

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

MARÍLIA ROSA BARBOSA

**ANÁLISE SANITÁRIA DE AMOSTRAS DE SEMENTES DE GIRASSOL
PRODUZIDAS NO TRIÂNGULO MINEIRO QUANTO A INFECÇÃO POR
SCLEROTINIA**

**Uberlândia – MG
Junho – 2010**

MARÍLIA ROSA BARBOSA

**ANÁLISE SANITÁRIA DE AMOSTRAS DE SEMENTES DE GIRASSOL
PRODUZIDAS NO TRIÂNGULO MINEIRO QUANTO A INFECÇÃO POR
SCLEROTINIA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Jonas Jäger Fernandes

**Uberlândia – MG
Junho – 2010**

MARÍLIA ROSA BARBOSA

**ANÁLISE SANITÁRIA DE AMOSTRAS DE SEMENTES DE GIRASSOL
PRODUZIDAS NO TRIÂNGULO MINEIRO QUANTO A INFECÇÃO POR
SCLEROTINIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 9 de junho de 2010.

Profa. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi
Membro da Banca

Profa. Ms. Flavia Andréa Nery Silva
Membro da Banca

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes
Orientador

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, pelo dom da vida, pelas bênçãos que sempre me foram confiadas, por tudo aquilo de bom que acontece diariamente em minha vida.

Aos meus pais Nádía Maria Rosa e Geraldo Barbosa Filho, pela confiança, pelo incentivo e apoio incondicional e pelo eterno amor que sempre me deram.

À minha querida irmã Marina Rosa Barbosa e ao meu irmão Pedro Henrique Rosa Barbosa, que tanto me deram força, obrigado pelas suas amizades e companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes, uma pessoa que tenho que agradecer por toda a atenção, apoio, confiança, além de toda a paciência e aos conhecimentos passados.

Aos membros da banca examinadora: Profa. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi e Profa. Ms. Flavia Andrea Nery Silva por aceitarem o convite de avaliarem a monografia.

À todos os docentes da Universidade Federal de Uberlândia, por todos os dias de trabalho, todos os conhecimentos adquiridos e acima de tudo pela amizade e presteza.

Aos amigos conquistados durante a vida acadêmica, os quais sempre serão pessoas de inestimável valor para mim, serão sempre pessoas a serem lembradas e reverenciadas por mim.

À todos da 40ª Turma de Agronomia, os quais estiveram comigo durante todo o curso de graduação.

RESUMO

Para a detecção do patógeno da podridão branca em sementes de girassol (*Helianthus annuus*), instalou-se no Laboratório de Análises e Sementes (LASEM), do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia um experimento analisando seis cultivares obtidas de produtores de girassol da região do Triângulo Mineiro, onde estas foram analisadas qualitativamente, quanto a ocorrência ou não do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*. A análise da qualidade sanitária das sementes de girassol foi realizada através do método do rolo de papel filtro modificado e foram testadas, de cada lote, 400 sementes divididas em 50 sementes em cada rolo, totalizando 8 rolos para cada cultivar. Estas sementes foram submetidas às condições de umidade, temperatura e luz ideais para sua germinação. Após o período de sete dias as plântulas e sementes mortas, ambas circundadas por micélio cotonoso, foram retiradas dos rolos e foram colocadas em caixas gerbox retornando ao germinador, após três dias foi feita outra análise a fim de detectar a presença de escleródios do patógeno em questão. De acordo com os resultados obtidos não foi detectado a presença de escleródios de *S. sclerotiorum* nas sementes de girassol.

