

MARIA ELOISA SALUSTIANO

**DETECÇÃO DE FUNGOS E EFEITOS DE *Alternaria helianthi* (HANSF.) TUBAKI
& NISHIHARA, *Alternaria ximiao* PAPE E *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) DE BARY
EM SEMENTES DE GIRASSOL (*Helianthus annuus* L.)**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de "MESTRE".

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS

1987

MARIA ELISA RAIBIANO

DETECÇÃO DE FUNGOS E EFEITOS DE... (HANSF.) TURBANI
E NISHIMURA, MITSUO PAPI E... (LIB.) DE BARY
EM SEMENTES DE GIRASSOL (MITSUO NISHIMURA E...)

Tratamento apresentado à Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais, em 1987. Área de Concentração em Agronomia. Área de Especialização em Fitopatologia, para obtenção do grau de MESTRE.



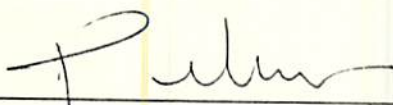
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS - MINAS GERAIS

1987

DETECÇÃO DE FUNGOS E EFEITOS DE *Alternaria helianthi*
(HANSF.) TUBAKI & NISHIHARA, *Alternaria zinniae* PAPE E
Sclerotinia sclerotiorum (LIB.) DE BARY EM SEMENTES
DE GIRASSOL (*Helianthus annuus* L.)

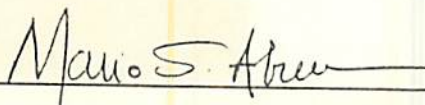
APROVADA:



PROF. JOSÉ DA CRUZ MACHADO
Orientador



HILÁRIO ANTONIO DE CASTRO



MÁRIO SOBRAL DE ABREU

Ofereço aos meus pais
Ikson e Maria de Lourdes,
pelo amor, compreensão e pela
confiança que a mim
dedicaram.

Dedico ao
meu irmão Júnior.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura de Lavras e a seu Departamento de Fitossanidade, pela oportunidade oferecida.

Ao meu orientador Professor Dr. José da Cruz Machado pela eficiente orientação, apoio e incentivo.

Aos Professores Hilário Antônio de Castro e Mário Sobral de Abreu, pelas valiosas sugestões e apoio.

Ao pesquisador José Claret Matiolli pelas sugestões e dedicação no que se refere à parte estatística deste trabalho.

À amiga, professora e pesquisadora Dr^a Janice Elaine Pittis pela orientação na identificação dos fungos e pela colaboração na realização do Summary.

Aos pesquisadores Maria Regina Gonçalves Ungaro, Augusto Cesar Pereira Goulart.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Fitossanidade da Escola Superior de Agricultura de Lavras, pelo auxílio na montagem e condução dos experimentos.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão pela colaboração financeira na impressão da tese.

Ao amigo e colega Luiz Fernando Corbeira da Silva pela amizade, sugestões e auxílio na montagem dos experimentos.

A todos meus colegas pela amizade incentivo e carinho que a mim dedicaram durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais pela compreensão, amor e incansável incentivo durante toda minha vida.

À Sandra Maria Estevam Maia colega e amiga que contribuiu de maneira valiosa para a conclusão deste trabalho.

A Deus, por ter estado sempre comigo, principalmente, nas horas mais difíceis.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Detecção de Fungos em Lotes de Sementes de Girassol (<i>Helianthus annuus</i> L.) Procedentes de Algumas Re- giões do Brasil	18
3.1.1. Procedência das Sementes	18
3.1.2. Testes de Sanidade	20
3.1.2.1. Teste de Incubação em Papel Filtro, Modificado	20
3.1.2.2. Teste de Incubação em Ágar, Modifi- cado	21
3.2. Patogenicidade de <i>Alternaria helianthi</i> e <i>Alternaria</i> <i>zinniae</i> ao Girassol <i>Helianthus annuus</i> L. na Fase Inicial de Crescimento	21
3.2.1. Preparo de Inóculo	22
3.2.2. Inoculação e Avaliação da Infecção	23
3.2.2.1. Índice de Doença (%)	25
3.2.2.2. Stand Final de Plantas (%)	27

3.2.2.3. Altura de Plantas (cm)	27
3.2.2.4. Peso Verde de Plantas (g)	27
3.2.2.5. Peso Seco das Plantas (g)	27
3.3. Patogenicidade de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ao Girassol na Fase Inicial de Desenvolvimento a partir de Sementes Inoculadas em Condições Controladas	28
3.3.1. Obtenção e Preparo do Inóculo	28
3.3.1.1. Obtenção de Escleródios	28
3.3.1.2. Produção de Ascosporos	28
3.3.1.3. Produção de Micélio	29
3.4. Inoculação e Avaliação da Infecção	30
3.5. Delineamento Experimental	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Detecção dos Níveis de Ocorrência de Fungos em Sementes de Girassol	32
4.2. Efeito de <i>Alternaria helianthi</i> sobre o Desenvolvimento Inicial do Girassol	38
4.2.1. Efeito da Inoculação de Sementes	38
4.2.2. Efeito de Inoculação de Plantas	43
4.3. Efeito de <i>Alternaria zinniae</i> sobre Desenvolvimento Inicial do Girassol a partir de Sementes Inoculadas	45
4.3.1. Efeito da Inoculação de Sementes	45

4.3.2. Efeito da Inoculação de Plantas	47
4.4. Efeito de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> Sobre o Desenvol <u>v</u> vimento Inicial do Girassol a Partir de Sementes Contaminadas	50
5. CONCLUSÃO	54
6. RESUMO	56
7. SUMMARY	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
APÊNDICE	68

LISTA DE QUADROS

QUADRO		Página
1	Cultivar e procedência das amostras de sementes de girassol (<i>Helianthus annuus</i> L.) submetidas à análise de sanidade, safras 1983-1984. Lavras, MG, 1987 ..	19
2	Níveis de ocorrência e frequência de fungos em sementes de girassol detectados pelos métodos de incubação em papel de filtro e em ágar. ESAL, Lavras - MG, 1987	33
3	Níveis de ocorrência de <i>Alternaria helianthi</i> , <i>Alternaria zinniae</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em sementes de girassol em relação a procedência geográfica das amostras analisadas. ESAL, Lavras - MG. 1987	37
4	Níveis de ocorrência de <i>Alternaria helianthi</i> , <i>Alternaria zinniae</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em sementes em relação à cultivares de girassol envolvidas no levantamento de fungos em laboratório. ESAL, Lavras - MG. 1987	39

QUADRO

Página

5	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com <i>Alternaria helianthi</i> . ESAL, Lavras - MG. 1987	41
6	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação, com <i>Alternaria helianthi</i> , de sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com e sem tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987	42
7	Efeito da concentração de esporos <i>A. helianthi</i> sobre sementes de IAC Anhandy inoculadas com e sem tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987	43
8	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de plantas de girassol - cultivar IAC Anhandy com <i>A. helianthi</i> . ESAL, Lavras - MG. 1987 ...	44
9	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol - cultivar IAC Anhandy, com <i>Alternaria zinniae</i> . ESAL, Lavras - MG. 1987	46
10	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação com <i>Alternaria zinniae</i> em sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com e sem tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987	48

QUADRO

Página

11	Efeito da concentração de esporos sobre sementes de IAC Anhandy inoculadas com e sem tegumento para stand final. ESAL, Lavras - MG. 1987	49
12	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de plantas de girassol - cultivar IAC Anhandy com <i>Alternaria zinniae</i> . ESAL, Lavras - MG. 1987	49
13	Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol, com diferentes tipos de inóculo de <i>S. sclerotiorum</i> . ESAL, Lavras - MG. 1987	51

1. INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) constitui-se a segunda fonte mais importante de óleo comestível do mundo e seu cultivo tem sido estimulado por suas inúmeras outras potencialidades. No Brasil apesar de ser conhecido há vários anos, o cultivo desta oleaginosa em escala mais extensiva é recente, (29).

Cultivado praticamente em todos os continentes, o girassol alcançou em 1984 uma produção de sementes de aproximadamente 15,9 milhões de toneladas em todo o mundo, sendo a Rússia, Argentina e Estados Unidos os maiores produtores, (16).

Dado às várias utilizações de suas sementes, em que se destaca a produção de óleos comestíveis e combustíveis, o cultivo do girassol tem se expandido no sul do país, onde constitui uma alternativa para agricultores da região. A introdução de novas cultivares, adaptáveis às condições brasileiras, tem permitido que esse tipo de planta possa se estender por todo o Brasil, (40).

O óleo de girassol é da mais alta qualidade, sendo por isto utilizado na alimentação humana. Trata-se de um produto com elevado teor de ácidos graxos insaturados, em proporção de até 70%

de oleico linolênico e linoleico. Este último é referido como capaz de dissolver e eliminar o excesso de colesterol do organismo. É um óleo que apresenta ainda características que lhe permitem a utilização em outras atividades, como por exemplo, na indústria química ou na substituição de derivados de petróleo, (38).

Neste sentido vale lembrar as considerações do cultivo de girassol pelo governo brasileiro com o intuito de buscar alternativas nacionais ao uso de combustíveis fósseis importados, a exemplo do que já vem ocorrendo com o álcool etílico, (13).

De acordo com alguns pesquisadores (22, 44, 8), o cultivo do girassol no Brasil tem encontrado algumas dificuldades no que se refere a aspecto sanitário. Isto faz com que medidas preventivas sejam tomadas para que a ocorrência à disseminação de pragas e patógenos não venham constituir em obstáculos mais sérios à expansão da referida cultura.

A exemplo do que ocorre com quase todas as plantas cultivadas, a presença de doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides é também uma séria ameaça ao girassol em nossas condições. A importância dessas doenças pode variar anualmente, dependendo das condições climáticas que favorecem a ocorrência e disseminação de determinados patógenos (8). Segundo ZIMMER e HOES (46) o girassol é conhecido como hospedeiro de mais de 35 microorganismos infecciosos sendo que os fungos constituem a maioria. Dados fornecidos pelos mesmos autores, indicam que as doenças são

responsáveis por perdas da ordem de 12% na produção do girassol, o que equivale a 12 milhões de hectares desta oleaginosa cultivada no mundo.

De acordo com RICHARDSON (36, 37) e NEERGAARD (31) a maioria dos patógenos que causam importantes doenças ao girassol, podem ser veiculadas pelas sementes. Isto faz com que o uso de sementes contaminadas implique sempre no aumento destas doenças, uma vez que o patógeno tem introdução assegurada na lavoura de forma aleatória e no estágio inicial da cultura, (39). Para que o controle de doenças transmissíveis por sementes seja bem sucedido, é preciso lembrar que as medidas devam ser iniciadas de forma preventiva no campo e continuadas durante a colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento, (25).

Desta forma, a utilização de sementes sadias é um dos requisitos de suma importância para assegurar bons rendimentos em qualquer cultivo agrícola. Diante dos poucos estudos feitos em Patologia de sementes de girassol no Brasil, o presente trabalho é proposto com os seguintes objetivos:

- Identificar e quantificar a microflora associada às sementes de girassol, procedentes de algumas regiões no Brasil.
- Avaliar os efeitos de *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Sclerotinia sclerotiorum* sobre o desenvolvimento inicial do girassol em condições controladas.

