

# INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MOLHAMENTO FOLIAR NO MONOCICLO DA MANCHA DE ALTERNARIA EM GIRASSOL\*

REGINA M.V.B.C. LEITE<sup>1\*\*</sup> & LILIAN AMORIM<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Soja, Cx. Postal 231, 86001-970, Londrina, PR, e-mail: regina@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>ESALQ-USP, Setor de Fitopatologia, Cx. Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, e-mail: liamorim@carpa.ciagri.usp.br

(Aceito para publicação em 18/01/2002)

Autor para correspondência: Regina M.V.B.C. Leite

LEITE, R.M.V.B.C. & AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de *Alternaria* em girassol. *Fitopatologia Brasileira* 27:193-200. 2002.

## RESUMO

A influência da temperatura (15 °C - 32,5 °C) e da duração do período de molhamento foliar (2 h - 24 h) no desenvolvimento da mancha de *Alternaria* em girassol (*Alternaria helianthi*) foi quantificada por meio de estudos em ambiente controlado. Também foi verificada a influência da temperatura no crescimento micelial e na germinação de conídios do fungo, em ensaios *in vitro*. A densidade relativa de lesões e a severidade foram influenciadas pela temperatura e pela duração do período de molhamento foliar. A doença foi mais severa na temperatura de 25 °C. A temperatura mínima para desenvolvimento da doença, estimada pela função beta generalizada, foi de 13,0 °C e a máxima foi de 35,8 °C. A mancha de *Alternaria* foi maior com o aumento da duração do período de molhamento foliar, o que foi descrito pelo modelo logístico. A

superfície de resposta obtida pela multiplicação das funções beta generalizada e logística teve um bom ajuste para os dados observados ( $R^2=0,87$  para densidade relativa de lesões e 0,92 para severidade). O crescimento micelial e a germinação de conídios em função da temperatura também foram descritos pela função beta generalizada. As temperaturas mínimas estimadas para a taxa de crescimento micelial e para a germinação de conídios foram de 5,5 °C e 7,9 °C e as máximas foram de 32,9 °C e 40,0 °C, respectivamente. Na avaliação de dez híbridos de girassol inoculados artificialmente, em condições controladas, houve diferença entre os materiais quanto à resistência à infecção e à colonização por *A. helianthi*.

**Palavras-chave adicionais:** *Alternaria helianthi*, *Helianthus annuus*, epidemiologia, componentes monocíclicos

## ABSTRACT

### Influence of temperature and leaf wetness on the monocycle of *Alternaria* leaf spot of sunflower

Using controlled environment studies the influence of temperature (15 °C - 32.5 °C) and the duration of leaf wetness (2 h - 24 h) were quantified for the development of *Alternaria* leaf spot, caused by *Alternaria helianthi* in sunflower (*Helianthus annuus*). The effect of temperature on the mycelial growth rate and conidia germination was also quantified by *in vitro* trials. Relative lesion density and severity were influenced by temperature and leaf wetness duration. The disease was more severe at a temperature of 25 °C. The minimum temperature for disease development, estimated by generalized beta function, was 13.0 °C, and the maximum was 35.8 °C. Relative lesion density increased with increasing periods of leaf

wetness, as described by a logistic model. The response surface obtained by the combination of generalized beta and logistic functions provided a close fit to observed data ( $R^2=0.87$  for relative lesion density and 0.92 for severity). The generalized beta function also described fungus growth and conidium germination as a function of temperature. The estimated minimum temperatures for mycelial growth rate and for conidium germination were 5.5 °C and 7.9 °C, respectively, while the maximum temperatures were 32.9 °C and 40.0 °C, respectively. Ten sunflower hybrids artificially inoculated, under controlled conditions, showed differing degrees of resistance to infection and colonization by *A. helianthi*.

## INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea anual, originária do continente Norte Americano, que apresenta características agrônômicas importantes, como maior resistência à seca, ao frio e ao calor. Apresenta ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas e seu rendimento é pouco influenciado pela latitude, pela altitude e pelo fotoperíodo. Graças a essas características, apresenta-

se como opção nos sistemas de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos no Brasil (Castro *et al.*, 1996).

O potencial do aumento da área cultivada com girassol pode ser limitado pela ocorrência da mancha de *Alternaria*, causada por *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara. Os danos causados pela diminuição da área fotossintética da planta, devido à formação de manchas foliares e à desfolha precoce, resultam na redução do diâmetro dos capítulos, do número de aquênios por capítulo, do peso dos aquênios e do teor de óleo. Plantas severamente afetadas apresentam a maturação antecipada. Além do Brasil (Ribeiro *et al.*, 1974), a doença ocorre em países da América do Norte e da África,

\*Parte da Tese de Doutorado da primeira autora. ESALQ-USP.

\*\*Bolsistas do CNPq

Argentina, Índia, Japão, Austrália, antiga Iugoslávia, Romênia e França (Anahosur, 1978; Zimmer & Hoes, 1978; Davet *et al.*, 1991; Pereyra & Escande, 1994). Em áreas de clima subtropical úmido, condição predominante nas regiões de cultivo de girassol no Brasil, a mancha de *Alternaria* é uma das principais doenças, ocorrendo em praticamente todas as regiões e em todas as épocas de semeadura (Leite, 1997).

O conhecimento das condições que favorecem o desenvolvimento do fungo e das variáveis climáticas ótimas para infecção e desenvolvimento da doença é fundamental para se delimitar estratégias de controle, que incluem a escolha da época de semeadura da cultura para cada região de cultivo.

