

Variabilidade de *Alternaria helianthi* e avaliação da resistência de girassol à mancha de *Alternaria* (06.04.02.334.03)

Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Uma das estratégias a serem adotadas no manejo da mancha de *Alternaria* em girassol é a resistência genética. Informações sobre a reação a *Alternaria helianthi* para híbridos de girassol está disponível em alguns países produtores de girassol, mas poucos estudos foram feitos no Brasil. Os objetivos do presente subprojeto são avaliar a variabilidade patogênica, fisiológica e genética de isolados de *A. helianthi* e desenvolver uma metodologia rápida e confiável para avaliar a resistência genética de genótipos de girassol ao fungo. Adicionalmente, objetiva-se avaliar genótipos de girassol quanto à reação a outras doenças importantes do girassol, como a podridão branca,

causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, e o mildio, causado por *Plasmopara halstedii*, por meio de inoculação artificial dos agentes causais, a fim de dar subsídios para proceder a indicação de genótipos mais adequados para cultivo no Brasil.

Avaliação da resistência de girassol à mancha de *Alternaria* em condições de campo

O objetivo do trabalho foi avaliar a reação de 27 genótipos de girassol à mancha de *Alternaria*, em condições de campo.

Dez híbridos de girassol foram avaliados anualmente quanto à resistência à mancha de *Alternaria*, na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Os experimentos foram implantados em novembro de 2002, novembro de 2003 e outubro de 2004, sendo conduzidos em blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de 4,0 m, espaçadas de 0,7 m, onde foram deixadas três plantas por metro linear. A implantação e a condução do girassol seguiram as recomendações feitas para a cultura, incluindo adubação na semeadura e de cobertura, capinas, pulverização contra insetos e irrigação, quando necessárias. Não houve inoculação artificial de *Alternaria helianthi*, pois a doença ocorreu por infecção natural das plantas pelo fungo. O patógeno foi identificado por meio de isolamento em laboratório e inoculação em plantas em casa-de-vegetação.

As avaliações de severidade da doença (%) e altura de planta (cm) foram feitas nas duas linhas centrais de cada parcela, descartando 0,5 m de cada extremidade da linha. O sistema de plantas individuais foi adotado, onde cinco plantas homogêneas de cada parcela foram marcadas, totalizando 200 plantas para cada experimento. As plantas foram escolhidas, a partir da fase V4, com o cuidado de selecionar indivíduos de mesmo desenvolvimento, altura e vigor. Em cada planta marcada, a área foliar total foi estimada na fase de desenvolvimento R3. Simultaneamente, a mancha de *Alternaria* foi estimada em todas as folhas, com o auxílio de uma escala diagramática da doença, previamente elaborada e validada.

As plantas marcadas foram colhidas individualmente, após a fase de maturação fisiológica (R9). Foram avaliados o rendimento de aquênios

(kg/ha), o peso de mil aquênios e o teor de óleo, este analisado por meio de ressonância magnética nuclear (NMR).

As médias das variáveis avaliadas foram submetidas à análise da variância e comparadas pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

Houve diferença estatística significativa entre os 10 híbridos avaliados em condições de campo, na safra 2002/2003, tanto para a severidade de *A. helianthi*, quanto para rendimento de aquênios, altura de planta e teor de óleo (Tabela 1). Os genótipos BRS 191, Embrapa 122 e HT 9 apresentaram menor severidade da doença, possivelmente devido ao ciclo precoce. A média de rendimento do experimento foi baixa, provavelmente devido à baixa pluviosidade ocorrida no florescimento e na fase de enchimento de grãos. Isso também refletiu em baixa média de teor de óleo do experimento.

Na safra 2003/2004, também houve diferença estatística significativa entre os 10 híbridos avaliados em condições de campo, tanto para a severidade

Tabela 1. Reação de 10 híbridos de girassol à mancha de *Alternaria*, causada por *Alternaria helianthi*, avaliados em condições de campo. Londrina, 2002/2003.