- Desenvolver método mais eficiente de inoculação de girassol com *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Segundo NEERGAARD (31) as sementes de plantas cultivadas no ponto de vista de sanidade, além de serem vítimas do ataque de agentes fitopatogênicos podem adicionalmente assumir um papel de enorme significado na disseminação de um grande número de patógenos.

Dentre os grupos de agentes fitopatogênicos ao girassol, os fungos associados às sementes são encontrados com maior frequência, conforme cita TANAKA (43). Estes organismos são responsáveis por severas reduções da produção, além de depreciarem a qualidade industrial e o poder germinativo das sementes.

A ocorrência de fungos em sementes de girassol tem sido relatada em diversos países do mundo, onde a cultura é explorada. A literatura internacional faz menção a 12 fungos e 1 vírus como patógenos associados às sementes de girassol, além de 11 outros fungos de natureza saprofítica.

Dentre os fungos patogênicos, são considerados de maior importância: *Plasmopora halstedii* (FARL) Berl & De Toni, causador

do Mildio; *Puccinia helianthi* Schu, causador da ferrugem; *Sclerotinia sclerotiorum* Lib. De Bery, causador da podridão e murcha de Sclerotinia; *Verticillium albo-atrum* Rienke e Berth, causador da murcha de Verticilium; *Macrophomina phaseolina* (lassi goid), causador da podridão cinza do capítulo; *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara e *Alternaria zinniae* Pape, causadores da mancha das folhas e das hastes do girassol; *Botrytis cinerea* Pers. Ox. Fr. causador da podridão cinza do capítulo (36, 37, 45, 46).

Segundo HENNING (20) e PAIVA (32) no Brasil, já foram constatados 22 patógenos e 14 saprófitas associadas às sementes de girassol. Entre eles estão *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Alternaria tenuis*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Verticilium* sp., *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium moniliforme*, *Phoma* sp., *Didymela* sp., *Phomopsis* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia rolfsii*, *Colletotrichum dematium*, *Colletotrichum* sp., *Cercospora* sp., *Corynespora* sp e *Dreschlera rostrata*.

De acordo com MENTEN (29), no Brasil os fungos *Alternaria helianthi* e *Sclerotinia sclerotiorum* merecem destaque pela frequência com que ocorrem no girassol e pelos prejuízos que tem causado à cultura. *Alternaria helianthi* é provavelmente o principal agente causador da mancha da folha e da haste, sendo frequentemente detectado em sementes. Sendo um patógeno associado às sementes, *Sclerotinia sclerotiorum* pode ser introduzida em novas áreas das

quais dificilmente é erradicado devido à grande longevidade dos escleródios no solo.

Segundo UNGARO (44) a mancha da folha e haste de girassol é causada, não somente por *Alternaria helianthi*, como também por *Alternaria zinniae*. Estes dois fungos aparecem frequentemente em campos de cultivo do Estado de São Paulo, com intensidade variável principalmente no plantio da seca.

Levantamento feito por HENNING (20) com o objetivo de conhecer a microflora de 35 amostras de sementes de girassol, mostrou que a percentagem máxima de *Alternaria helianthi* e *Alternaria zinniae* foi da ordem de 14,5% e 25,5% respectivamente. Neste levantamento foram encontradas apenas 5 amostras, com sementes portadoras de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Níveis de *Sclerotinia sclerotiorum* da ordem de 40 a 100% foram detectados no Brasil por HOMECHIN (22) em sementes de girassol colhidas de plantas cujos capítulos estavam severamente atacados pelo fungo.

Estudos sobre avaliações de danos causados por *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Sclerotinia sclerotiorum* ao girassol no Brasil são relativamente escassos. Algumas das informações disponíveis são baseadas em trabalhos feitos fora do país, ou são deduzidas de estudos feitos com outros objetivos.

No Brasil *Alternaria helianthi* foi constatada, pela primeira vez em girassol, em 1969, no Estado de Pernambuco, de acordo

com AQUINO et alii (9), e em 1970 na região de São Paulo por RIBEIRO et alii (35).

O referido fungo causa um crestamento ao girassol em todos os estágios de crescimento, sendo as lesões mais frequentes nas folhas, pecíolos, hastes, capítulos e suas partes florais. As lesões em folhas são inicialmente pequenas e irregulares, com algumas desenvolvendo, até atingirem 1,5 cm de diâmetro. Essas manchas foliares são marrons e apresentam anéis concêntricos. Halos cloróticos distintos são evidentes principalmente nas folhas mais novas. A coalescência e o desenvolvimento das lesões foliares resultam em secamento e queda das folhas. Na haste as lesões se iniciam como pontos que se coalescem e se tornam elípticas. A coalescência destas lesões pode resultar em grandes áreas necrosadas e escuras, envolvendo grande parte da haste. Nos cotilédones as lesões são geralmente circulares e deprimidas (30, 43, 9).

Os sintomas causados por *Alternaria helianthi* são semelhantes aos sintomas descritos para *Alternaria zinniae*, outra espécie patogênica ao girassol, (24, 46). Segundo MORAES et alii (30) esta similaridade de sintomas pode impedir o reconhecimento de uma ou outra espécie em condições de campo, sendo aconselhável identificar o patógeno através de outros meios além de sintomatologia.

As condições favoráveis à infecção causada por *Alternaria helianthi* ao girassol são, temperatura alta e umidade elevada

durante a estação de crescimento. Nestas condições, a esporulação do fungo é também favorecida. As temperaturas de 25°C e 28°C favorecem à germinação de conídios de *Alternaria helianthi* em presença de umidade na superfície da folha. Nestas circunstâncias ocorre o máximo de infecção, num período de 12 horas de alta umidade.

Segundo ALLEN et alii (3) lesões causadas por *Alternaria helianthi* desenvolveram mais rapidamente em folhas e plantas no estágio de enchimento de grãos e folhas velhas em relação ao estágio vegetativo. Os halos cloróticos foram mais evidentes em torno de lesões de plantas novas e ausentes em lesões de plantas velhas. Observaram ainda esses autores que a germinação dos conídios e ramificação de tubos germinativos aumentaram, quando se misturou aos conídios de *Alternaria helianthi* o pólen do capítulo. Diante desses dados ALLEN et alii (5) concluíram que, o girassol é mais suscetível ao fungo no estágio de enchimento de grãos e isto sugere que a fase de maturação da cultura coincide com a época em que as condições do meio ambiente são apropriadas para o desenvolvimento da doença.

De acordo com GODOY & GIMENES (17) o referido fungo em condições de casa de vegetação demonstrou ser mais danoso do girassol em plantas mais velhas. Foram inoculadas plantas com idade variando de 30 a 105 dias.

O fungo foi encontrado em quantidades significativas, apenas nas sementes originárias de plantas inoculadas aos 60 dias

de idade, ou seja início do florescimento dos híbridos utilizados. Estas sementes depois de tratadas com hipoclorito de sódio a 1,5%, ainda apresentavam o fungo em seu interior. Segundo os autores CHALUAT & CÁCERES (11) e SHANE et alii (41), plantas provenientes de sementes com infecção natural ou artificial por *Alternaria helianthi* podem manifestar sintomas tanto na parte aérea como nas raízes das plantas. O fungo pode causar murcha das plântulas, o que reduz o stand e infecta folhas e pecíolos de 10 a 32 dias de idade. Isto demonstra que o girassol é suscetível ao referido fungo em todos os estádios de crescimento.

A ocorrência deste em sementes de girassol do ponto de vista epidemiológico tem sido considerado por alguns pesquisadores. Segundo ALLEN et alii (4) e JEFFREY et alii (23) a presença de *Alternaria helianthi* mesmo em níveis baixos nas sementes é capaz de causar sérios danos à cultura em condições favoráveis à doença. De maneira geral em áreas novas com plantio de girassol, a referida doença torna-se mais grave a partir do segundo cultivo.

Há uma significativa correlação negativa entre o aumento da intensidade da doença, a produção e a quantidade de óleo produzida. Há redução substancial no valor desses parâmetros devido a atuação da doença. Todos os componentes, tais como tamanho de flores, número de sementes por capítulo, sementes produzidas por planta, peso de 1.000 sementes, produção por parcela e quantidade de óleo foram afetados adversamente. O componente mais afetado é sempre o número de sementes por capítulo, seguido por número de se-

mentes por planta, conforme BALASUBRAMANYAM & KOLTE (10) e ALLEN et alii (6).

Estudos específicos de *Alternaria zinniae* em girassol foram provavelmente iniciados por McDONALD & MARTENS (24) em 1960. Observaram estes autores que sintomas como quebra do caule e manchas das folhas ocorriam com frequência em plantas de girassol cultivadas em Manitoba. Tentativas foram feitas no sentido de se determinar o fungo responsável por esta doença. Um dos fungos consistentemente isolados de certos tipos de manchas das folhas e caules foi *Alternaria zinniae* Pape.

Após o isolamento e identificação, estes mesmos autores testaram a patogenicidade do fungo em plantas de girassol com 45 dias de idade. Completado o período de 72 horas após a inoculação de plantas com suspensão de esporos de *Alternaria zinniae*, estas desenvolveram sintomas iniciais como pequenas manchas necróticas com halos cloróticos que se alargavam, formando manchas escuras de 5 mm de diâmetro. No caule as manchas em forma de listras aumentavam longitudinalmente. Lesões maiores tomavam completamente o pecíolo resultantes da coalescência de pequenas manchas.

Em estudos sobre diferenciação de *A. zinniae* e *A. tagetes* através de gama de hospedeiros, MACHADO (26) testou a sensibilidade de várias plantas, àqueles fungos isolados de *Zinnia elegans*, *Tagetes* sp. O autor inoculou plantas com 10 dias de idade, usando a técnica de pequenos discos de papel de filtro umedecidos

em suspensão de esporos do referido fungo. Os resultados mostraram que após 7 dias da inoculação, vários hospedeiros principalmente *Helianthus annuus* L. mostraram altamente suscetíveis ao fungo. O girassol exibiu pequenas lesões marrons que mais tarde coalesceram, tornando-se escuras e encharcadas.

Em estudos envolvendo a inoculação de *A. zinniae* em sementes de girassol, McDONALD & MARTENS (24) semearam sementes inoculadas com o referido fungo em areia e desenvolveram plantas com sintomas típicos àqueles descritos em outros hospedeiros infectados por *A. zinniae*. Algumas plântulas apodreceram totalmente e nem mesmo chegaram a emergir, outras apresentaram lesões no hipocótilo e damping-off após a emergência. Foram evidenciadas lesões nos cotilédones.

A importância da doença causada por *A. zinniae* em girassol é difícil de ser estimada, devido à sintomatologia que envolve as várias outras doenças que ocorrem no girassol. Na literatura disponível, não se encontram informações quantitativas sobre os danos causados pelo referido fungo ao girassol.