Os objetivos deste estudo foram determinar a influência da temperatura e da duração do período de molhamento foliar no desenvolvimento da mancha de *Alternaria*, sob condições controladas; o efeito da temperatura na taxa de crescimento micelial e na germinação de conídios de *A. helianthi* e a reação de dez híbridos de girassol à resistência à infecção e à colonização por *A. helianthi*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas dependências do Laboratório de Epidemiologia, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba, SP.

O isolado utilizado foi obtido a partir de folhas de girassol com lesões de mancha de *Alternaria*, coletadas no campo experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. O isolamento foi realizado retirando-se fragmentos da região limítrofe entre o tecido sadio e o doente, que foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultura farinha de aveia (Tuite, 1969) e incubadas a 25 °C. Os conídios produzidos nesse meio de cultura foram visualizados em microscópio óptico, para confirmação da espécie de *Alternaria*. A patogenicidade do isolado de *A. helianthi* foi confirmada, inoculando-se uma suspensão de conídios do isolado, em plantas de girassol do híbrido experimental da Embrapa Soja SE 02, em casa de vegetação. Para conservação do isolado, utilizaram-se discos de meio de farinha de aveia com micélio do fungo em tubos contendo água destilada esterilizada, que foram vedados com filme plástico e armazenados em geladeira a 4 °C.

Os ensaios para avaliação do efeito da temperatura e da duração do período de molhamento foliar nos componentes monocíclicos da mancha de *Alternaria* foram conduzidos em câmaras de crescimento Conviron, modelo E7. Utilizaram-se plantas de girassol do híbrido SE 02, cultivadas por três semanas em vasos de alumínio com capacidade para 1,5 l, em condições de casa de vegetação. Foram semeadas três sementes por vaso, em solo previamente autoclavado. Após a emergência, procedeu-se um desbaste, restando apenas uma planta por vaso.

No preparo da suspensão de inóculo, o isolado de *A. helianthi* foi repicado para meio de farinha de aveia, onde foi cultivado por sete a dez dias a 25 °C, sob iluminação contínua. Os conídios foram suspensos, com um pincel, em água

destilada + Tween 20 e sua concentração ajustada para 500 conídios/ml, com auxílio de hemocitômetro.

As plantas foram inoculadas com a suspensão de conídios, nas terceira e quarta folhas verdadeiras, na fase V8 (Schneider & Miller, 1981), como recomendado por Kong *et al.* (1995). A inoculação foi feita com pulverizador manual, utilizando-se 4 ml de suspensão por folha, de modo que estas ficassem uniformemente molhadas, tanto na face superior como na inferior, até o ponto de escorrimento superficial. Os vasos foram envolvidos por sacos plásticos transparentes e umedecidos, de modo a formar uma câmara úmida, e foram colocados nas câmaras de crescimento, no escuro por 24 h.

Para avaliar o efeito da temperatura, as plantas inoculadas foram mantidas sob temperaturas constantes de 15 °C, 20 °C, 25 °C, 27,5 °C, 30 °C e 32,5 °C e fotoperíodo de 12 h. Após 24 h de câmara úmida, as plantas foram mantidas em câmaras de crescimento, com umidade que variou entre 40 % e 60 %. Para cada temperatura, foram conduzidos pelo menos dois ensaios, com delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada repetição foi composta por um vaso contendo uma planta, onde as duas folhas inoculadas foram avaliadas. Plantas inoculadas com água destilada + Tween 20 foram incubadas em cada temperatura, servindo como controle. A partir da retirada da câmara úmida, as avaliações foram realizadas diariamente, por meio da contagem do número de lesões por folha inoculada, da medição do tamanho médio das lesões e da severidade da doença, com o auxílio de uma escala diagramática (Leite & Amorim, no prelo), até a estabilização dos dados. Para a comparação dos dados entre os ensaios, o número de lesões por folha foi transformado em densidade relativa de lesões, igualando o número máximo a 100 % e calculando os demais valores proporcionalmente ao máximo. Calculou-se a média da densidade relativa de lesões e da severidade das dez folhas avaliadas para cada temperatura, em cada ensaio. Os dados foram analisados por meio de regressões não-lineares, utilizando o programa STATISTICA versão 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA). Os dados da densidade relativa de lesões durante oito dias e da severidade da doença durante 21 dias foram ajustados individualmente pelo modelo logístico,  $Y = B_1 / (1 + B_2 \exp(-B_3 X))$ , onde Y = densidade relativa de lesões ou severidade, X = tempo (em dias após inoculação),  $B_1$  = estimativa da assíntota máxima,  $B_2$  = parâmetro relacionado ao inóculo inicial e  $B_3$  = taxa de progresso da doença (Berger, 1981). Com os valores da estimativa da assíntota máxima para cada temperatura, em cada ensaio (parâmetro  $B_1$  do modelo logístico), foi estimada a função beta generalizada,  $Y = B_1 ((X - B_2)^{B_4}) / ((B_3 - X)^{B_5})$ , descrita por Hau & Kranz (1990), onde Y representa a densidade relativa de lesões ou severidade, X representa a temperatura e os parâmetros  $B_2$  e  $B_3$  representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima. Os parâmetros  $B_1$ ,  $B_4$  e  $B_5$  não possuem significado biológico.