Genótipo	Severidade (%)*	Rendimento de aquênios (kg/ha)*	Altura de planta (cm)*	Teor de óleo (%)*
BRS 191	1,12 d	347 bcd	178 bcd	25,40 cd
EMBRAPA 122	2,10 d	862 a	156 ab	29,76 b
HT 9	2,69 d	512 b	163 abc	28,88 bc
AGROBEL 960	4,50 bc	190 ed	173 abc	23,92 de
M 742	5,44 bc	755 a	183 cd	29,62 b
AGROBEL 965	6,38 b	416 bc	185 cd	26,87 bcd
M 734	6,73 b	416 bc	180 cd	34,69 a
AGROBEL 920	7,02 b	267 cde	200 d	20,61 e
C 11	8,96 a	90 e	174 abc	23,96 de
AGROBEL 910	9,19 a	388 bcd	153 a	20,50 e
Média	5,41	424	175	26,42
CV(%)	19,98	31,27	4,62	9,03

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

de *A. helianthi* na fase de desenvolvimento R3, quanto para rendimento de aquênios, altura de planta e peso de mil aquênios (Tabela 2). As médias de rendimento de aquênios e altura de planta foram maiores que as do experimento da safra anterior, indicando bom desenvolvimento das plantas. Os genótipos M 742, HELIO 251, CATISSOL 01, AGROBEL 962, HELIO 250, AGROBEL 967 e AGROBEL 972 apresentaram menor severidade da doença, enquanto que a maior severidade da doença foi verificada no genótipo M734, contudo, sem afetar sua produtividade. O maior rendimento de aquênios foi atingido pelo genótipo EXP38, semelhante a outros cinco genótipos.

Tabela 2. Reação de 10 híbridos de girassol à mancha de *Alternaria*, causada por *Alternaria helianthi*, avaliada em condições de campo. Londrina, 2003/2004.

Genótipo	Severidade (%) [*]	Rendimento de aquênios (kg/ha) [*]	Altura de planta (cm) [*]	Peso de mil aquênios (g) [*]
M 742	7,42 c	1748 b	175 cde	39,58 b
HELIO 251	7,52 c	1839 b	169 de	43,35 ab
CATISSOL 01	8,69 c	2433 ab	185 bcde	47,83 ab
AGROBEL 962	9,19 c	1726 b	165 e	40,08 b
HELIO 250	10,11 bc	1682 b	200 ab	40,08 b
AGROBEL 967	10,16 bc	2124 ab	185 bcde	58,33 a
AGROBEL 972	10,53 bc	2381 ab	193 abc	59,30 a
NUTRISSOL	12,94 ab	2112 ab	213 a	48,43 ab
EXP. 38	13,24 ab	2785 a	199 ab	48,63 ab
M 734	14,61 a	2443 ab	186 bcd	52,90 ab
Média	10,43	2127	187	47,84
C.V. (%)	19,01	24,10	6,84	21,58

^{*} Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

Observou-se diferença estatística significativa entre os 10 híbridos avaliados em condições de campo na safra 2004/2005, tanto para severidade de *A. helianthi*, quanto para rendimento de aquênios, teor de óleo e peso

Tabela 3. Reação de 10 híbridos de girassol à mancha de *Alternaria*, causada por *Alternaria helianthi*, avaliada em condições de campo. Londrina, 2004/2005.

Genótipo	Severidade (%)*	Rendimento de aquênios (kg/ha)*	Teor de óleo (%)*	Peso de mil aquênios (g)*
HELIO 358	3,29 c	1274 b	41,96 a	30,95 c
Embrapa 122	5,78 c	715 c	33,17 d	43,40 a
HELIO 355	6,46 c	1590 ab	40,52 a	31,47 c
GUARANI	10,99 b	1730 ab	40,79 a	35,47 abc
MULTISSOL-08	11,53 ab	1622 ab	33,72 cd	42,55 ab
AGROBEL 959	11,64 ab	1846 a	38,78 ab	32,42 bc
M 734	12,45 ab	1520 ab	37,93 abc	44,72 a
V10034	14,00 ab	1576 ab	33,76 cd	37,10 abc
V80198	15,21 ab	1324 ab	35,30 bcd	28,00 c
V 90064	16,29 a	1571 ab	38,31 ab	29,82 c
Média	10,76	1476	37,42	35,59
C.V. (%)	27,65	22,11	7,40	18,16

* médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

de mil aquênios (Tabela 3). Os genótipos HELIO 358, Embrapa 122 e HELIO 355 apresentaram menor severidade da doença (abaixo de 10%). O maior rendimento de aquênios foi atingido pelo genótipo AGROBEL 959, semelhante a outros sete genótipos, e o maior teor de óleo foi verificado no genótipo HELIO 358, semelhante a outros cinco genótipos avaliados.