A podridão e murcha do girassol causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary (*Syn Wetzelia sclerotiorum* (Lib) Korf. & Dumont) é uma das mais importantes doenças do girassol e que ocorre nas regiões tropicais e sub-tropicais do mundo, segundo ZIMMER & HOES (46).

Trata-se de um fungo que pode atacar diversos hospedei-

ros, sendo problema em várias plantas de valor econômico no Brasil. O fungo é polífago, atacando mais de 190 espécies de plantas, em 130 gêneros, de 45 famílias, segundo ADAMS (2).

Sclerotinia sclerotiorum pode ser transmitida por sementes de mais de 27 gêneros, facilitando assim a sua disseminação de acordo com DOMSCH et alii (14).

Em termos de patogenicidade de *Sclerotinia sclerotiorum* ao girassol, poucos estudos têm sido realizados. Sabe-se que sementes oriundas de capítulos infectados, frequentemente apresentam o fungo, porém mesmo sementes aparentemente sadias podem estar infectadas com o mesmo. Isto faz com que a utilização de sementes seja feita apenas de lavouras livres da doença, SACKSTON (39).

A murcha de *Sclerotinia* manifesta-se geralmente próximo à floração. No início do ataque, plantas doentes ocorrem isoladas na cultura. Logo após, um grupo de duas ou mais plantas torna-se infectada, sendo que próximo à maturação, extensas porções de fileiras tornam-se doentes, chegando a formar grandes reboleiras no campo de cultivo. As plantas afetadas exibem inicialmente lesões de coloração marrom, úmidas e moles, que circundam parcialmente a base da haste, porém mais tarde envolvem completamente esta região. Essas lesões são cobertas parcial ou totalmente por densa camada de micélio branco, cuja extensão na haste pode chegar até 50 cm de comprimento. Com o desenvolvimento da doença, podem-se observar interna e externamente escleródios brancos que se tornam duros e negros.

As hastes de plantas mais atacadas apresentam fragmentações fibrosas de coloração palha após secarem com grande acamamento, conforme ALMEIDA et alii (8) e ZIMMER & HOES (46). Sob condições de alta umidade e chuvas prolongadas, a doença pode se desenvolver nos capítulos e apodrecê-los destruindo o capítulo e convertendo-os numa massa contínua de tecido esclerodial, TANAKA (42).

Esses escleródios podem germinar de duas formas. A mais comum é aquela que se dá pela emissão de talos em número variável de 1 a 25 para cada escleródio, dando lugar à formação de apotécios. A outra forma de germinação consiste na produção de massa micelial, REIS (34).

Segundo citações de SUTTON & DEVERALL (42) com base em estudos de alguns autores como PURDY (1958), ABAWI & GROGAN (1), são três os principais modos de infecção de *Sclerotinia sclerotiorum*: a) infecção micelial, proveniente da germinação de escleródios, na base no caule; b) infecção de ascosporos liberados de apotécios que penetram através de ferimentos ou aberturas naturais nos tecidos das plantas; e c) germinação de ascosporos em flores mortas, folhas senescentes e matéria orgânica, que em contato com o hospedeiro e o micélio, que se desenvolve nestes nutrientes básicos, infecta e coloniza os tecidos intactos. De acordo com ALMEIDA et alii (8) os capítulos do girassol podem ser infectados por ascosporos, trazidos pelo vento, desde o início do florescimento até a maturação.

Relatos de DORRELL & HUANG (15) dão conta de que *Sclerotinia sclerotiorum* causa redução na produção e na qualidade de sementes. A redução depende do estágio de desenvolvimento da planta. Quando a doença ocorre no estágio de formação de botão floral, menos de 5% das plantas apresentam sintomas de murcha. Já no estágio de antese, 7,2% das plantas murcham. Após o início do florescimento 6% das plantas murcham a cada semana e no final de 8 semanas 60% das plantas morrem e a produção de sementes reduz em 70%.

Segundo a literatura consultada, o processo infeccioso em girassol causado por *Sclerotinia sclerotiorum* é ainda pouco esclarecido. Informações existentes neste sentido tem sido obtidas de estudos realizados em outros hospedeiros. Por exemplo, SUTTON & DEVERALL (42) estudaram o processo infeccioso causado em feijão e soja por ascosporos do fungo. Concluíram estes autores que na ausência de nutrientes exógenos os ascosporos produzem sobre o tecido intacto pequenos tubos germinativos, mas somente tecidos jovens são penetrados por hifas originárias de germinação destes ascosporos. Houve uma resposta hipersensível das células à penetração e geralmente o fungo permaneceu restrito a estas células e crescendo dentro das mesmas.

Lesões encharcadas características da infecção bem sucedida, só se desenvolveram quando vários locais de infecção individuais se coalesceram, seguidos de inoculações com alta concentração de ascosporos.

GOULART (19) em trabalho com inoculação de sementes de soja com ascosporos, micélio e escleródios separadamente, concluiu que os efeitos do patógeno sobre o desenvolvimento inicial da soja foram mais evidentes, partindo de ascosporos. O efeito da inoculação com micélio foi observada, porém, em menores proporções. Não foi observado efeito na inoculação com escleródios, quando estes foram colocados junto das sementes no solo por ocasião do plantio.

ABAWI & GROGAN (1) evidenciaram que a infecção do feijão pelo micélio proveniente do escleródio não foi detectada no campo. Admitem os autores que isto é devido à falta de uma fonte de energia exógena dos escleródios, que são incapazes de infectar plantas de feijão, mesmo em condições ideais para a sua atuação.

Os trabalhos realizados por CHAVES (12), sobre inoculação em alface por meio de ascosporos e escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* mostraram que os ascosporos podem atuar como fonte de inóculo primário. Entretanto, evidências foram encontradas sobre a incapacidade dos ascosporos infectarem tecidos jovens de plantas saudas. O êxito obtido pelo referido pesquisador em causar infecção em folhas jovens, destacadas de alface, usando uma suspensão de ascosporos, foi possível quando os ascosporos foram colocados em solução com fonte de carbono (dextrose a 5%), o que confirma observações de Dickson e Purdy, citadas pelo mesmo autor. Ficou ainda evidenciado que os escleródios podem iniciar infecção em alface, através do micélio proveniente de sua germinação, porém este micélio parece incapaz de penetrar tecidos saudas do suscetível,

pois as plantas que não haviam sido previamente feridas não foram infectadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no laboratório e casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade da Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais, no período de 1983-1984.

3.1. Detecção de Fungos em Lotes de Sementes de Girassol (*Helianthus annuus* L.) Procedentes de Algumas Regiões Produtoras do Brasil

3.1.1. Procedência das Sementes

Foram analisadas 44 amostras de sementes de diferentes cultivares provenientes de 6 regiões produtoras dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná, as quais se encontram listadas no Quadro 1.

As amostras foram mantidas em câmara fria e seca do Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da ESAL até que fossem aplicados os testes de sanidade.

QUADRO 1 - Cultivar e procedência das amostras de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas à análise de sanidade, safras 1983-1984. Lavras, MG, 1987.

Referência da Amostra	Cultivar	Procedência Geográfica
01	AIRELLI	Uberaba (MG)
02	APOLLO	Uberaba (MG)
03	ARMOVENSKY	Londrina (PR)
04	C - 33	Uberaba (MG)
05	COEX PH 21	Uberaba (MG)
06	CONTI GH 8020	Uberaba (MG)
07	CONTISOL	Uberaba (MG)
08	CONTISOL	Uberaba (MG)
09	CONTISOL	Uberaba (MG)
10	CONTISOL 112	Uberaba (MG)
11	CONTISOL 233	Uberaba (MG)
12	CONTISOL 233	Uberaba (MG)
13	CONTISOL 422	Uberaba (MG)
14	CONTISOL 812	Uberaba (MG)
15	CONTISOL ESAL	Lavras (MG)
16	CORUMBA HÍBRIDO	Andirá (PR)
17	DK 160	Cravinhos (SP)
18	DK 170	Cravinhos (SP)
19	DK 170	Uberaba (MG)
20	DK 180	Uberaba (MG)
21	DK 180	Cravinhos (SP)
22	GUAYACAN	Londrina (PR)
23	GUAYACAN 2 inta	Londrina (PR)
24	IAC ANHANDY	Campinas (SP)
25	IAC ANHANDY	Campinas (SP)
26	IAC ANHANDY	Campinas (SP)
27	IAC ANHANDY	Campinas (SP)
28	IAC ANHANDY	Uberaba (MG)
29	IAC ANHANDY	Uberaba (MG)
30	IAC EXPERIMENTAL	Londrina (PR)
31	IMPIRA INTA	Londrina (PR)
32	PERODOVICK	Uberaba (MG)
33	PEHUEN INTA	Londrina (PR)
34	SUNBGO	Uberaba (MG)
35	SPUTNIK	Londrina (PR)
36	TALINAY	Londrina (PR)
37	TORNADO	Londrina (PR)
38	URL	Uberaba (MG)
39	URUGUAI	Uberaba (MG)
40	URUGUAI	Uberaba (MG)
41	URUGUAI	Uberaba (MG)
42	URUGUAI	Campinas (SP)
43	VNIIMK	Uberaba (MG)
44	VOSHAD	Londrina (PR)

3.1.2. Testes de Sanidade

A análise de Sanidade de Sementes foi realizada segundo o método descrito por MACHADO (26) e com base em trabalhos preliminares desenvolvidos por este autor (comunicação pessoal).

3.1.2.1. Teste de Incubação em Papel Filtro, Modificado

O teste foi conduzido utilizando 300 sementes de cada cultivar de girassol. As sementes em número de 25 foram distribuídas equidistantemente em placas de petri de 15 cm de diâmetro, contendo 2 discos de papel de filtro pré-umedecidos em solução de 2,4 D (2,4 Dicloro-fenoxiacetato de sódio), na concentração de 10 µg/ml previamente autoclavados. As placas foram mantidas em sala incubadora à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob regime de 12 horas de luz negra, alternado com 12 horas de escuro. Na sala incubadora, as lâmpadas foram colocadas a 40 cm acima das placas. A avaliação foi realizada no oitavo dia de incubação, observando-se as sementes individualmente ao microscópio estereoscópio a um aumento de até 80x. Sempre que necessário lâminas foram feitas para confirmação da identificação dos fungos ao microscópio biológico.

3.1.2.2. Teste de Incubação em Ágar, Modificado

Para este teste foram também analisadas 300 sementes por amostra. As sementes foram inicialmente tratadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos. Em seguida, em número de 10, as sementes foram transferidas assepticamente para cada placa de petri de 9 cm de diâmetro, contendo 10 ml de BDA (200 g de batata, 20 g de dextrose, 12 g de ágar e água destilada). A este meio antes da autoclavagem foi adicionado o sal de sódio de 2,4 D na concentração de 10 µg/ml. As placas contendo as sementes foram colocadas em sala incubadora sob as mesmas condições descritas no item 3.1.2.1. A avaliação foi feita ao oitavo dia de incubação. A identificação dos fungos em estudo foi feita através do tipo de colônia e estruturas típicas que os fungos formam sobre as sementes, ou em volta dessas. Sempre que necessário, lâminas foram preparadas e observadas ao microscópio biológico.