O efeito da duração do período de molhamento foliar foi avaliado em dois ensaios, sob temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 h. Os períodos de molhamento,

que corresponderam ao tempo em que as plantas inoculadas permaneceram envoltas com sacos plásticos umedecidos, foram de 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 16 h e 24 h. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada repetição foi composta por um vaso contendo uma planta, onde as duas folhas inoculadas foram avaliadas. Os componentes monocíclicos avaliados foram a densidade relativa de lesões e a severidade, seguindo a mesma metodologia empregada na avaliação dos ensaios de temperatura. Os dados também foram ajustados individualmente pelo modelo logístico. Com os valores da estimativa da assíntota máxima para cada período de molhamento, em cada ensaio (parâmetro  $B_1$  do modelo logístico), foi estimada a função logística,  $Y=B_1/(1+B_2 \exp(-B_3 X))$ , onde  $Y$  = densidade relativa de lesões ou severidade,  $X$  = molhamento,  $B_1$  = estimativa da assíntota máxima,  $B_2$  = parâmetro relacionado ao inóculo inicial e  $B_3$  = taxa de progresso da doença.

As funções beta generalizada e logística, obtidas dos ensaios de avaliação da temperatura e da duração do período de molhamento foliar, respectivamente, foram multiplicadas para a elaboração de um modelo que indicasse o efeito das diferentes combinações de temperatura e de molhamento foliar no desenvolvimento da mancha de *Alternaria* em girassol, gerando uma superfície de resposta de densidade relativa de lesões ou de severidade em função dessas variáveis climáticas.

Para avaliar o efeito da temperatura no crescimento de colônias de *A. helianthi*, o fungo foi repicado para meio de farinha de aveia e cultivado por sete dias a 25 °C, sob iluminação contínua. Discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro foram transferidos para meio de farinha de aveia em placas, incubadas no escuro, nas temperaturas constantes de 5 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 27,5 °C, 30 °C e 32,5 °C. Foram realizados dois ensaios para cada temperatura, com delineamento experimental inteiramente casualizado e cinco repetições, sendo cada repetição composta por uma placa de Petri. As avaliações foram constituídas por medidas diárias do diâmetro das colônias, durante 16 dias. Foram estabelecidas curvas de crescimento micelial ao longo do tempo, para cada temperatura, em cada ensaio, através do modelo de regressão linear,  $Y = A + B X$ , onde  $Y$  é o crescimento micelial,  $X$  é o tempo (em dias de incubação),  $A$  é o intercepto da reta e  $B$  é a taxa de crescimento micelial. Com os valores da taxa de crescimento micelial (parâmetro  $B$  da regressão linear), foi estabelecida uma curva de crescimento micelial em função da temperatura, ajustada pela função beta generalizada,  $Y=B_1((X-B_2)^{B_4})/((B_3-X)^{B_5})$ , onde  $Y$  representa a taxa de crescimento micelial,  $X$  representa a temperatura e os parâmetros  $B_2$  e  $B_3$  representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima.

Para avaliar o efeito da temperatura na germinação de conídios, o fungo foi repicado em meio de farinha de aveia e cultivado por sete dias a 25 °C, no escuro. Os conídios produzidos foram suspensos em água destilada esterilizada e a suspensão foi transferida para meio ágar-água em lâminas, colocadas em placas de Petri contendo um chumaço de

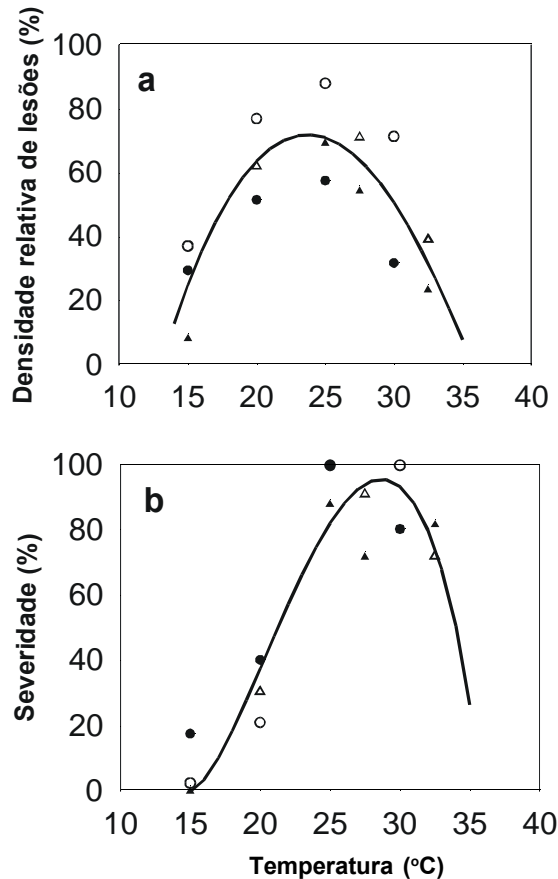
algodão embebido em água, para manter a umidade. Essas foram incubadas no escuro, nas temperaturas de 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C e 40 °C. Após 24 h, os conídios foram corados com solução de lactofenol e a germinação foi avaliada, contando-se 200 conídios por lâmina. Foram realizados dois ensaios, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, cada uma representada por uma lâmina. Com os valores da porcentagem média de germinação para cada temperatura, nos dois ensaios, foi estabelecida uma curva de germinação de conídios em função da temperatura, ajustada pela função beta generalizada,  $Y=B_1((X-B_2)^{B_4})/((B_3-X)^{B_5})$ , onde  $Y$  = porcentagem de germinação de conídios,  $X$  = a temperatura e os parâmetros  $B_2$  e  $B_3$  são, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima.

