

Avaliação de genótipos de girassol para resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas

Luis Guilherme Semenghini Bernardelli¹; Maria Cristina N. de Oliveira²; Regina M. V. B. C. Leite²

¹Curso de Agronomia, UNOPAR, Londrina, PR; ²Embrapa Soja, Londrina, PR. e-mail: regina.leite@embrapa.br

Introdução

No Brasil, as lavouras de girassol semeadas imediatamente após a colheita da safra de verão, nos meses de fevereiro a maio, ou seja, na “safrinha”, podem ficar expostas às condições de umidade e temperatura favoráveis ao desenvolvimento da podridão branca de capítulo e haste, também conhecida como mofo branco, causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (LEITE et al., 2000).

No mundo, esse fungo é considerado o patógeno mais importante para o girassol e está distribuído em todas as regiões produtoras. A podridão branca pode causar a queda de aquênios ou do capítulo, resultando em perda total da produção. Além desses prejuízos, o fungo persiste durante muitos anos no solo, na forma de estruturas

de resistência denominadas escleródios, tornando-se um problema permanente para o girassol e para outras espécies suscetíveis cultivadas na mesma área (ZIMMER; HOES, 1978; MASIREVIC; GULYA, 1992).

Sclerotinia sclerotiorum pode causar sintomas nos diferentes órgãos da planta de girassol. Na base da haste, o primeiro sintoma observado é uma murcha súbita da planta sem lesões foliares. A lesão é marrom-clara, mole e encharcada, podendo ser recoberta com o micélio branco. Muitos escleródios são encontrados dentro da porção colonizada na haste. Os sintomas da podridão do capítulo caracterizam-se por lesões pardas e encharcadas no lado dorsal do capítulo, com micélio branco cobrindo porções dos tecidos. Um grande número de escleródios é encontrado no interior do capítulo. No final, ocorre a completa desintegração do capítulo, com os elementos vasculares fibrosos expostos, assemelhando-se a uma vassoura. Massas de aquênios e escleródios caem na base da planta (ZIMMER; HOES, 1978; MASIREVIC; GULYA, 1992).

O controle da podridão branca é dificultado por causa da permanência de escleródios viáveis por um longo tempo no solo, do fato de que os ascósporos que produzem a infecção aérea podem ser provenientes de escleródios existentes a longas distâncias, da falta de controle químico eficaz e da alta suscetibilidade dos genótipos de girassol cultivados (GULYA et al., 1997). A resistência genética à podridão basal e à podridão do capítulo tem sido estudada em condições de campo em vários países, inclusive no Brasil (LEITE, 2005; LEITE et al., 2007; LEITE et al., 2011; LEITE; OLIVEIRA, 2013).

As observações em condições de campo podem ser inconsistentes em razão da não uniformidade da ocorrência da doença no campo e das diferenças na maturidade das cultivares ou arquitetura da planta, que podem influenciar o processo de infecção (BRADLEY; DEL RIO, 2004). Vários métodos de inoculação em condições ambientais

controladas têm sido avaliados para essa finalidade. A técnica de inoculação em folhas destacadas para avaliar a reação de cultivares a *S. sclerotiorum* tem sido utilizada em colza (BAILEY, 1987), canola (BRADLEY; DEL RIO, 2004) e soja (GARCIA; JULIATTI, 2012). Em girassol, a técnica já foi utilizada para avaliação de ferrugem causada por *Puccinia helianthi* (HENNESSY; SACKSTON, 1970).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas.

Material e métodos

Os experimentos de inoculação de folhas destacadas de girassol foram conduzidos no laboratório e casa de vegetação da Área de Fitopatologia da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Plantas de 18 genótipos de girassol, constituídos por cultivares comerciais utilizadas no Brasil ou por materiais em fase final de avaliação do potencial produtivo em ensaios de Valor de Cultivo e Uso, foram cultivadas em casa de vegetação, com temperatura e irrigação controladas. Para cada genótipo, foram utilizados três vasos, onde foram semeadas 10 sementes. No estágio fenológico V2, foi feito o desbaste, deixando quatro plantas por vaso. Quando as plantas atingiram o estágio V4, foi feita a coleta das folhas destacadas, para inoculação em laboratório.

