology* 69: 875-880. 1979.
- PURDY, L.H. & BARDIN, R. Mode of infection of tomato plants by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis. Repr.* 37: 361-362. 1953.
- SANTOS, A.F. & DHINGRA, D.D. Pathogenicity of *Trichoderma* spp. on the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Bot.* 60: 472-475. 1982.
- SCHWARTZ, H.F. & STEADMAN, J.R. Factors affecting sclerotium populations of, and apothecium production by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 68: 383-388. 1978.
- SILVA, A.C.F. Obtenção de caracterização de novos biótipos de *Trichoderma harzianum* Rifai, resistentes a benzimidazóis, através de luz ultravioleta. Piracicaba, 1991. 131p. (Mestrado ESALQ/USP).
- STEADMAN, J.R. Control of plant disease caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69: 904-907. 1979.
- STEADMAN, J.R. White mold - A serious yield limiting disease of bean. *Plant Dis.* 67: 346-350. 1983.
- WHIPPS, J.M. Behavior of fungi antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* on plant tissue segments. *Journal of General Microbiology*, 133: 1495-1550. 1987.
- ZAZZARINI, A. & TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathol.* 34: 415-421. 1985.