3.2. Patogenicidade de *Alternaria helianthi* e *Alternaria zin* *niae* ao Girassol *Helianthus annuus* L. na Fase Inicial de Crescimento

Os isolamentos de *Alternaria helianthi* e *Alternaria zin*
niae usados neste trabalho foram obtidos de sementes de girassol.

3.2.1. Preparo de Inóculo

Tendo em vista a baixa taxa de produção de conídios de *Alternaria helianthi* em meios convencionais, a produção de inóculo foi efetuada, seguindo-se o método proposto por ALLEN et alii (7). Desta forma foram preparadas, para este fungo, inicialmente, placas de petri (9 cm de diâmetro) com 3 discos de papel de filtro esterilizados. Sobre esses, foram vertidos 7 ml de extrato de sementes de girassol, mais 20 g de sacarose, por placa, conforme ALLEN et alii (7). A seguir discos retirados de colônias desenvolvidas em meio BDA enriquecido (200 g de batata + 20 g de dextrose + 20 g de ágar + extrato de 100 g de sementes de girassol), contendo conídios, foram depositados sobre os discos de papel de filtro, de modo que os conídios fossem distribuídos sobre a superfície deste substrato.

As placas foram incubadas a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro durante 15 dias. Ao final deste período, os conídios foram coletados para preparo do inóculo.

A suspensão inicial de conídios foi obtida, mergulhando os discos de papel de filtro em água, após raspagem da superfície dos mesmos com auxílio de pincel. Através da câmara de Newbauer fez-se a contagem de conídios em suspensão e daí ajustaram-se as concentrações de inóculo para 10^5 e $2 \cdot 10^5$ esporos/ml, e uma teste munha.

O inóculo de *Alternaria zinniae* foi multiplicado em meio BDA, contido em placas de petri de 9 cm de diâmetro e incubadas a uma temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob regime de 12 horas de luz negra alternando com 12 horas de escuro. Após oito dias de incubação, preparou-se a suspensão inicial de conídios. Em cada placa foram adicionados 10 ml de água destilada, sendo os esporos colocados em suspensão com o auxílio de raspagem com pincel. A padronização da concentração de conídios foi feita conforme o descrito para *Alternaria helianthi*.

3.2.2. Inoculação e Avaliação da Infecção

Para este estudo com as duas espécies de *Alternaria*, foi usada a cultivar IAC ANHANDY, que segundo informações de algumas regiões produtoras de girassol é susceptível a ambos patógenos em condições de campo. Foram comparados dois métodos de inoculação: (1) - imersão de sementes em suspensão de conídios e (2) atomização de plantas com suspensão do mesmo tipo de inóculo. No ensaio de imersão metade das sementes foi inoculada sem tegumento. Neste caso, os tegumentos eram removidos após um período de 8 horas de imersão das sementes em água.

Uma vez obtidas as sementes com e sem tegumentos, essas foram embebidas nas suspensões de conídios preparadas conforme descrito no item 3.2.1., por 30 minutos. Em seguida as sementes foram semeadas em mistura de solo e esterco (proporção de 2:1) tra-

tada previamente com formalina a 2%, contidas em vasos plásticos de 4 kg de capacidade. Foram semeadas 10 sementes/vaso num total de 4 vasos por tratamento. Os vasos contendo sementes com o inóculo de *Alternaria helianthi*, foram cobertos com saco de polietileno transparente e mantidos em casa de vegetação a uma temperatura média de 28°C numa faixa de 19 a 30°C. A cobertura de polietileno foi retirada 48 horas após a semeadura.

Os vasos referentes à inoculação de sementes com *Alternaria zinniae* foram também cobertos com saco de polietileno porém levados para sala de crescimento à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob regime alternado de 12 horas de luz branca fluorescente, com 12 horas de escuro. Após 72 horas de incubação, retirou-se a cobertura plástica dos vasos, segundo estudos realizados por McDONALD & MARTENS (24).

No ensaio de inoculação de plantas, essas foram obtidas em vasos, contendo o mesmo tipo de solo, conforme descrito para o ensaio anterior. Por ocasião da inoculação, plantas com 10 dias de idade e em número de 10 por vaso, foram atomizadas com suspensões de conídios de 10^5 e $2 \cdot 10^5$ esporos/ml com auxílio de um Devilbiss. As plantas da testemunha foram atomizadas com água destilada.

Após a aplicação do inóculo, as plantas foram cobertas com saco polietileno transparente. Plantas inoculadas com *A. helianthi* foram incubadas em casa de vegetação, em condições semelhantes àquelas referidas no ensaio de inoculação de sementes. Da

mesma forma as plantas inoculadas com *A. zinniae* foram mantidas no mesmo ambiente usado no ensaio de inoculação de sementes com este fungo. As coberturas plásticas neste ensaio foram retiradas após 12 horas de incubação para *A. helianthi*, conforme ALLEN et alii (4) e 72 horas para *A. zinniae* conforme McDONALD & MARTENS (24).

A avaliação dos efeitos nos ensaios de inoculações de sementes foi feita aos 25 dias para *Alternaria helianthi* e 15 dias da semeadura para *Alternaria zinniae*.

Nos ensaios de inoculações de plantas, a avaliação foi feita aos 10 dias da aplicação do inóculo para *A. helianthi* e aos 5 dias para *A. zinniae*.

Foram avaliados nestes ensaios os parâmetros: índice de doença, stand final de plantas, peso verde e peso seco da parte aérea destas. No ensaio de inoculação de sementes avaliou-se também a altura de planta.

3.2.2.1. Índice de Doença (%)

O índice de doença (ID) foi obtido segundo MCKINNEY (24). Este índice é calculado com base em escala de notas de infecção, aplicando-se a fórmula:

$$ID = \Sigma \frac{(f \cdot n)}{F \cdot N} \cdot 100 \quad \text{onde}$$

ID = índice de doença

f = número de plantas em cada nota da escala

n = grau de infecção da escala

F = número total de plantas inoculadas

N = grau máximo de infecção

Para o caso de *Alternaria helianthi* a escala de notas es tabelecida foi a seguinte:

- 0 - Plantas sem lesões.
- 1 - Plantas levemente infectadas; lesões pequenas e espaçadas com halos cloróticos nas folhas.
- 2 - Plantas moderadamente lesionadas; lesões marrom-escuras com centro acinzentado, algumas vezes, com zonas concêntricas nas folhas.
- 3 - Plantas severamente atacadas; manchas marrom-escuras coalescentes algumas folhas secas, devido à coalescência das lesões, caules quebrados fortemente lesionados.
- 4 - Plantas mortas.

E para *Alternaria zinniae*:

- 0 - Plantas sem lesões.
- 1 - Plantas com poucas e pequenas lesões foliares sem crestamento.
- 2 - Plantas com início de encharcamento no caule e lesões mais se veras nas folhas.
- 3 - Plantas com lesões profundas e coalescidas nas folhas e has-tes. Algumas plantas apresentam-se mortas.

3.2.2.2. Stand Final de Plantas (%)

O número de plantas sobreviventes foi avaliado por ocasião das avaliações das infecções de todos os ensaios.

3.2.2.3. Altura de Plantas (cm)

A altura da parte aérea das plantas foi avaliada ao final dos experimentos referentes à inoculação de sementes.

3.2.2.4. Peso Verde de Plantas (g)

Para obtenção deste parâmetro, computou-se o peso verde da parte aérea das plantas, colhidas ao final de cada experimento. As plantas foram cortadas com o auxílio de uma tesoura na região do colo e posteriormente pesadas em balança de precisão.

3.2.2.5. Peso Seco das Plantas (g)

Após a avaliação do peso verde, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas dentro de uma estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 50°C. As plantas permaneceram na estufa durante sete dias até atingir peso constante, ocasião em que foram pesadas em balança de precisão.

3.3. Patogenicidade de *Sclerotinia sclerotiorum* ao Girassol na Fase Inicial de Desenvolvimento a partir de Sementes Inoculadas em Condições Controladas

Neste ensaio foram usados 3 tipos de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum*, quais sejam, escleródio, ascosporos e micélio produzido em meio de cultura.

3.3.1. Obtenção e Preparo do Inóculo

3.3.1.1. Obtenção de Escleródios

Os escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizados foram coletados a partir de restos culturais de soja e do solo em áreas atacadas pelo fungo na região de São Gotardo-MG.

3.3.1.2. Produção de Ascosporos

Para produção de apotécios, foram utilizados escleródios de procedência igual ao descrito no item 3.4.1.1. Após serem esterilizados por 30 segundos numa mistura de 5,25% de hipoclorito de sódio e álcool etílico a 95% numa proporção de 1:1, os escleródios foram colocados em placas de petri de 9 cm de diâmetro (20 escleródios/placa), contendo meio ágar-água a 2% previamente autoclavado, segundo metodologia utilizada por HOES & HUANG (21).

As placas foram incubadas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob regime de 12 horas de luz negra alternado com 12 horas de escuro. Após 3 a 4 semanas os apotécios foram formados a partir dos escleródios.

A partir dos apotécios obteve-se uma suspensão de ascosporos segundo metodologia de SUTTON & DEVERALL (42). Neste método as placas contendo os apotécios foram vertidas e mantidas por 10 minutos sobre uma cuba de vidro com o mesmo diâmetro (9 cm), contendo água destilada. Nestas condições, os ascosporos eram liberados e depositados sobre a superfície da água. Utilizou-se uma suspensão com concentração de 10^5 ascosporos/ml, que foi preparada com o auxílio da câmara de contagem Newbauer.

3.3.1.3. Produção de Micélio

Para a produção de micélio, utilizou-se um isolamento fornecido pela micoteca do Departamento de Fitossanidade da ESAL, que fora obtido de uma planta de soja procedente do município de São Gotardo-MG. O fungo foi cultivado em meio BDA e incubado por 7 dias a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob regime de 12 horas de luz negra alternado com 12 horas de escuro. Por ocasião do uso deste inóculo as placas se apresentavam completamente cobertas com micélio do referido fungo.

3.4. Inoculação e Avaliação da Infecção

Sementes das cultivares DK180 e IAC ANHANDY foram semeadas em solo contido em vasos plásticos (capacidade de 4 kg) em número de 10 sementes por vaso. O solo utilizado constou de mistura de terra e matéria orgânica na proporção de 2:1 e tratada previamente com formalina a 2%. As sementes inoculadas e não inoculadas foram plantadas a uma profundidade de 1,5 cm e cobertas superficialmente com solo. Todas as sementes utilizadas neste ensaio tiveram o seu tegumento removido.

A inoculação com escleródios foi feita incorporando 20 desses na camada superior de solo a uma profundidade de 2 cm por vaso. A inoculação com ascosporos, foi feita através de imersão das sementes na suspensão desse tipo de inóculo por 30 minutos. Já a inoculação com micélio foi realizada misturando-se as sementes com o micélio produzido na superfície do meio BDA em placas de Petri.