Dez híbridos de girassol foram avaliados quanto à resistência à infecção e à colonização por *A. helianthi*, em dois ensaios, sob temperatura constante de 25 °C e molhamento foliar de 24 h. A metodologia foi semelhante aos ensaios de temperatura e de molhamento foliar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada repetição foi composta por um vaso contendo uma planta, onde as duas folhas inoculadas foram avaliadas. Os componentes monocíclicos avaliados foram a densidade relativa de lesões e a severidade, seguindo a mesma metodologia empregada na avaliação dos ensaios de temperatura e de molhamento foliar. Com os dados diários coletados, foram calculadas, para cada híbrido, as áreas sob a curva de progresso da densidade relativa de lesões durante oito dias, para os dois ensaios e as áreas sob a curva de progresso da severidade durante 18 e 15 dias, respectivamente, para o primeiro e segundo ensaios. Para a análise da variância, foi utilizado o esquema fatorial, considerando ensaios e híbridos como fatores em estudo, com quatro repetições. As médias das áreas sob a curva de progresso da doença obtidas para os híbridos nos dois ensaios foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 1 % de probabilidade.

## RESULTADOS

A temperatura influenciou a densidade relativa de lesões e a severidade da mancha de *Alternaria* em girassol e este efeito foi representado pela função beta generalizada (Figura 1 e Tabela 1). A densidade relativa de lesões foi maior na temperatura de 25 °C (Figura 1a). O aumento da temperatura provocou incremento na severidade da doença até aproximadamente 30 °C, a partir da qual decresceu de forma acentuada (Figura 1b). A temperatura mínima para desenvolvimento da doença, estimada pela função beta generalizada, foi de 13,0 °C e 14,9 °C e a máxima foi de 35,8 °C e 35,6 °C, respectivamente, para densidade relativa de lesões e severidade (Tabela 1).

A mancha de *Alternaria* foi maior com o aumento da duração do período de molhamento foliar, o que foi descrito pelo modelo logístico (Figura 2 e Tabela 2). Tanto para densidade relativa de lesões como para a severidade da doença, o ponto de inflexão da curva logística se deu em torno de 12 h



**FIG. 1 - Densidade relativa de lesões (a) e severidade (b) de *Alternaria helianthi* em girassol (*Helianthus annuus*), em função da temperatura, nos ensaios 1 (círculo cheio), 2 (círculo vazio), 3 (triângulo cheio) e 4 (triângulo vazio). Linhas correspondem à função beta generalizada ajustada aos dados.**

de molhamento foliar (Figura 2). Não foi observada infecção na ausência de molhamento (Figura 2). A severidade e densidade relativa de lesões mais elevadas foram observadas

**TABELA 1 - Coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e parâmetros da função beta generalizada,  $Y=B_1((X-B_2)^{B_4})((B_3-X)^{B_5})$ , onde Y é o componente monocíclico considerado, X é a temperatura, os parâmetros  $B_2$  e  $B_3$  são, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima e  $B_1$ ,  $B_4$  e  $B_5$  são parâmetros da equação sem significado biológico, ajustada para as diferentes temperaturas**

Componente monocíclico	$B_1$	$B_2$	$B_3$	$B_4$	$B_5$	$R^2$
Densidade relativa de lesões	0,50699	13,09	35,82	0,95	1,08	0,82
Severidade	0,32814	14,99	35,67	1,57	0,80	0,94
Taxa de crescimento micelial	0,00007	5,50	32,97	2,37	0,44	0,91
Germinação de conídios	3,91605	7,99	40,00	0,80	0,27	0,98

com o molhamento foliar de pelo menos 16 h.

A superfície de resposta obtida pela multiplicação das funções beta generalizada, gerada para os ensaios de temperatura, e logística, ajustada para os ensaios de duração do período de molhamento foliar (Figura 3), mostrou um bom ajuste para os dados observados, tanto para densidade relativa de lesões ( $R^2=0,87$ ), quanto para severidade ( $R^2=0,92$ ).

A superfície de resposta para estimar a densidade relativa de lesões pôde ser descrita pela função:  
 $D=(0,07((T-12,13)^{1,30})((37,30-T)^{1,51}))(10,48/(1+(81,81\exp(-(-0,073)M))))$

onde D é a densidade relativa de lesões em porcentagem, T é a temperatura em °C e M é a duração do período de molhamento foliar em horas.

O modelo elaborado para estimar a severidade de *A. helianthi* em girassol pôde ser descrito pela função:

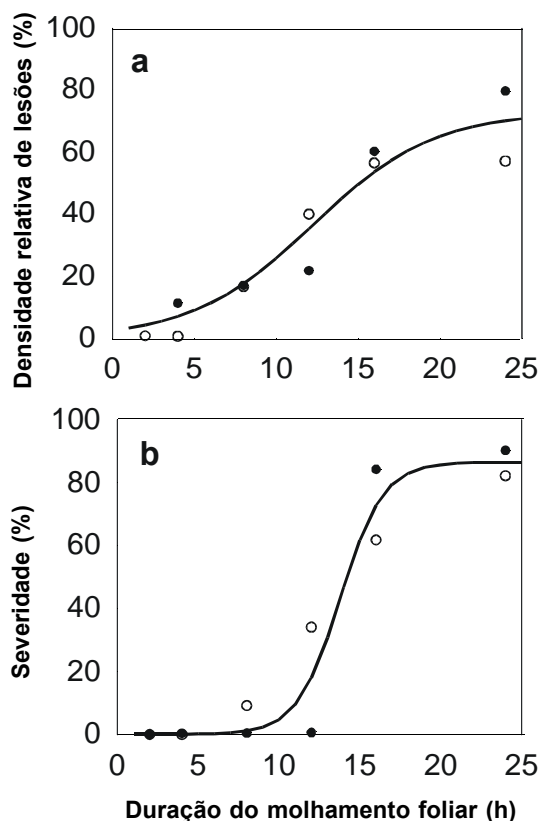
$S=(1,07((T-14,99)^{1,95})((37,34-T)^{1,38}))(86,93/(1+(30833,94\exp(-(-0,094)M))))$

onde S é a severidade em porcentagem, T é a temperatura em °C e M é a duração do período de molhamento foliar em horas.