Os resultados permitiram concluir que os genótipos BRS 191, Embrapa 122, HT 9, M 742, HELIO 251, CATISSOL 01, AGROBEL 962, HELIO 250, AGROBEL 967, AGROBEL 972, HELIO 358 e HELIO 355 apresentaram menor severidade da mancha de *Alternaria*, nas condições dos experimentos.

Avaliação da resistência de girassol à podridão branca em condições de campo

O objetivo do trabalho foi avaliar a reação de genótipos de girassol à po-

podridão branca causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, no colo e no capítulo, em condições de campo.

Doze cultivares de girassol foram avaliadas quanto à resistência à podridão branca no colo e no capítulo, em dois experimentos implantados em abril de 2003, na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Outras 12 cultivares de girassol foram também avaliadas, em dois experimentos implantados em maio de 2004.

Os experimentos seguiram o mesmo delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de 4,0 m, espaçadas de 0,7 m, onde foram deixadas três plantas por metro linear. A implantação e a condução do girassol seguiram as recomendações feitas para a cultura, incluindo adubação na semeadura e de cobertura, capinas, pulverização contra insetos e irrigação, quando necessárias.

Para verificar a reação à doença, as plantas foram inoculadas artificialmente com o fungo, na região do colo ou no capítulo, separadamente em cada experimento. Para o preparo do inóculo, um isolado de *S. sclerotiorum* foi cultivado por 30 dias em grãos de aveia umedecidos e previamente autoclavados. Para avaliar a reação na região do colo, uma porção do inóculo foi colocada a 5 cm da base das plantas do primeiro experimento de cada ano, aos 30 dias após a emergência. Para a avaliação da doença no capítulo, as plantas do segundo experimento de cada ano foram inoculadas com uma porção do inóculo do fungo colocada na região da bráctea do capítulo, por ocasião do início do florescimento.

As avaliações de incidência da doença foram realizadas semanalmente, nas duas linhas centrais de cada parcela, descartando 0,5 m de cada extremidade da linha. Para efeito de análise estatística, as médias de incidência final da doença no colo e no capítulo foram transformadas em $\sqrt{(x+0,5)}$ e comparadas pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

Nos experimentos de 2003, a avaliação da doença no colo realizada na fase de maturação fisiológica indicou que todos os genótipos foram suscetíveis ao patógeno, com a incidência variando de 67,29% a 94,34% de plantas infectadas. A inoculação no capítulo resultou na variação entre genótipos de 10,62% (Helio 250) a 65,90% (Embrapa 122) de capítulos com sintomas, por ocasião da colheita (Tabela 4).

Tabela 4. Reação de 12 genótipos de girassol à podridão branca, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, inoculados no colo e no capítulo, avaliados em condições de campo. Londrina, 2003.

Genótipo	Incidência (%)*	
	Inoculação no colo	Inoculação no capítulo
HELIO 250	89,39 bc	10,62 a
C11	85,74 bc	15,54 ab
EXP38	88,52 bc	15,92 ab
AGROBEL 960	85,07 bc	15,97 abc
AGROBEL 967	76,26 abc	18,38 abc
M734	67,29 a	22,53 abc
M742	90,49 bc	28,49 abc
AGROBEL 920	94,34 c	35,86 bcd
BRS 191	79,25 abc	38,80 bcd
RUMBOSOL91	72,71 ab	40,56 cd
HELIO 251	88,29 bc	41,53 cd
EMBRAPA 122	88,41 bc	65,90 d
Média	83,81	29,17
C.V. (%)	6,85	29,30

* Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$; médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

No ano de 2004, a ocorrência da doença foi baixa, tanto nas plantas inoculadas no capítulo como no colo (Tabela 5), em função das condições climáticas (pouca pluviosidade após a inoculação) não terem favorecido a doença. Não foi observada diferença estatística significativa entre os materiais quando inoculados no colo. Apenas os genótipos MULTISSOL 08, GUARANI e V10034 apresentaram incidência de capítulos com sintomas de podridão maior que 10%.

Os resultados indicaram que todos os genótipos de girassol avaliados foram suscetíveis a *S. sclerotiorum*, sendo afetados no capítulo e/ou no colo. Os dados obtidos 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.

Tabela 5. Reação de 12 genótipos de girassol à podridão branca, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, inoculados no colo e no capítulo, avaliados em condições de campo. Londrina, 2004.