Após o plantio, todos os vasos foram cobertos com polietileno transparente e colocados em câmara de crescimento com temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 7 dias, conforme GOULART (19). Findo este período retirou-se o polietileno e manteve-se os vasos neste ambiente por mais 21 dias. Nesta ocasião realizou-se a avaliação considerando-se os seguintes parâmetros: ocorrência de plantas doentes, emergência de plantas, altura, peso verde e peso seco da parte aérea, conforme metodologia utilizada para os ensaios envolvendo *A. helianthi* e *A. zinniae*.

3.5. Delineamento Experimental

Para o ensaio de inoculação em sementes com as duas espécies de *Alternaria* utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 2 x 3 com 4 repetições, sendo os seguintes fatores: duas condições de sementes inoculadas, ou seja sementes com e sem tegumento e, duas concentrações de inóculo, 10^5 e 2.10^5 esporos/ml mais a testemunha. No ensaio de inoculação de plantas foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, utilizando a cultivar IAC Anhandy e duas concentrações de inóculo 10^5 e 2.10^5 esporos/ml mais testemunha, com quatro repetições.

Para o ensaio de inoculações com *Sclerotinia sclerotiorum* utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 2 x 4, sendo usadas as cultivares IAC ANHANDY e DK 180 e os tipos de inóculo, ascosporos, micélio e escleródios mais a testemunha com 4 repetições.

As médias foram testadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Detecção dos Níveis de Ocorrência de Fungos em Sementes de Girassol

Os níveis de ocorrência dos fungos detectados em sementes de girassol através de dois testes de sanidade, estão contidos no Quadro 2.

Os resultados mostram que 29 gêneros estiveram presentes em pelo menos uma amostra analisada, sendo: *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis cinerea*, considerados como dos mais importantes patógenos à cultura do girassol, transmissíveis por sementes, desta planta de acordo com RICHARDSON (36) e ZIMMER & HOES (46).

Em termos de distribuição entre às amostras examinadas, *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Botrytis cinerea* foram os mais frequentes. *Sclerotinia sclerotiorum* que é potencialmente o mais importante patógeno do girassol em nossas condições, esteve presente em 9,0% das amostras. De certa forma essa proporção de

QUADRO 2 - Níveis de ocorrência e frequência de fungos em sementes de girassol detectados pelos métodos de incubação em papel de filtro e em ágar. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Fungos	Nível Médio %		Nível Máximo %		Amostras Infectadas %	
	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar
Absidia sp	0,33	0,33	0,33	3,00	2,27	2,27
Alternaria alternata	44,95	41,26	93,00	132,00	79,54	59,09
Alternaria longuissima	0,33	0,00	0,33	0,00	2,27	0,00
Alternaria helianthi	2,21	0,59	10,66	1,00	34,09	11,36
Alternaria solani	0,00	0,33	0,00	0,33	0,00	2,27
Alternaria zinniae	3,26	1,26	9,00	3,33	36,36	36,36
Ascochyta sp	0,99	0,66	1,66	1,33	45,45	13,64
Aspergillus sp	24,43	6,69	71,33	50,00	68,18	75,99
Botryodiplodia theobromae	2,26	3,44	8,00	7,33	11,36	6,82
Botrytis cinerea	2,49	3,73	8,00	6,33	9,09	11,36
Cladosporium cladosporioides	15,03	6,16	58,33	28,66	84,09	81,82
Chaetomium atrosporum	0,00	0,33	0,00	0,33	0,00	2,27
Chaetomium elatum	2,16	0,33	4,00	0,33	4,54	2,27
Chaetomium globosum	3,06	8,64	11,00	56,33	11,36	81,82
Chaetomium spinosum	4,00	0,94	4,00	1,66	2,27	13,64
Chaetomium sp	2,99	4,67	18,00	30,00	45,45	54,54
Colletotrichum graminicola	0,33	0,33	0,33	0,33	2,27	2,27
Curvularia sp	0,33	1,08	0,33	3,33	2,27	9,09
Diplodia sp	0,00	2,16	0,00	4,00	0,00	4,54
Epicoccum purpurencens	1,15	1,10	4,00	3,00	47,72	34,10
Fusarium acuminatum	0,44	0,00	0,66	0,00	6,82	0,00
Fusarium equiseti	0,44	0,66	0,66	1,33	6,82	9,09
Fusarium moliniiforme	0,99	1,13	3,33	3,33	52,27	45,45
Fusarium oxysporum	2,01	4,29	3,66	6,66	54,54	45,45
Fusarium semitectum	1,77	1,10	2,00	1,66	6,89	6,18
Helminthosporium sp	1,15	0,33	4,00	0,33	29,54	20,45
Nigrospora sphaerica	1,94	2,05	8,00	8,00	31,81	54,54
Papularia arundinis	2,24	0,66	5,66	0,66	9,09	2,27
Penicillium sp	8,58	1,05	26,00	4,66	47,72	7,66
Periconia digitata	1,74	0,33	4,33	0,33	9,09	2,27
Pestalotia sp	0,83	0,66	1,33	0,66	4,54	4,54
Phoma sp	1,18	0,96	2,33	3,33	25,00	41,18
Phomopsis sp	1,62	5,33	3,33	25,33	18,18	34,10
Rhizoctonia solani	0,33	0,00	0,33	0,00	2,27	0,00
Rhizopus stolonifer	5,90	7,59	16,66	89,33	25,00	45,45
Scapulariopsis brevicaulis	0,33	0,33	0,33	0,33	2,27	2,27
Sclerotinia sclerotiorum	0,41	0,00	0,66	0,00	9,09	0,00
Syncephalastrum sp	15,03	0,77	58,33	1,66	11,36	6,82
Trichoderma viridis	1,39	1,66	9,33	3,00	31,82	6,82
Ulocladium sp	1,39	0,33	9,33	0,33	34,09	14,54
Verticillium sp	0,74	0,77	1,00	1,66	9,09	6,82

ocorrência de *Sclerotinia* confirma trabalho anterior de HENNING (20) que em levantamento da microflora de sementes de girassol encontrou apenas 14% das amostras portadoras de *Sclerotinia sclerotiorum*, utilizando-se os métodos convencionais de sanidade de sementes. HOMECHIN (22) detectou uma maior proporção do referido fungo em sementes de girassol usando-se método de incubação em ágar padrão numa temperatura de 10°C.

Do total de amostras analisadas, 34,09% apresentaram *Alternaria helianthi*, detectadas pelo método de papel de filtro, com níveis médio e máximo de ocorrência de 2,26% e 10,66% respectivamente. Esses índices assemelham-se àqueles encontrados por HENNING (20) no estado do Paraná, onde *Alternaria helianthi* ocorreu em níveis médio de 3,42 e níveis máximo de 14,5%.

Alternaria zinniae conforme mostra o Quadro 2, ocorreu em níveis médio e máximo de 3,26% e 9,00% respectivamente, pelo método de papel de filtro. Estes dados são relativamente baixos quando comparados àqueles encontrados por HENNING (20), onde o referido fungo apresentou-se em níveis médio e máximo de 7,75 e 25,5% respectivamente.

Considerando-se que o teste de incubação em ágar indica a posição mais interna do inóculo em relação aos componentes das sementes, nota-se que em geral os valores médios de ocorrência dos fungos foram menores através deste método, quando comparados com os resultados do teste de incubação em papel de filtro. Dos fungos patogênicos ao girassol nota-se que apenas *Rhizoctonia golani* e

Sclerotinia sclerotiorum não foram detectados pelo referido método. Os resultados do presente levantamento ressaltam também a ocorrência de altas proporções de *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp, *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Epim^{cc}ocum purpureocens*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium* sp, que são considerados saprofitas, não causando danos ao girassol no campo. Por outro lado fungos como *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp podem causar sérios problemas ao girassol na fase de armazenamento, provocando podridão das sementes e impedindo a germinação das mesmas, segundo CHALUAT & CÁCERES (11). Outros saprofitas como *Absidia* sp, *Curvularia* sp, *Helminthosporium* sp, *Papularia arundinis*, *Periconia digitata*, *Syncephalastrum* sp, *Ulocladium* sp, *Scapulariopsis brevicaulis*, *Rhizopus stolonifer* foram constatados em menor frequência.

Um grupo de fungos constituídos por *Alternaria longuissima*, *Ascochyta* sp, *Botryodiplodia theobromae*, *Diplodia* sp, *Fusarium* sp, *Phomopsis* sp, e *Verticillium* sp, deve merecer bastante atenção, uma vez que engloba espécies patogênicas ao girassol ou mesmo a outros hospedeiros de interesse no Brasil.

Vale salientar ainda que fungos de grande importância ao girassol no Brasil tais como *Plasmopora halstedii* e *Puccinia helianthi* não foram detectados no presente trabalho, provavelmente em razão da metodologia utilizada. Através de métodos de incubação de sementes, os referidos fungos na condição de parasitas obrigatórios não formam estruturas que possibilitem suas identifica-

ções de maneira segura. Para tais fungos métodos especiais de detecção são requeridos.

Com relação à predominância geográfica de *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Sclerotinia sclerotiorum* detectados neste trabalho, apesar das limitações de natureza estatística, em termos de direcionar a amostragem das sementes, analisadas, vê-se, pelo Quadro 3, que as amostras procedentes de Uberaba (MG) e Campinas (SP) indicam que nessas regiões, a produção de sementes de girassol deve exigir por parte dos órgãos de assistência técnica a aplicação de um conjunto de medidas que visem a redução do inóculo já estabelecido. A pouca frequência de fungos nos municípios de Lavras (MG), Cravinhos (SP) e Andirá (PR) deve-se provavelmente ao número restrito de amostras analisadas destes municípios.

Por outro lado a presença de *S. sclerotiorum*, nas amostras de Campinas (SP), Londrina (PR) e Uberaba (MG) evidencia uma maior gravidade no que se refere ao uso destas áreas para produção de sementes. Por se tratar de um fungo de solo e que dissemina também pelo ar SUTTON & DEVERALL (42) faz com que o uso de sementes destas áreas, seja extremamente controlado do ponto de vista de vigilância sanitária. Os níveis de 5,33 e 4,86% para *A. zinniae* em sementes procedentes de Cravinhos (SP) e Campinas (SP) indicam uma presença expressiva deste patógeno em campos de produção destes municípios.

O nível médio de ocorrência de *A. helianthi*, *A. zinniae* e *S. sclerotiorum* em diferentes cultivares de girassol pode ser ob

QUADRO 3 - Níveis de ocorrência de *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de girassol em relação a procedência geográfica das amostras analisadas. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Procedência Geográfica	<i>Alternaria helianthi</i> %		<i>Alternaria zinniae</i> %		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> %	
	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar
Andirá (PR)	0,33	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00
Campinas (SP)	0,83	0,49	4,86	0,93	0,66	0,00
Cravinhos (SP)	0,00	0,00	0,00	5,33	0,00	0,00
Lavras (MG)	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Londrina (PR)	0,66	0,00	0,00	0,66	0,33	0,00
Uberaba (MG)	3,37	0,59	2,14	1,39	0,33	0,00

servado no Quadro 4. Nota-se que das 30 cultivares, 12 (AIRELLI, APOLLO, CONTIGH 8020, DK160, IAC EXPERIMENTAL, IMPIRA INTA, PERODOVICK, PEHUEN INTA, SPUTINIK, TALINAY, URL, VNIIMK) não tiveram sementes portadoras de nenhum dos 3 fungos considerados. É preciso que se considere entretanto que para algumas dessas cultivares foram analisadas poucas amostras (Quadro 1) e que as condições de armazenagem não foram reveladas pelos fornecedores. Isto faz com que qualquer inferência sobre o comportamento das cultivares aos patógenos referidos deva preceder de muita cautela.