Por meio dessas funções, a temperatura mínima para desenvolvimento da doença foi de 12,1 °C e 14,9 °C e a máxima foi de 37,3 °C e 37,3 °C, respectivamente, para densidade relativa de lesões e severidade da mancha de *Alternaria*. Ambos componentes monocíclicos avaliados crescem com o aumento da duração do período de molhamento foliar, apresentando o máximo com 24 h de molhamento e 25 °C de temperatura.

O crescimento micelial e a germinação de conídios em função da temperatura também foram descritos pela função beta generalizada (Figura 4 e Tabela 1). Não foi observado crescimento micelial a 5 °C. A taxa de crescimento micelial foi maior na temperatura de 27,5 °C (Figura 4a). A temperatura mínima estimada para a taxa de crescimento micelial foi de 5,5 °C e a máxima foi de 32,9 °C, estimadas pela função beta generalizada (Tabela 1). O aumento da temperatura provocou um incremento na germinação de conídios até aproximadamente 35 °C, a partir da qual decresceu de forma acentuada, chegando a próximo de zero na temperatura de 40 °C (Figura 4b). De fato, de acordo com os parâmetros estimados pela função beta generalizada, a temperatura mínima para germinação de conídios foi de 7,9 °C e a máxima foi de 40,0 °C (Tabela 1).

Houve diferença estatística significativa entre os dez híbridos inoculados artificialmente, tanto para a área sob a curva de progresso da densidade relativa de lesões quanto para a área sob a curva de progresso da severidade de *A. helianthi*, na análise conjunta dos dados obtidos nos dois ensaios (Tabela 3). M742 e HT14 mostraram menor densidade relativa de lesões, não diferindo significativamente de M734, HT9 e HT1. Os híbridos Agrobrel 910 e SE02 foram os mais suscetíveis quanto a densidade relativa de lesões e BRS 191 quanto a severidade. Não houve diferença estatística significativa ao nível de 1 % de probabilidade para a média dos dois ensaios, bem como para a interação híbridos x ensaios.



**FIG. 2 - Densidade relativa de lesões (a) e severidade (b) de *Alternaria helianthi* em girassol (*Helianthus annuus*), em função da duração do período de molhamento foliar, nos ensaios 1 (círculo cheio) e 2 (círculo vazio). Linhas correspondem à função logística ajustada aos dados.**

**TABELA 2 - Coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e parâmetros da função logística,  $Y=B_1/(1+B_2 \exp(-B_3 X))$ , onde Y é o componente monocíclico considerado, X é a duração do período de molhamento,  $B_1$  é estimativa da assíntota máxima,  $B_2$  é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial e  $B_3$  é a taxa de progresso da doença, ajustada para as diferentes durações de período de molhamento foliar**

Componente monocíclico	$B_1$	$B_2$	$B_3$	$R^2$
Densidade relativa de lesões	73,09	27,63	0,27	0,93
Severidade	86,59	30833,95	0,74	0,97

## DISCUSSÃO

Nos ensaios de avaliação do efeito da temperatura e da duração do período de molhamento foliar em câmara de crescimento, os dados da densidade relativa de lesões durante 8 dias e da severidade da doença durante 21 dias foram melhor ajustados individualmente pelo modelo logístico. Os modelos

**TABELA 3 - Reação de híbridos de girassol (*Helianthus annuus*) inoculados artificialmente, em condições controladas, à infecção e colonização por *Alternaria helianthi***

Híbrido	Empresa	Área sob a curva de progresso de:	
		Densidade relativa de lesões*	Severidade*
M734	Morgan-Mycogen	295,03 abc	307,28 a
M742	Morgan-Mycogen	212,37 a	396,97 ab
HT14	Embrapa Soja	235,22 a	551,84 ab
Agrobel 920	Agromania	381,23 cd	579,70 ab
Agrobel 960	Agromania	387,28 cd	664,10 ab
HT9	Embrapa Soja	272,95 abc	666,35 ab
Agrobel 910	Agromania	424,25 d	676,96 ab
HT1	Embrapa Soja	249,72 ab	731,39 ab
SE02	Embrapa Soja	439,93 d	748,21 ab
BRS 191	Embrapa Soja	354,22 bcd	779,43 b

\* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 1 % de probabilidade.

monomolecular e Gompertz não ofereceram ajustes adequados. Esta observação é concordante com o observado por Sentelhas *et al.* (1996), que comparou curvas de progresso da doença em três cultivares de girassol. Godoy & Fernandes (1985), comparando o ajuste de curvas de progresso da doença em cultivares de girassol semeados em campo, verificaram que o modelo de Gompertz foi melhor que o logístico, com valores de coeficiente de determinação mais elevados.