Escleródios do fungo foram coletados de um campo de girassol infectado localizado em Mauá da Serra-PR e cultivado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para obtenção de isolado para inoculação. O isolado foi conservado em câmara fria. O fungo foi repicado para meio de BDA em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, que foram incubadas em BOD a 19 °C por dois dias no escuro, para produzir micélio para inoculação das folhas destacadas.

Placas de Petri de 15 cm de diâmetro foram higienizadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 20% e deixadas secar naturalmente. Após identificação de acordo com os nomes dos genótipos, foram

colocados dois papéis de filtro saturados com 7 mL de água destilada em cada placa. A coleta e a distribuição de duas folhas destacadas por placa foram realizadas na própria casa de vegetação, para não haver desidratação no transporte até o laboratório.

A inoculação foi realizada em laboratório, em câmara de fluxo unidirecional horizontal. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram cortados das margens das colônias cultivadas em BDA por dois dias e aplicados em contato direto com a face superior da folha destacada. Foi aplicado um disco no centro de cada folha. As placas foram colocadas em sacos plásticos umedecidos, que foram acondicionados em câmara de germinação, com temperatura de 19° C e 12 horas de fotoperíodo com luz fluorescente, durante 96 horas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 18 tratamentos (genótipos) e três repetições. Cada parcela foi representada por uma placa contendo duas folhas destacadas.

As avaliações de severidade da doença consideraram a porcentagem da área foliar colonizada pelo fungo, que foi estimada visualmente em cada folha destacada. Foram feitas quatro avaliações: a primeira 24 horas após a inoculação (dia 1), a segunda com 48 horas (dia 2), a terceira com 72 horas (dia 3) e a quarta com 96 horas (dia 4). A área abaixo da curva de progresso da doença (*AACPD*) foi usada para sumarizar o progresso da severidade da doença e foi calculada de

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} ((X_i + X_{i+1})/2)(t_{i+1} - t_i)$$

onde $X_i = X(t_i)$, n foi o número de avaliações, X foi a severidade da doença (em %) e $(t_{i+1} - t_i)$ foi o intervalo entre duas avaliações consecutivas (em dias).

Os dados de severidade da doença (%) e de *AACPD* foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Statistica (STATSOFT, 1995). Para garantir a reprodutibilidade dos resultados, o experimento foi repetido três vezes.

Resultados e discussão

Os resultados dos três experimentos implantados em 31/06/2014, 07/04/2014 e 28/07/2014 estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Observou-se que todos os genótipos avaliados foram infectados pelo fungo *S. sclerotiorum* nas folhas. Nenhum material foi imune à infecção na folha. De fato, muitos trabalhos indicam a falta de imunidade do girassol cultivado e de outras espécies selvagens, semelhante ao que se observa em todas as espécies de plantas que são afetadas por *S. sclerotiorum* (GULYA et al., 1997).

Observou-se que o fungo colonizou rapidamente as folhas de girassol, atingindo até 100% da área foliar 96 horas após a inoculação.

A variável *AACPD*, que mede o progresso da doença, conseguiu diferenciar os genótipos nos três experimentos, sendo que apenas os híbridos de girassol HLA 2012, CF 101, PARAISO 20, Helio 250 e SRM779 CL apresentaram menor *AACPD* nas três vezes que o experimento foi repetido (Tabelas 1 a 3). Deve-se ressaltar que, com a técnica utilizada, foi possível obter alta severidade da doença em todos os genótipos, o que nem sempre ocorre no campo. Estudos em condições de campo devem ser realizados para confirmar se esses genótipos apresentam maior nível de resistência à doença quando submetidos a condições favoráveis para a epidemia.

Os dados confirmam a observação de que não existem, até o presente, híbridos ou variedades comerciais que possuam nível de resistência adequado para cultivo em condições favoráveis à doença (MASIREVIC; GULYA, 1992; LEITE, 2005; LEITE et al., 2007; LEITE et al., 2011; LEITE; OLIVEIRA, 2013). Esforços devem ser empreendidos para prevenir a ocorrência da doença, evitando-se épocas e locais de maior favorabilidade climática para a doença.