De qualquer forma os dados observados indicam que as cultivares cujas sementes foram portadoras de patógenos, são suscetíveis a esses agentes em condições de campo.

Um dos aspectos que chama atenção pelo Quadro 4 é a ocorrência mais generalizada de *A. helianthi* e *A. zinniae* nas cultivares do grupo CONTISOL. De modo geral os valores dos níveis de ocorrência de ambos fungos no presente trabalho, comparados com outros trabalhos, podem ser considerados relativamente baixos, porém perigosos dependendo do destino geográfico dessas sementes.

4.2. Efeito de *Alternaria helianthi* sobre o Desenvolvimento Ini cial do Girassol

4.2.1. Efeito da Inoculação de Sementes

Os valores médios dos parâmetros avaliados neste ensaio

QUADRO 4 - Níveis de ocorrência de *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes em relação à cultivares de girassol envolvidas no levantamento de fungos em laboratório. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Cultivar	<i>Alternaria helianthi</i> %		<i>Alternaria zinniae</i> %		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> %	
	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar	Papel de Filtro	Ágar
1. AIRELLI	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2. APOLLO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3. ARMOVENSKI	0,66	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00
4. C-33	2,00	0,33	2,00	0,00	0,00	0,00
5. COEXPH-21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00
6. CONTIGH 8020	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7. CONTISOL	3,77	0,33	2,33	0,44	0,00	0,00
8. CONTISOL 112	0,33	0,00	2,33	1,00	0,00	0,00
9. CONTISOL 233	5,33	0,50	0,50	0,50	0,00	0,00
10. CONTISOL 422	0,00	0,00	2,33	3,33	0,00	0,00
11. CONTISOL 812	1,66	0,00	1,66	0,00	0,00	0,00
12. CONTISOL ESAL	3,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00
13. CORUMBA HÍBRIDO	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14. DK160	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
15. DK170	0,50	0,33	0,33	0,16	0,00	0,00
16. DK180	0,00	0,00	4,00	2,66	0,00	0,00
17. GUAACAN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18. IACANHANDY	0,55	0,33	3,38	0,72	0,16	0,00
19. IAC EXPERIMENTAL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20. IMPIRA INTA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21. PERODOVICK	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
22. PEHUEN INTA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
23. SUNBGD	0,00	0,00	2,33	0,00	0,00	0,00
24. SPUTINIK	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
25. TALINAY	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00
26. TORNADO	0,00	0,00	0,00	0,66	0,00	0,00
27. URL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
28. URUGUAI	0,00	0,00	1,00	0,88	0,88	0,00
29. VNIIMK	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30. VOSHAD	0,08	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00

foram obtidos a partir da análise de variância sumarizada no Quadro 1A do Apêndice.

Os Quadros 5, 6 e 7 mostram o comportamento da cultivar IAC ANHANDY diante de *Alternaria helianthi*. No Quadro 5, pode-se observar que o índice de doença aumentou à medida que se elevou a concentração de inóculo, sendo que o maior índice de danos ocorreu na concentração de 2.10^5 esporos/ml. De forma análoga o aumento da concentração de inóculo provocou uma redução no stand final e altura de planta. Os pesos verdes e seco das plantas não foram afetados em nenhuma das concentrações em questão.

O Quadro 6 mostra que sementes de girassol inoculadas sem tegumento apresentaram maior índice de doença e menor stand final, quando comparados às sementes inoculadas com tegumento. Não houve diferença para altura, peso verde e seco de planta entre sementes inoculadas com e sem tegumento. No Quadro 7 observa-se que o índice de doença não diferiu nas duas concentrações dentro de cada tipo de inoculação, porém houve um maior índice de doença para sementes inoculadas sem tegumento, quando comparadas àquelas com tegumento.

Os resultados obtidos nas condições deste ensaio mostram que quanto maior a concentração de inóculo de *Alternaria helianthi* maior será o índice de doença e menor o número de plantas sobreviventes. Sementes inoculadas sem tegumento resultam em plantas com índice de doença mais alto.

QUADRO 5 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com *Alternaria helianthi*. ESAL, Lavras-MG. 1987.

Concentração Esporos/ml	Valores Médios dos Parâmetros Avaliados				
	Índice de Doença %	Stand Final %	Altura de Planta (cm)	Peso Verde (g)	Peso Seco (g)
0	4,05 c	10,00a	32,92a	75,50a	4,72a
10 ⁵	45,29 b	9,60a	28,66 b	63,30a	4,59a
2.10 ⁵	47,24a	9,40 b	27,53 b	57,63a	4,37a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 6 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação, com Alter
naria helianthi, de sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com e sem
tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Valores Médios dos Parâmetros Avaliados						
Inoculação	Índice de Doença	Stand Final	Altura de Planta	Peso Verde	Peso Seco	
	%	%	(cm)	(g)	(g)	(g)
Com tegumento	26,61 b	9,82a	29,44a	67,36a	4,22a	
Sem tegumento	37,77a	9,51 b	29,97a	63,59a	4,89a	

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 7 - Efeito da concentração de esporos *A. helianthi* sobre sementes de IAC Anhandy inoculadas com e sem tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Concentração	Índice de Doença (%)	
	Com Tegumento	Sem Tegumento
0	4,05 bA	4,05 bA
10^5	36,17a B	54,41a A
$2 \cdot 10^5$	39,62a B	54,86a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.2. Efeito de Inoculação de Plantas.

Os valores médios dos parâmetros avaliados neste ensaio foram obtidos a partir de análise de variância sumarizada no Quadro 2A do Apêndice.

Conforme mostra o Quadro 8 a inoculação com *Alternaria helianthi* em plantas de girassol, proporcionou uma elevação no índice de doença nas duas concentrações utilizadas, não havendo entretanto diferenças significativas do efeito entre essas concentrações de inóculo. À medida que se aumentou a concentração de esporos, houve um efeito proporcional em relação ao stand final nos

pesos verde e seco de plantas. Embora as diferenças entre valores da testemunha e a concentração mais baixa para stand final, pesos verde e seco não tenha sido estatisticamente significativos.

Em relação ao peso seco não houve efeito significativo de nenhuma das concentrações de esporo. Vale salientar que a cultivar IAC ANHANDY, tem-se apresentado como menos susceptível a *A. helianthi* em algumas regiões conforme relatos de GODOY e GIMENES (17).

QUADRO 8 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de plantas de girassol - cultivar IAC Anhandy com *A. helianthi*. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Concentrações (esporos/ml)	Valores Médios dos Parâmetros Avaliados			
	Índice de Doença (%)	Stand Final (%)	Peso Verde (g)	Peso Seco (g)
0	4,05 b	10,00a	48,82a	3,80a
10^5	44,38a	9,47a	33,40a	2,95a
$2 \cdot 10^5$	51,12a	8,46 b	21,69 b	2,10a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



... e ...
 ... e ...
 ... e ...

... e ...
 ... e ...
 ... e ...

... e ...
 ... e ...
 ... e ...

... e ...
 ... e ...
 ... e ...

Valores Médios dos Parâmetros Avaliados		Condições	
10,00s	45,82s	2,80s	3,80s
8,4s	33,40s	2,82s	3,82s
8,4s	31,52s	2,82s	3,82s

... e ...
 ... e ...
 ... e ...

4.3. Efeito de *Alternaria zinniae* sobre Desenvolvimento Inicial do Girassol a partir de Sementes Inoculadas

4.3.1. Efeito da Inoculação de Sementes

Os valores médios dos parâmetros avaliados neste ensaio foram obtidos a partir de análise de variância, conforme apresentado no Quadro 3A do Apêndice. Nota-se: houve significância estatística apenas para as interações concentração x índice de doença.

Os Quadros 9, 10 e 11 mostram o comportamento da cultivar IAC Anhandy diante da inoculação com *Alternaria zinniae*.

No Quadro 9, observa-se que não houve diferença estatística entre os valores de índice de doença correspondentes às concentrações 10^5 e 2.10^5 esporos/ml. Porém as duas concentrações apresentaram altos índices de infecção, quando comparados com a testemunho. De forma semelhante, mas em proporções menores, o stand final e peso verde de plantas foram significativamente reduzidos em função da inoculação feita, usando-se duas concentrações de esporos.

Por outro lado, para altura e peso seco de plantas a inoculação com *A. zinniae* não causou diferenças estatísticas entre os valores avaliados, o que mostra que para esses parâmetros o efeito de *A. zinniae* é bem distinto de *A. helianthi*.

QUADRO 9 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol - cultivar IAC Anhandy, com *Alternaria zinniae*. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Concentração Esporos/ml	Valores Médios dos Parâmetros Avaliados				
	Índice de Doença %	Stand Final %	Altura de Planta (cm)	Peso Verde (g)	Peso Seco (g)
0	4,05 b	10,00a	15,69a	6,76a	0,52a
10^5	52,52a	8,83 c	14,53a	5,20 b	0,48a
2.10^5	53,75a	9,39 b	15,15a	4,79 b	0,47a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados contidos no Quadro 10, demonstram que não houve diferença entre valores correspondentes à inoculação de sementes com e sem tegumento para nenhum dos parâmetros considerados. Ao contrário do que ocorreu com *A. helianthi*, vê-se que o efeito de *A. zinniae* em sementes de girassol, não foi limitado pela presença do tegumento. Pelo Quadro 11 nota-se entretanto que, embora não tenha havido diferença entre os valores correspondentes à inoculação com e sem tegumento, para inoculação com tegumento houve uma redução no stand na concentração de 10^5 esporos/ml. Isto ocorreu talvez pelo fato de que a concentração de 10^5 esporos/ml já é suficiente para causar um alto índice de doença e qualquer concentração acima desta pode levar a redução da infecção, ao invés de uma elevação da mesma. Houve redução do stand para sementes inoculadas sem tegumento.

Alternaria zinniae inoculada em sementes de girassol causa um alto índice de doença, além de redução do stand final.

4.3.2. Efeito da Inoculação de Plantas

Os valores médios dos parâmetros considerados neste ensaio foram obtidos a partir de análise de variância sumarizado no Quadro 4A do Apêndice.