O modelo beta generalizado apresenta forma de sino e é um modelo não linear com cinco parâmetros. Dois deles tem significado biológico, porque estimam as temperaturas mínima (parâmetro  $B_2$ ) e máxima (parâmetro  $B_3$ ) do processo biológico em estudo (Hau & Kranz, 1990). Este modelo tem sido útil em descrever a influência da temperatura em diversos patossistemas (Bassanezi *et al.*, 1998; Carneiro & Amorim, 1999; Godoy *et al.*, 1999). O parâmetro  $B_3$  está relacionado à forma da curva e pode ser utilizado para determinar a amplitude do intervalo de temperatura ótima em cada componente epidemiológico analisado (Bassanezi *et al.*, 1998). Valores próximos a zero indicam que existe uma ampla faixa de temperatura na qual o componente em estudo permanece próximo ao valor máximo, enquanto que valores altos mostram que a faixa de temperatura ótima é mais estreita. Neste trabalho, os valores determinados de 1,08 para densidade relativa de lesões e 0,80 para severidade (Tabela 1) indicam que a doença é severa numa ampla faixa de variação de temperatura, que pode oscilar em até 10 °C em torno da ótima (Figura 1). Este fato pode explicar porque a mancha de *Alternaria* é uma das doenças mais importantes para o girassol no Brasil, podendo ser encontrada em todas as regiões e em todas as épocas de semeadura (Leite, 1997), mesmo sujeita a uma ampla variação de temperatura que é encontrada nas diferentes regiões e épocas.

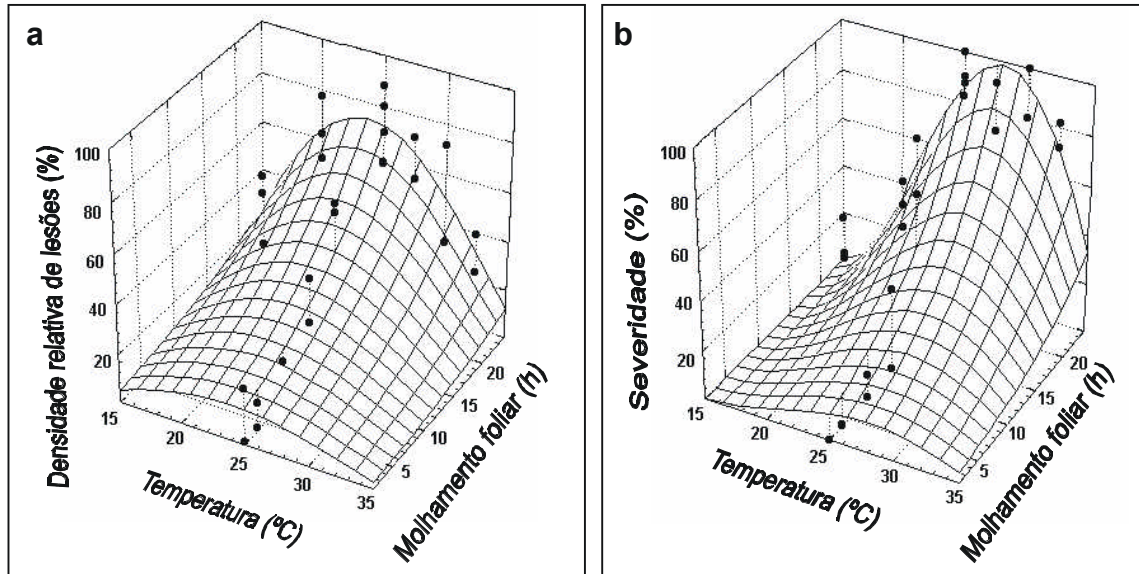


FIG. 3 - Superfície de resposta da densidade relativa de lesões (a) e da severidade (b) de *Alternaria helianthi* em girassol (*Helianthus annuus*), em função da temperatura e da duração do período de molhamento foliar, descrita pela função  $Y=(B_1((T-B_2)^{B_3})((B_4-T)^{B_5}))((B_6/(1+B_7\exp(-B_8M))))$ , onde Y é o componente monocíclico considerado, T é a temperatura, M é a duração do período de molhamento foliar e  $B_1$  a  $B_8$  são parâmetros do modelo.

A faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento da doença observada ano presente trabalho situa-se entre 25 °C e 30 °C, o que está de acordo com Islam & Maric (1980), que mostraram que temperaturas na faixa entre 24 °C a 27 °C favoreceram o desenvolvimento dessa doença, quando comparado com 17 °C. Também, a epidemia de *A. helianthi* na Austrália está associada a temperaturas médias de 25 °C - 30 °C (Allen *et al.*, 1983b). Segundo Rotem (1994), a temperatura ótima para infecção é de 26 °C. Na Índia, em condições de campo, a temperatura favorável para o desenvolvimento da doença variou entre 27 °C e 29 °C (Kumar & Singh, 1996).