Genótipo	Incidência (%)*	
	Inoculação no colo	Inoculação no capítulo
AGROBEL 962	3,75 a	0,00 a
V 80198	2,51 a	1,19 ab
AGROBEL 972	0,00 a	1,47 ab
NUTRISSOL 09	2,27 a	3,69 abc
AGROBEL 959	1,47 a	3,90 abc
V 90064	1,14 a	5,92abc
HELIO 355	0,00 a	7,38 abc
HELIO 358	0,00 a	8,13 abc
EMBRAPA 122	3,59 a	9,79 bc
MULTISSOL 08	2,64 a	12,02 bc
GUARANI	3,41 a	13,15 bc
V 10034	5,13 a	17,12 c
Média	2,15	6,98
C.V. (%)	97,85	64,14

* Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$; médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

Avaliação da resistência de genótipos de girassol ao míldio

Com os objetivos de avaliar a reação de genótipos de girassol e pesquisar fontes de resistência para serem utilizadas na criação de cultivares resistentes ao míldio, dois experimentos de inoculação de sementes de variedades, híbridos e linhagens com a raça 330 de *Plasmopara halstedii* foram realizados, em condições de câmara climatizada, com luminosidade e temperatura controladas.

Os trabalhos de preparo de inóculo e inoculação foram realizados no Laboratório de Fitopatologia. Os testes de avaliação foram realizados em câmaras climatizadas, com luminosidade e temperaturas controladas. O inóculo foi preparado a partir de plantas com sintomas de míldio, armaze-

nadas em sacos plásticos em ultrafreezer, a -80°C . Os testes de reação de genótipos foram repetidos duas vezes.

Sementes dos genótipos de girassol foram embebidas em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas em água, até remoção do produto. Cinquenta sementes de cada material foram colocadas para germinar em caixa gerbox, sobre papel umedecido, à temperatura ambiente (25°C) por três dias. Sementes com algum tipo de contaminação por fungos ou bactérias ou com germinação anormal foram descartadas. A suspensão de zoosporângios do fungo foi preparada a partir de folhas com esporulação abundante, retiradas do ultrafreezer. Os zoosporângios foram lavados com água destilada. A concentração de esporos foi ajustada para 20.000 zoosporângios/ml em hemacitômetro e foi adicionado 1 ml da solução de cálcio (2,2g de CaCl_2 anidro em 10 ml de água destilada). Plântulas com cerca de 1,5 a 2,0 cm de radícula foram imersas na suspensão de zoosporângios de míldio e incubadas por quatro horas, a 15°C , no escuro. Em seguida, foram semeadas em caixas contendo areia autoclavada. As plântulas foram irrigadas diariamente e mantidas na câmara climatizada, com temperatura controlada em 21°C , até as primeiras folhas verdadeiras terem 1 cm (aproximadamente 11 dias). Após esse período, no final da tarde, as plantas foram pulverizadas intensamente com água destilada e cobertas totalmente com plástico, de modo a fazer uma câmara úmida e mantidas no escuro, a 18°C . No dia seguinte, foi observada a presença de esporulação nos cotilédones das plantas. Na avaliação, as plantas com esporulação nos cotilédones foram consideradas suscetíveis e as sem esporulação foram resistentes. Após a leitura, o material foi descartado em local apropriado.

No primeiro experimento, realizado em 2002, foram avaliados os genótipos comerciais AGROBEL 910, AGROBEL 920, AGROBEL 960, BRS 191, C11, Embrapa 122, M734, M742 e RUMBOSOL 91 e as linhagens CMSHA30379NW22 e 89V23960, incluídas como testemunhas suscetíveis.

No segundo experimento, realizado em 2003, foram avaliados 27 híbridos e 24 linhagens CMS ou HA de girassol. A variedade Embrapa 122 foi incluída como testemunha suscetível.

A avaliação dos genótipos comerciais demonstrou que o híbrido BRS 191 e a variedade Embrapa 122 mostraram esporulação abundante nos cotilédones e foram considerados suscetíveis ao patógeno. Os híbridos AGROBEL 910, AGROBEL 920, AGROBEL 960, AGROBEL 965, C11, EXP38, M734, M742 e RUMBOSOL 91 não apresentaram esporulação e foram considerados resistentes. As testemunhas suscetíveis CMSHA30379NW22 e 89V23960 também apresentaram esporulação (Tabelas 6 e 7). Entre os 17 híbridos experimentais do programa de melhoramento genético de girassol da Embrapa Soja testados, quatro apresentaram resistência à raça 330 do agente causal do míldio (19/20, 49/50, 109/110 e 159/160) e os demais foram suscetíveis. Entre as linhagens avaliadas, apenas os parentais 20+ e 50+ não apresentaram esporulação nos cotilédones e foram considerados resistentes (Tabela 7).