Os valores contidos no Quadro 12 demonstram que *A. zinniae* foi capaz de causar infecções à cultivar IAC Anhandy bem co-

QUADRO 10 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação com *Alternaria zinniae* em sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy com e sem tegumento. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Valores Médios dos Parâmetros Avaliados					
Inoculação de Sementes	Índice de Doença %	Stand Final %	Altura de Planta (cm)	Peso Verde (g)	Peso Seco (g)
Com Tegumento	37,38a	9,39a	14,82a	5,70a	0,49a
Sem Tegumento	36,16a	9,42a	14,44a	5,47a	0,48a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 11 - Efeito da concentração de esporos sobre sementes de IAC Anhandy inoculadas com e sem tegumento para stand final. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Concentração Esporos/ml	Inoculação de Sementes	
	Com Tegumento	Sem Tegumento
0	10,00a A	10,00a A
10^5	8,60 bA	9,06 bA
2.10^5	9,59a A	9,19 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 12 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de plantas de girassol - cultivar IAC Anhandy com *Alternaria zinniae*. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Concentração (esporos/ml)	Valores Médios dos Parâmetros Avaliados			
	Índice de Doença (%)	Stand Final (%)	Peso Verde (g)	Peso Seco (g)
0	4,05 c	10,00a	17,20a	1,02a
10^5	57,36 b	7,95 b	14,58a	1,52a
2.10^5	63,88a	7,40 b	4,66 b	1,18a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

mo reduzir o stand final e peso verde de planta, em ambas concentrações de inóculo. O aumento de concentração de inóculo provocou um efeito mais acentuado em relação ao índice de doença e peso verde. O peso seco das plantas não foi afetado pela inoculação do patógeno em questão.

Indicam esses resultados que a cultivar IAC Anhandy mostrou-se sensível a *Alternaria zinniae*, apresentando um alto índice de doença e uma considerável redução da parte aérea comparada com *A. helianthi*.

4.4. Efeito de *Sclerotinia sclerotiorum* Sobre o Desenvolvimento Inicial do Girassol a Partir de Sementes Contaminadas

O Quadro 5A do Apêndice sumariza os resultados da inoculação de sementes de girassol com diferentes tipos de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Nota-se que para nenhum dos parâmetros avaliados houve efeito significativo de *Sclerotinia sclerotiorum* comparado com a testemunha. Esses resultados indicam em princípio que o referido fungo não é capaz de prejudicar o girassol, na sua fase inicial, partindo-se de inoculação artificial de sementes.

De acordo com a literatura disponível *Sclerotinia sclerotiorum* é um patógeno que na maioria das vezes causa infecção em plantas hospedeiras, quando estas apresentam ferimentos ou após passar o fungo por uma fase de nutrição exógena (12).

QUADRO 13 - Valores médios dos parâmetros avaliados no ensaio de inoculação de sementes de girassol, com diferentes tipos de inóculo de *S. sclerotiorum*. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Tratamentos	Valores Médios dos Parâmetros Avaliados							
	Germinação (%)		Peso Verde (g)		Peso Seco (g)		Altura de Planta (cm)	
	DK 180	IAC Anhandy	DK 180	IAC Anhandy	DK 180	IAC Anhandy	DK 180	IAC Anhandy
1. Sementes inoculadas com <u>mi</u> célulo	100a	100a	11,23a	13,70a	0,66a	0,48a	16,21a	15,93a
2. Sementes plantadas em <u>subs</u> trato com escleródio	100a	100a	12,31a	15,70a	0,66a	0,51a	16,66a	16,47a
3. Sementes inoculadas com <u>as</u> cosporos	100a	100a	12,73a	14,10a	0,62a	0,57a	15,92a	16,55a
4. Sementes plantadas na <u>au</u> - sência do fungo	100a	100a	11,95a	15,40a	0,65a	0,49a	16,51a	15,74a

Médias seguidas da mesma letra, em colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Nota-se pelos índices de germinação das sementes usadas que o padrão destas por ocasião da inoculação era dos melhores. Isto provavelmente contribuiu para que o processo infeccioso causado pelo fungo não tenha se estabelecido até o período de avaliação do ensaio. Com base em trabalhos que estão sendo conduzidos por MACHADO (Comunicação pessoal) em soja e com base em estudos de GOULART (19) e MACHADO et alii (27), o nível de vigor de sementes em que se detectam danos mecânicos latentes, deve influenciar no grau de patogenicidade de *Sclerotinia sclerotiorum* ao girassol.

Os resultados do presente estudo confirmam de maneira geral trabalhos de outros pesquisadores, considerando-se diferentes hospedeiros segundo os quais, *Sclerotinia sclerotiorum* é um patógeno mais prejudicial, a partir da fase de florescimento de seus hospedeiros, SUTTON & DEVERALL (42) e ALMEIDA et alii (8).

É preciso também considerar que no presente trabalho não se estudou o efeito de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre o girassol, partindo-se de sementes contendo inóculo natural deste fungo no seu interior. Isto provavelmente implicaria em um efeito pronunciado do patógeno sobre o desenvolvimento da planta, uma vez que o ataque deste fungo é em grande parte condicionado pela presença de ferimentos dos tecidos de seus hospedeiros, CHAVES (12).

Em face dos resultados do presente estudo, fica evidenciada a necessidade de se pesquisar vários outros aspectos em pa-

tologia de sementes do girassol. Por exemplo, é extremamente importante conhecer os danos que fungos como *A. zinniae*, *A. helianthi* e *S. sclerotiorum* podem causar ao girassol, partindo de sementes infectadas no campo. Nos ensaios de inoculação de sementes, principalmente para o caso de *Sclerotinia*, torna-se fundamental utilizar diferentes classes fisiológicas de sementes, uma vez que as condições destas estruturas podem influenciar o grau de susceptibilidade ao patógeno.

5. CONCLUSÃO

1. Sementes de girassol cultivadas em algumas regiões do Brasil têm sido veículo de diversos fungos importantes à cultura, destacando-se entre eles *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. Fungos de armazenamento dos gêneros *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp foram detectados em alta frequência nas amostras e xaminadas.

3. A presença de *Alternaria helianthi* como contaminante de sementes de girassol foi capaz de causar um alto índice de doença, redução do stand, peso verde e altura de plantas. Sementes sem tegumento sofreram mais danos que sementes inoculadas com tegumento.

4. O efeito de *Alternaria zinniae* sobre o desenvolvimento inicial do girassol em altas concentrações de esporos causa um elevado índice de doença e redução do stand. Sementes inoculadas sem tegumento causam maiores infecções que aquelas inoculadas com tegumento.

5. A inoculação de sementes de girassol, sem tegumento com 3 tipos diferentes de inóculo de *Sclerotinia sclerotiorum* não foi capaz de causar danos na fase inicial de desenvolvimento da planta.

6. RESUMO

Na primeira etapa do trabalho foram avaliados os níveis de ocorrência e frequência de fungos, associados às sementes de girassol provenientes de algumas regiões produtoras no Brasil, através de dois testes de sanidade. Constatou-se a presença de 29 gêneros de fungos dos quais estão incluídos alguns da maior importância econômica. *Alternaria helianthi* ocorrem em níveis médios de 0,21% e 0,59%, *Alternaria zinniae* em níveis de 3,26% e 1,26%, *Botrytis cinerea* em níveis de 2,49% e 3,73% e *Sclerotinia sclerotiorum* em níveis de 0,41% e 0, pelos testes de incubação em papel de filtro e incubação em ágar.

Além de outros fungos patogênicos de menor importância, foram constatados altos níveis de fungos de natureza saprofítica, dentre os quais *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp, considerados de grande importância na fase de armazenamento.

Numa segunda fase do trabalho em casa de vegetação foram observados efeitos de *Alternaria helianthi* sobre o desenvolvimento inicial do girassol, inoculando sementes e plantas com 10 dias de idade. As plantas de girassol inoculadas com suspensão de espo

ros apresentou um elevado índice de doença, havendo redução no stand, no peso verde e altura de plantas, comprometendo assim o desenvolvimento inicial da planta.

Resultados semelhantes foram obtidos na inoculação de sementes e plantas de girassol com *A. zinniae* mantidas em ambiente controlado. O alto índice de doença induziu a redução do stand, peso verde e altura de plantas.

No ensaio de inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* observou-se que nenhum dos três tipos de inóculo, ascosporos, micélio e escleródios, foi capaz de causar doença a plantas de girassol, nas condições do ensaio.

7. SUMMARY

In the first stage of the work the levels of occurrence and frequency of fungi associated with sunflower seeds from some of the seed producing regions of Brazil were assessed using two standard seed health testes. The presence of 29 genera of fungi were recorded. These fungi included some pathogens of economic importance, such as *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Botrytis cinerea*, and *Sclerotinia sclerotiorum*. The mean levels of occurrence of these fungi in the Blotter and Agar testes were 2,21% and 0,59%; 3,26% and 1,26%; 2,49% and 3,73% and 0,41% respectively.

As well as other, less important, pathogenic fungi the presence of high levels of various species of *Aspergillus* and *Penicillium* was recorded. These genera are considered to be of extreme importance during the storage of seeds.

The second part of this work was carried out in the glasshouse where the effects of *Alternaria helianthi* on the initial development of sunflower was investigated seed and 10 days old plants were inoculated with the pathogen. The plants inoculated

with a suspension of conidia of *Alternaria helianthi* showed a high incidence of disease, which caused reductions in stand, fresh weight and plant height, seriously affecting the initial development of the plants.

Similar results were obtained following the inoculation of sunflower seeds and plants, maintained under controlled environmental conditions, with *Alternaria zinniae*. The high incidence of disease reduced stand, fresh weight and height of the plants.

In a trial of inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum* it was observed that none of the three types of inoculum ascospores, mycelium and sclerotia was capable of causing disease in sunflower plants under the conditions used in the trial.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABAWI, G.S. & GROGAN, R.G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of bean by *Whetzelinia sclerotiorum*. Phytopathology, St. Paul, 65(3): 300-9, Mar. 1975.
2. ADAMS, P.B.; LUMSDEN, R.D. & TATE, C.J. *Galinsoga parviflora*: a new host for *Whetzelinia sclerotiorum*. Plant Disease Reporter, Washington, 58(8):700-1, Oct. 1974.
3. ALLEN, S.J.; BROWN, J.F. & KOCHMAN, J.K. Effects of leaf age, host growth stage, leaf injury, and pollen on the infection of sunflower by *Alternaria helianthi*. Phytopathology, St. Paul, 73(6):896-8, June 1983.
4. _____; _____ & _____. Effects of temperature, dew period, and light on the growth and development of *Alternaria helianthi*. Phytopathology, St. Paul, 73(6):893-6, June 1983.

5. ALLEN, S.J.; BROWN, J.F. & KOCHMAN, J.K. The infection process sporulation and survival of *Alternaria helianthi* on sunflower. Annals of Applied Biology, London, 102(3):413-9, June 1983.
6. _____; _____ & _____. Losses in sunflower yield caused by *Alternaria helianthi* in Southern Queensland. Australian Journal of Agriculture and Animal Husbandry, Victoria, 21(108):98-100, Feb. 1981.
7. _____; _____ & _____. Production of inoculum and field assesment of *Alternaria helianthi* on sunflower. Plant Disease, Washington, 67(6):665-8, June 1983.
8. ALMEIDA, A.M.A.; MACHADO, C.C. & PANIZZI, M.C.C. Doenças do girassol; descrição de sintomas e metodologia para levantamento. Londrina, EMBRAPA-CNPSoja, 1981.. 24p. (Circular Técnica, 6).
9. AQUINO, M.L.N.; BEZERRA, J.L. & LIRA, M.A. Ocorrência do crescimento do girassol (*Helianthus annuus* L.) em Pernambuco. Revista de Agricultura, Piracicaba, 46(4):151-6, Mar. 1971.
10. BALASUBRAHMANYAM, N. & KOLTE, S.J. Effect of different intensities of *Alternaria* blight on yield and oil content of sunflower. Journal of Agricultural Science, Cambridge, 94(3):749-51, June 1980.