Conclusão

Todos os genótipos testados são suscetíveis à infecção por *S. sclerotiorum* em folhas destacadas.

Agradecimentos

Ao técnico Allan Misael Flausino, pelo auxílio na condução dos experimentos.

Referências

BAILEY, D. J. Screening for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape using detached leaves. **Annals of Applied Biology**, v. 110 (suplemento), p.152-153, 1987.

BRADLEY, C. A.; DEL RIO, L. E. Evaluation of canola cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* using petiole and detached leaf inoculation. **Phytopathology**, v. 94, n. 6 (suplemento), p.S157, 2004.

BERGAMIN FILHO, A.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; HAU, B. Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: relationships between disease, healthy leaf area, and yield. **Phytopathology**, v. 87, p. 506-515, 1997.

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

GULYA, T. J.; RASHID, K. Y.; MASIREVIC, S. M. Sunflower diseases. In: SCHNEITER, A. A. (Ed.). **Sunflower technology and production**. **Madison: American Society of Agronomy**, 1997. p. 263-379.

HENNESSY, C. M.; SACKSTON, W. E. Studies on sunflower rust .5. Culture of *Puccinia helianthi* throughout its complete life cycle on detached leaves of sunflower (*Helianthus annuus*). **Canadian Journal of Botany**, v. 48, n. 10, p. 1811-1813, 1970.

LEITE, R. M. V. B. C. Avaliação da resistência de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 16., Londrina, 2005. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 105-107.

LEITE, R. M. V. B. C.; DORIGHELLO, D. V.; MELLO, F. E.; OLIVEIRA, M. C. N. Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2009 e 2010. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 19., Aracaju, 2011. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p.159-162.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, F. A. de; CASTRO, C. Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2005 e 2006. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 17., Uberaba, 2007. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2007. p. 32-35.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, M. C. N. de Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2012 e 2013. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 20.; SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE A CULTURA DO GIRASSOL, 8., 2013, Cuiabá. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 70-73.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, M. F.; VIEIRA, O. V.; CASTIGLIONI, V. B. R. Incidência da podridão branca causada por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol semeado após a colheita da safra de verão, no Estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 81-84, 2000.

MASIREVIC, S.; GULYA, T. J. *Sclerotinia* and *Phomopsis* - two devastating sunflower pathogens. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 30, p. 271- 300, 1992.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA for windows**: computer program manual. Tulsa, Oklahoma, USA, 1995.

ZIMMER, D. E.; HOES, J. A. Diseases. In: CARTER, J. F. (Ed.). **Sunflower science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 1978. p. 225-262.

Tabela 1. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 31/03/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,17 a	62,50 a	98,33 a	100,00 a	211,92 a
MG 305	0,17 b	14,83 b	64,17 c	95,83 a	127,00 b
MG 360	1,33 b	50,00 a	87,83 a	100,00 a	188,50 a
SYN					
3950HO	1,00 b	52,17 a	93,67 a	100,00 a	197,08 a
SYN 3840	2,33 a	75,83 a	100,00 a	100,00 a	227,00 a
HLA 2012	0,50 b	14,83 b	78,33 b	98,67 a	142,75 b
BRS G42	2,00 a	34,33 b	86,17 a	100,00 a	171,50 b
BRS 323	2,00 a	63,83 a	98,67 a	100,00 a	213,50 a
CF 101	1,50 a	29,17 b	77,17 b	98,83 a	156,50 b
ADV 5504	1,67 a	27,50 b	84,33 a	98,33 a	161,83 b
Aguará 04	1,00 b	41,67 b	80,67 b	95,00 a	171,00 b
Aguará 06	2,50 a	76,33 a	98,00 a	100,00 a	225,58 a
GNZ Neon	0,83 b	31,50 b	88,50 a	100,00 a	170,42 b
Paraiso 20	1,67 a	38,83 b	92,83 a	100,00 a	182,50 b
Helio 250	0,17 b	15,00 b	58,75 c	97,83 a	133,67 b
Helio 251	2,50 a	65,83 a	98,67 a	100,00 a	215,75 a
SRM767	1,33 b	65,83 a	98,17 a	100,00 a	214,67 a
SRM779					
CL	2,00 a	22,67 b	89,17 a	100,00 a	162,83 b
Média	1,50	43,48	87,95	99,14	181,89
C.V. (%)	49,84	36,56	9,95	2,50	13,24