Os resultados permitem concluir que as cultivares Embrapa 122 e BRS 191 são suscetíveis à raça 330 de *P. halstedii*; as cultivares AGROBEL 910, AGROBEL 920, AGROBEL 960, AGROBEL 965, C11, EXP38, M734, M742 e RUMBOSOL 91 são resistentes à raça 330 do patógeno e podem ser indicadas aos agricultores para uso em regiões de risco de ocorrência da doença; entre os materiais do programa de melhoramento genético de

Tabela 6. Reação de genótipos de girassol inoculados com *Plasmopara halstedii* raça 330. Londrina, 2002.

Genótipos	Identificação	Reação observada
AGROBEL 910	Híbrido	Resistente
AGROBEL 920	Híbrido	Resistente
AGROBEL 960	Híbrido	Resistente
BRS 191	Híbrido	Suscetível
C11	Híbrido	Resistente
Embrapa 122	Variedade	Suscetível
M734	Híbrido	Resistente
M742	Híbrido	Resistente
RUMBOSOL 91	Híbrido	Resistente
CMSHA30379NW22	Testemunha	Suscetível
89V23960	Testemunha	Suscetível

Tabela 7. Reação de genótipos de girassol inoculados com *Plasmopara halstedii* raça 330. Londrina, 2003.

Genótipo	Identificação	Reação abril 2003	Reação outubro 2003	Reação observada
1/2	Híbrido	S	S	S
13/14	Híbrido	S	S	S
19/20	Híbrido	R	R	R
25/26	Híbrido	?	S	S
31/32	Híbrido	R	S	S
43/44	Híbrido	R	S	S
49/50	Híbrido	R	R	R
55/56	Híbrido	S	S	S
61/62	Híbrido	?	S	S
67/68	Híbrido	R	S	S
73/74	Híbrido	S	S	S
109/110	Híbrido	R	R	R
127/128	Híbrido	?	S	S
133/134	Híbrido	R	S	S
159/160	Híbrido	R	R	R
165/166	Híbrido	?	S	S
219/220	Híbrido	?	S	S
AGROBEL 910	Híbrido	R	NT	R
AGROBEL 920	Híbrido	R	NT	R
AGROBEL 960	Híbrido	R	NT	R
AGROBEL 965	Híbrido	R	NT	R
BRS 191	Híbrido	S	NT	S
C11	Híbrido	R	NT	R
EXP38	Híbrido	R	NT	R
M734	Híbrido	R	NT	R
M742	Híbrido	R	NT	R
RUMBOSOL91	Híbrido	R	NT	R
CMS ALCEM	Linhagem	S	NT	S
CMS FM	Linhagem	S	NT	S
CMS LCEU	Linhagem	S	NT	S
CMS VM	Linhagem	S	NT	S

Continua...

Genótipo	Identificação	Reação abril 2003	Reação outubro 2003	Reação observada
... Continuação Tabela 7				
HA ALCEM	Linhagem	S	NT	S
HA FM	Linhagem	S	NT	S
HA LCEU	Linhagem	S	NT	S
HA REM	Linhagem	S	NT	S
HA VU	Linhagem	S	NT	S
OASIS - F	Linhagem	S	NT	S
OASIS - M	Linhagem	S	NT	S
SAUDADE - F	Linhagem	S	NT	S
SAUDADE - M	Linhagem	S	NT	S
7701	Linhagem	NT	S	S
7702	Linhagem	NT	S	S
7726	Linhagem	NT	S	S
7800	Linhagem	NT	S	S
7801	Linhagem	NT	S	S
20+	Linhagem	NT	R	R
44+	Linhagem	NT	S	S
50+	Linhagem	NT	R	R
56+	Linhagem	NT	S	S
68+	Linhagem	NT	S	S
134+	Linhagem	NT	S	S
Embrapa 122	Testemunha	S	S	S

S - suscetível; R - resistente; NT - não testado; ? - não definido

girassol da Embrapa Soja, os híbridos 19/20, 49/50, 109/110 e 159/160 e os parentais 20+ e 50+ apresentam resistência à raça 330 do agente causal do míldio e podem continuar sendo utilizados nos trabalhos que objetivam a resistência genética à doença.