11. CHALUAT, M.M. & CÁCERES, S.G. Hongos presentes en semilla de girassol (*Helianthus annuus* L.). Fitopatologia, Buenos Aires, 17(1):15-23, mayo 1982.
12. CHAVES, G.M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. Experientiae, Viçosa, 4(2):64-133, fev. 1964.
13. DALL'AGNOL, A. Resultados de pesquisa de girassol. Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1985. 59p. (Documentos, 16).
14. DOMSCH, K.H.; GAMS, W. & ANDERSON, T.H. *Sclerotinia* Fuckel 1970. In: _____. Compendium of soil fungi. London, Academic Press, 1980. V.1, p.712-6.
15. DORRELL, D.G. & HUANG, H.C. Influence of *Sclerotinia* Welt on seed yield and quality of sunflower welted at different stages of development. Crop Science, Madison, 18(6):974-6, Nov./Dec. 1978.
16. FAO PRODUCTION YEARBOOK - 1984. Roma, FAO, v.38, 1985.
17. GODOY, J.R. & GIMENES, F.N. *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tu baki & Nishirara em girassol (*Helianthus annuus* L.): influência da idade da planta na suscetibilidade e na infecção de sementes. Summa Phytopathologica, Piracicaba, 11(1/2): 24, jan./jun. 1985. (Resumo de trabalhos do 8º Congresso Paulista de Fitopatologia).

18. GODOY, J.R. & GIMENES, F.N. Epidemiologia da mancha de Alternaria helianthi em girassol (Helianthus annuus L.). Summa Phytopathologica, Piracicaba, 11(1/2):1, jan./jun. 1985. (Resumos de trabalhos do XIII Congresso Paulista de Fitopatologia).
19. GOULART, A.C.P. Avaliação do nível de ocorrência e efeitos de Phomopsis sp e Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary em sementes de soja (Glycine max (L.) Merrill). Lavras, ESAL, 1984. 80p. (Tese MS).
20. HENNING, A.A. A microflora associada com sementes de girassol (Helianthus annuus L.) no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3, Campinas, 1983. Resumo de trabalhos técnicos... Brasília, ABRATES, 1983. p.88.
21. HOES, J.A. & HUANG, H.C. Sclerotinia sclerotiorum viability and separation of Sclerotiorum from soil. Phytopathology, St. Paul, 65(10):1431-2, May 1975.
22. HOMECHIN, M. Transmissão do fungo Sclerotinia sclerotiorum através de sementes de girassol (Helianthus annuus L.). Fitopatologia brasileira, Brasília, 7(1):467, fev. 1982. (Resumo do 15º Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia).

23. JEFFREY, K.K.; LIPPS, P.E. & HERR, L.J. Effects of isolate virulence, plant age and crop residues on seedling blight of sunflower caused by *Alternaria helianthi*. Phytopathology, St. Paul, 74(9):107-10, Sept. 1984.
24. McDONALD, W.C. & MARTENS, J.W. Leaf and stem spot of sunflowers caused by *Alternaria zinniae*. Phytopathology, St. Paul, 33(3):372-81, Mar. 1943.
25. MACHADO, J.C. Controle de fitopatógenos associados às sementes. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 8(91):34-40, jul. 1982.
26. _____. Studies on some seed-borne diseases of zinnia, African marigold and soybean. Manchester, University of Manchester, 1980. 187p. (Tese Ph.D).
27. _____; SILVA, S.M.; PITTIS, J.E.; SALUSTIANO, M.E. & VIEIRA, M.G.G.C. Efeito da inoculação com ascósporos de *Sclerotinia sclerotiorum* sobre a emergência de alguns cultivares de soja. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 11(2): 346, jun. 1986. (Resumo de trabalhos do 19º Congresso Brasileiro de Fitopatologia).
28. MCKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research, Washington, 26(5):195-219, 1923.

29. MENTEN, J.O.M. Diagnóstico da patologia de sementes de girassol no Brasil. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 7 (1):25-30, 1985. (Anais do I Simpósio de Patologia de Sementes).
30. MORAES, S.A.; UNGARO, M.R.G. & MENDES, B.M.J. Alternaria helianthi agente causal de doença em girassol. Campinas, Fundação Cargill, 1983. 20p.
31. NEERGAARD, P. Seed pathology. London, MacMillan, 1977. 2v.
32. PAIVA, S.B.; MENDES, B.M.J.; FRATIN, P. & MENTEN, J.O.M. Avaliação de métodos de detecção de fungos em sementes de girassol (Helianthus annuus L.). Summa Phytopathologica, Piracicaba, 10(3/4):252-9, jul./dez. 1984.
33. PALUDZYSZYN FILHO, E. Experimento 2: ensaio nacional de cultivares (variedades e híbridos) de girassol. In: EMBRAPA-CNPSO. Resultados de pesquisa de girassol - 1983. Londrina, 1983. p.45-7. (Reunião Nacional de Pesquisa de Girassol, 3, Londrina, 1983).
34. REIS, E.M. A podridão da haste da soja. Lavoura Arrozeira, Porto Alegre, 28(287):32-6, set./out. 1975.
35. RIBEIRO, I.J.A.; PARADELA FILHO, O.; SOAVE, J. & CERVELLINI, G.S. Ocorrência de Alternaria helianthi (Hansf.) Tubaki & Nishihara sobre o girassol (Helianthus annuus L.). Bragantia, Campinas, 33(17):81-5, dez. 1974.

36. RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3.ed. Zurich, ISTA, 1979. 320p.
37. _____. Supplement to an annotated list of seed-borne diseases. 3.ed. Zurich, ISTA, 1981. 78p.
38. ROLIM, A.A.B. Óleos vegetais: usos gerais. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 7(82):17-24, out. 1981.
39. SACKSTON, W.E. *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* in seed of safflower and sunflower. Plant Disease Report, Washington, 44(80):664-8, Sept. 1960.
40. SFREDO, G.J. Absorção de nutrientes de girassol (*Helianthus annuus* L.) em função da idade da planta em condições de campo. Piracicaba, ESALQ, 1983. (Tese MS).
41. SHANE, W.W.; BAUMER, J.S. & SEDERSTROM, S.G. *Alternaria helianthi*: a pathogen of sunflower new to Minnesota. Plant Disease, Washington, 65(3):269-71, Mar. 1981.
42. SUTTON, D.C. & DEVERALL, B.J. Studies on infection of bean (*Phaseolus vulgaris*) and soybean (*Glycine max*) by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Pathology, Oxford, 32(3):251-61, Sept. 1983.
43. TANAKA, M.A. Doenças do girassol. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 7(82):84-6, out. 1981.

44. UNGARO, M.R.G. Recomendações técnicas para o cultivo do girasol. Correio Agrícola, São Paulo, (2):314-9, fev. 1981.
45. ZAK, L.F. Enfermedades y plagas del girasol en Mexico. Chapingo, Escuela Nacional de Agricultura, 1976. 77p.
46. ZIMMER, D.E. & HOES, J.A. Diseases. In: CARTER, J.F., ed. Sunflower science and technology. Madison, American Society and Agronomy, 1978. p.225-62.

APÊNDICE

QUADRO 1A - Resumo de análise de variância do ensaio de inoculação de *Alternaria helianthi* em sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios dos Parâmetros Avaliados				
		Índice de Doença	Stand Final	Altura de Planta	Peso Verde	Peso Seco
Inoculação (A)	1	747,0500**	0,5766*	1,7120NS	85,3200NS	2,6867NS
Concentração (B)	2	4.760,4315**	0,7375**	129,3120**	667,3150NS	0,2394NS
A x B	2	191,2325**	0,1513NS	18,2580NS	283,2200NS	0,3628NS
Erro	18	4,0400	0,1184	189,7120	207,8311	1,4674
T O T A L	23	10.723,1030	4,4865	338,9940	572,3500	30,3045
CV %	-	6,24	3,55	10,93	22,01	26,56

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

NS Não significativo.

QUADRO 2A - Resumo da análise de variância de variância do ensaio de inoculação de Alternaria helianthi em plantas de girassol da cultivar IAC Anhandy. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios dos Parâmetros Avaliados			
		Índice de Doença	Stand Final	Peso Verde	Peso Seco
Tratamentos	2	2.592,017**	2,44845*	740,3785NS	2,8930NS
Erro	9	32,7220	0,5046	187,5502	1,2226
T O T A L	11	5.478,532	9,4389	3.168,709	16,7900
CV %	-	17,24	7,62	39,53	37,48

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

NS Não significativo.

QUADRO 3A - Resumo de análise de variância do ensaio de inoculação de *Alternaria zinniae* em sementes de girassol da cultivar IAC Anhandy. ESAL, Lavras - MG. 1987.

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios dos Parâmetros Avaliados				
		Índice de Doença	Stand Final	Altura de Plantas	Peso Verde	Peso Seco
Inoculação (A)	1	8,8820NS	0,0013NS	2,3251NS	0,3037NS	0,0040NS
Concentração (B)	2	12.857,9120**	2,7103**	2,7202NS	8,6550**	0,0220NS
A x B	2	103,9410NS	3,0757**	4,5278NS	0,6643NS	0,0254NS
Erro	18	546,0820	0,1271	1,7736	0,6490	0,0023
T O T A L	23	13.516,8170	13,8636	48,7470	30,6257	0,1404
CV %		14,97	3,78	8,80	14,43	10,65

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

NS Não significativo.

QUADRO 4A - Resumo da análise de variância do ensaio de inoculação de *Alternaria zin*
niae em plantas de girassol da cultivar IAC Anhandy. ESAL, Lavras - MG.
 1987.

Causa de Variação	G.L.	Quadrados Médios dos Parâmetros Avaliados			
		Índice da Doença	Stand Final	Peso Verde	Peso Seco
Tratamentos	2	4.309,7085**	7.4905**	174,9644*	0,2596NS
Erro	9	21,5746	0,8218	30,8954	0,1581
T O T A L	11	8.814,134	22,3746	627,9876	1,9425
CV %	-	11,12	11,36	45,74	33,41

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

NS Não significativo.

QUADRO 5A - Resumo das análises de variância dos dados correspondentes aos parâmetros avaliados no ensaio onde duas cultivares de girassol foram submetidas a diferentes métodos de inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* em ambiente controlado. ESAL, Lavras - MG. 1987.

F.V.	G.L.	Q.M. e Significância dos Parâmetros Avaliados		
		Peso Verde	Peso Seco	Altura
Tratamento	3	3,5444NS	0,0013NS	0,3866NS
Cultivar	1	57,4592NS	0,1391NS	0,1906NS
Tratamento x Cultivar	3	5,8118NS	0,0079NS	0,6677NS
Erro	24	30,5612NS	0,0027NS	0,1859NS
T O T A L	31	104,4655	0,2330	47,9726
CV %		8,43	9,04	8,39

NS Não significativo.