A não ocorrência de infecção observada na ausência de molhamento foliar (Figura 2) confirma a necessidade de água livre na superfície foliar para o estabelecimento da doença no hospedeiro. Foram necessárias pelo menos 12 h de molhamento foliar para que a infecção ocorresse. Islam & Maric (1980) mostraram que um período mínimo de 12 h de umidade do ar saturada é necessário para a infecção bem sucedida de *A. helianthi* em girassol. Allen *et al.* (1983b) também verificaram que um período de molhamento foliar de 12 h é requerido para proporcionar o máximo de infecção, o que confirma que, na Austrália, a epidemia da doença

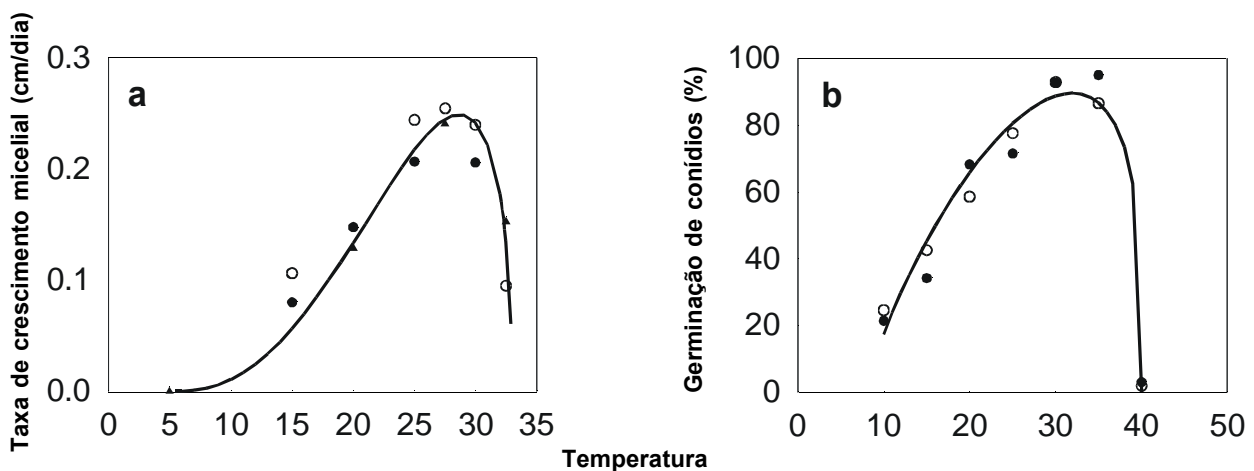


FIG. 4 - Taxa de crescimento micelial (a) e germinação de conídios (b) de *Alternaria helianthi* *in vitro*, em função da temperatura, nos ensaios 1 (círculo cheio), 2 (círculo vazio) e 3 (triângulo cheio). Linhas correspondem à função beta generalizada ajustada aos dados.

coincide com períodos longos de umidade.

Essa quantidade de horas de período de molhamento não necessita ser contínua, uma vez que espécies de *Alternaria* podem esporular ou causar infecção em plantas durante vários períodos curtos de molhamento, ao invés de um único período longo. Este regime de período de molhamento interrompido permite que a infecção ocorra durante períodos úmidos à noite e seja interrompida por dias secos. Assim, a germinação de esporos inicia-se na primeira noite úmida, pára no dia seguinte seco e é concluída na próxima noite úmida, sendo esse processo repetido até que o tubo germinativo penetre o hospedeiro (Rotem, 1994). Esse fenômeno pode ocorrer na infecção de girassol por *A. helianthi*, baseado no trabalho de Allen *et al.* (1983b).

A temperatura influenciou significativamente no crescimento de colônias de *A. helianthi*, o que também foi observado por Sujatha *et al.* (1997), e na germinação de conídios do fungo. Os dados de crescimento micelial observados no presente estudo são concordantes com os obtidos por Abbas *et al.* (1995), que verificaram que *A. helianthi* cresceu bem nas temperaturas entre 18 °C a 30 °C, mas não a 15 °C ou a 33 °C. Esses autores observaram que o fungo cresceu mais rápido a 28 e a 30 °C, o que está próximo do verificado no presente estudo (27,5 °C). Em meio de BDA, Reddy & Gupta (1981) e Allen *et al.* (1983b) observaram que o crescimento de colônias foi maior a 25 °C. Para a germinação de conídios, as temperaturas mínima (7,9 °C) e máxima (40,0 °C), estimadas pela função beta generalizada, estão de acordo com o compilado por Rotem (1994), que indica que as temperaturas mínima, ótima e máxima para germinação *in vitro* são, respectivamente, de <10 °C, 25-28 °C e <40 °C.

Na avaliação de híbridos de girassol, os componentes monocíclicos da resistência horizontal utilizados foram a densidade relativa de lesões e a severidade, como utilizado por Godoy & Fernandes (1985). A resistência à infecção foi dada pelo menor número de lesões formadas, enquanto que a resistência à colonização foi representada pela menor severidade. Observou-se diferenças quanto ao nível de resistência à infecção e à colonização por *A. helianthi* nos materiais avaliados.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que as condições ótimas para o estabelecimento da doença situam-se em 25 °C e 24 h de molhamento foliar. Essas características devem ser consideradas no desenvolvimento de um modelo de previsão para a mancha de *Alternaria*. De fato, Das *et al.* (1998) confirmaram que a doença pode ser prevista usando variáveis climáticas. Esses autores verificaram que a temperatura do ar teve um efeito significativo na previsão da doença em girassol. Sentelhas *et al.* (1996) sugeriram que as variáveis chuva total e temperatura mínima do ar sejam utilizadas no desenvolvimento desses sistemas de previsão.