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 07/04/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,67 a	57,50 a	91,00 a	100,00 a	188,17 a
MG 305	1,00 b	15,17 d	85,00 a	96,67 b	149,00 b
MG 360	1,50 b	18,83 d	75,83 b	96,50 b	143,67 b
SYN					
3950HO	1,17 b	23,00 c	85,83 a	100,00 a	159,42 a
SYN 3840	2,00 a	47,50 a	70,00 b	98,33 a	166,33 a
HLA 2012	1,17 b	17,67 d	77,50 b	100,00 a	145,75 b
BRS G42	2,00 a	24,67 c	87,83 a	100,00 a	163,50 a
BRS 323	2,17 a	27,50 c	66,75 b	95,50 b	150,83 b
CF 101	1,33 b	19,67 d	81,25 a	99,00 a	141,50 b
ADV 5504	2,17 a	27,00 c	88,83 a	100,00 a	166,92 a
Aguará 04	1,83 a	30,83 c	87,17 a	99,67 a	168,75 a
Aguará 06	1,50 b	25,67 c	87,67 a	100,00 a	164,08 a
GNZ Neon	2,00 a	25,50 c	93,33 a	100,00 a	169,83 a
Paraiso 20	1,50 b	24,67 c	91,25 a	96,67 b	154,58 b
Helio 250	1,00 b	18,50 d	88,33 a	100,00 a	157,33 b
Helio 251	1,83 a	35,83 b	92,17 a	99,67 a	178,75 a
SRM767	1,33 b	32,50 c	90,33 a	99,67 a	173,33 a
SRM779					
CL	0,83 b	14,17 d	74,17 b	96,83 b	137,17 b
Média	1,60	27,01	84,67	98,81	159,94
C.V. (%)	29,18	9,44	6,36	2,30	8,99

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 28/07/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,00 a	66,17 a	100,00 a	100,00 a	217,17 a
MG 305	2,67 a	75,83 a	99,17 a	100,00 a	226,33 a
MG 360	1,83 a	39,17 b	94,00 a	100,00 a	178,58 b
SYN					
3950HO	2,00 a	52,50 a	99,67 a	100,00 a	203,17 a
SYN 3840	2,33 a	55,00 a	99,50 a	100,00 a	205,67 a
HLA 2012	1,50 b	40,83 b	81,25 c	100,00 a	178,75 b
BRS G42	2,33 a	43,33 b	93,67 a	100,00 a	188,17 b
BRS 323	2,33 a	48,33 a	97,50 a	100,00 a	197,00 a
CF 101	1,17 b	26,33 b	96,17 a	100,00 a	173,08 b
ADV 5504	1,33 b	27,17 b	94,50 a	97,50 a	157,42 b
Aguará 04	1,50 b	35,00 b	97,50 a	100,00 a	183,25 b
Aguará 06	1,33 b	35,83 b	97,50 a	100,00 a	184,00 b
GNZ Neon	2,17 a	39,67 b	100,00 a	100,00 a	184,58 b
Paraiso 20	1,50 b	40,83 b	90,50 b	100,00 a	182,08 b
Helio 250	1,17 b	24,17 b	91,00 b	100,00 a	165,75 b
Helio 251	2,17 a	59,17 a	98,83 a	100,00 a	209,08 a
SRM767	1,33 b	37,17 b	98,75 a	100,00 a	181,17 b
SRM779					
CL	1,00 b	22,50 b	98,17 a	100,00 a	190,00 b
Média	1,77	43,10	96,21	99,86	189,18
C.V. (%)	35,02	29,62	3,35	1,02	9,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.