Para reduzir as perdas causadas por *A. helianthi* em girassol, é fundamental a escolha da época de semeadura, o que também vem sendo recomendado na Austrália (Allen *et al.*, 1983b) e na Índia (Sahu *et al.*, 1991). Sahu *et al.* (1991)

recomendam que sejam evitadas as épocas de semeadura em que a planta esteja jovem durante períodos de alta umidade, já que este favorece a infecção. Conseqüentemente, sugere-se que o girassol seja semeado numa época que permita que a cultura se desenvolva e amadureça quando as condições ambientais, principalmente temperatura e molhamento foliar, sejam menos favoráveis para o desenvolvimento da doença (Allen *et al.*, 1983a). Além disso, a importância da seleção de materiais com maior nível de resistência também deve ser ressaltada, uma vez que essas condições climáticas favoráveis ocorrem na área potencialmente produtora de girassol no Brasil, tornando a cultura vulnerável a epidemias.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.K., EGLEY, G.H. & PAUL, R.N. Effect of conidia production temperature on germination and infectivity of *Alternaria helianthi*. *Phytopathology* 85:677-682. 1995.
- 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* 73:896-898. 1983a.
- ALLEN, S.J., BROWN, J.F. & KOCHMAN, J.K. Effects of temperatures, dew period, and light on the growth and development of *Alternaria helianthi*. *Phytopathology* 73:893-896. 1983b.
- ANAHOSUR, K.H. *Alternaria helianthi*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria n. 582. 1978.
- BASSANEZI, R.B., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A. & HAU, B. Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. *Plant Pathology* 47:289-298. 1998.
- BERGER, R.D. Comparison of the gompertz and logistic equations to describe plant disease progress. *Phytopathology* 71:717-719. 1981.
- CARNEIRO, L.C. & AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo do "mal-de-sete-voltas" da cebola. *Fitopatologia Brasileira* 24:422-427. 1999.
- CASTRO, C. de, CASTIGLIONI, V.B.R., BALLA, A., LEITE, R.M.V.B.C., KARAM, D., MELLO, H.C., GUEDES, L.C.A. & FARIAS, J.R.B. A Cultura do Girassol. Londrina. EMBRAPA-CNPSo. (Circular técnica, 13). 1996.
- DAS, N.D., SANKAR, G.R.M. & SRIVATSAVA, N.N. Studies on the progression of *Alternaria* blight disease, *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki and Nishihara of sunflower. *Annals of Plant Protection Sciences* 6:209-211. 1998.
- DAVET, P., PÉRÈS, A., REGNAULT, Y., TOURVIELLE, D. & PENAUD, A. Les Maladies du Tournesol. Paris. CETIOM. 1991.
- GODOY, C.V., AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, A. Influência da duração do molhamento foliar e da temperatura no desenvolvimento da ferrugem do milho causada por *Puccinia polysora*. *Fitopatologia Brasileira* 24:160-165. 1999.
- GODOY, J.R. de & FERNANDES, N.G. Epidemiologia da mancha de alternária (*Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara), em girassol (*Helianthus annuus* L.). *Summa Phytopathologica* 11:198-214. 1985.
- HAU, B. & KRANZ, J. Mathematics and statistics for analyses in epidemiology. In: Kranz, J. (Ed.) *Epidemics of Plant Diseases*:

- mathematical analyses and modeling. Berlin. Springer-Verlag. 1990. pp.12-52.
- ISLAM, U. & MARIC, A. Contribution to the studies on biology, epidemiology and resistance of sunflower to *Alternaria helianthi* (Hansf.) Taub. Nish. Zastita bilja 31:35-49. 1980.
- KONG, G.A., KOCHMAN, J.K. & BROWN, J.F. A greenhouse assay to screen sunflower for resistance to *Alternaria helianthi*. Annals of Applied Biology 127:463-478. 1995.
- KUMAR, R. & SINGH, S.B. Influence of weather factors on *Alternaria* leaf spot development in sunflower. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 26:196-198. 1996.
- LEITE, R.M.V.B.C. Doenças do Girassol. Londrina. EMBRAPA-CNPSO. (Circular técnica, 19). 1997.
- LEITE, R.M.V.B.C. & AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. Summa Phytopathologica. (no prelo).
- PEREYRA, V. & ESCANDE, A.R. Enfermedades del Girassol en la Argentina: manual de reconocimiento. Balcarce. INTA. 1994.
- REDDY, P.C. & GUPTA, B.M. Physiological studies of *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki and Nishihara the incitant of leaf blight of sunflower (*Helianthus annuus* L). Journal of Turkish Phytopathology 10:25-35. 1981.
- RIBEIRO, I.J.O., PARADELA FILHO, O., SOAVE, J. & CORVELLINI, G.S. Ocorrência de *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara sobre girassol. Bragantia 33:81-85. 1974.
- ROTEM, J. The Genus *Alternaria*: biology, epidemiology and pathogenicity. St. Paul. APS Press. 1994.
- SAHU, B.K., GHEMAWAT, M.S. & AGRAWAT, J.M. Susceptibility of sunflower plants to *Alternaria helianthi* as influenced by plant age. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 98:103-106. 1991.
- SENTELHAS, P.C., PEZZOPANE, J.R.M., UNGARO, M.R.G., MORAES, S.A. & DUDIENAS, C. Aspectos climáticos relacionados à ocorrência da mancha de *alternaria* em cultivares de girassol. Fitopatologia Brasileira 21:464-469. 1996.
- SCHNEITER, A.A. & MILLER, J.F. Description of sunflower growth stages. Crop Science 21:901-903. 1981.
- SUJATHA, M., PRABAKARAN, A.J. & CHATTOPADHYAY, C. Reaction of wild sunflowers and certain interspecific hybrids to *Alternaria helianthi*. Helia 20:15-24. 1997.
- TUITE, J. Plant Pathological Methods, Fungi and Bacteria. Minneapolis. Burgess Publications Corporation. 1969.
- ZIMMER, D.E. & HOES, J.A. Diseases. In: Carter, J.F. (Ed.) Sunflower science and technology. Madison. American Society of Agronomy. 1978. pp.225-262.