Palavras chave: *Helianthus annuus*, podridão branca, escleródios.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 A cultura do girassol.....	8
2.2 A análise de sementes.....	10
2.3 A interferência de fungos na produção de sementes.....	11
2.4 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	13
2.5 Detecção de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Obtenção das amostras.....	19
3.2. Análise da qualidade das sementes.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) constitui-se na segunda fonte mais importante de óleo vegetal comestível no mundo e sua cultura vem se destacando devido as suas vantagens e potencialidades. No Brasil, a cultura é conhecida há vários anos e a maior parte do território brasileiro é potencialmente apta para este cultivo (MENTEN, 1985). É a quarta oleaginosa mais produzida no mundo e a quinta com a maior área plantada. Ele é cultivado em todos os continentes, a qual se concentra principalmente no leste europeu e países da antiga União Soviética, Argentina, EUA, China, Canadá e México (LAZAROTTO et al., 2005).

No Brasil, é notável o crescimento do cultivo de girassol. Dados da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2010) mostram que no intervalo de um ano (safra de 2006/2007 à safra 2007/2008), a área cultivada com girassol no Brasil teve um aumento de 38,5 mil hectares, crescimento de 51%. Já a produção teve um aumento de 40,7 %, um aumento de 43,2 mil t, mantendo-se a produtividade.

Se existe a planta ideal, da qual tudo se aproveita, o girassol está bem próximo dela. As raízes, do tipo pivotante, promovem uma considerável reciclagem de nutrientes, além da matéria orgânica deixada no solo após sua morte; as hastes podem originar material para forração acústica, com ótimas características, além de, juntamente com as folhas, poderem ser ensiladas e promoverem uma excelente adubação verde. Além disso, a beleza de suas flores despertou interesse mesmo antes de se tornar cultura oleaginosa; atualmente ele se presta muito bem tanto como flor de corte quanto para vaso (UNGARO, 2009).

A partir de suas flores, podem ser extraídos de 20 a 40 kg de mel por hectare de cultura; elas originam as sementes, consumidas tanto pelo homem como pelos animais. Delas é extraído um óleo de excelentes qualidades nutricionais e organolépticas, com elevado conteúdo de ácido linoléico, recomendado na prevenção de enfermidades.. É importante fonte de proteínas para a alimentação animal. Sua utilização como ração para o gado, na forma de silagem, já é uma realidade, especialmente no sul de Minas Gerais e algumas regiões de São Paulo (CÁCERES, 2009).

É uma das principais espécies a serem utilizadas na adubação verde, em grande parte por seu desenvolvimento inicial rápido, seu efeito alelopático a grande número de invasoras, pela eficiência da planta na reciclagem de nutrientes e, também, por ser um agente protetor de solos contra a erosão e a infestação de invasoras, sendo recomendado para rotação de culturas (UNGARO, 2009).

Além da utilização do óleo de girassol para alimentação humana, ele pode ser utilizado nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos, de tintas e de limpeza. O girassol pode ser utilizado na forma de sementes torradas como aperitivo, na composição de barras de cereais, biscoitos, papas de bebês, alimento de pássaros, ração para cães e gatos, alimentação animal na forma de silagem ou farelo, adubação verde, biodiesel, além de que, as suas cascas podem ser prensadas na forma de aglomerado para a indústria de móveis e o caule pode ser utilizado na construção civil como isolante térmico e acústico. Nos países eslavos, as sementes de girassol são torradas e moídas e utilizadas como sucedâneo do café. A sua utilização na área de floricultura pode ser ampliada com a criação de girassóis coloridos. A multiplicidade de uso tem contribuído para o aumento crescente da demanda por informações (PELEGRINI, 1985).

Devido a essas particularidades e à crescente demanda do setor industrial e comercial, a cultura do girassol está se tornando importante alternativa econômica no sistema de rotação, consórcio e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos (PORTO et al., 2007).

Apesar de sua rusticidade, a expansão da cultura do girassol pode ser prejudicada, entre outros fatores, pela ocorrência de doenças causadas por vírus, bactérias e fungos. O girassol é hospedeiro de mais de 35 organismos fitopatogênicos, a maioria fungos. Estima-se que as doenças são responsáveis por uma perda anual média de 12% da produção de girassol no mundo, sendo este o fator mais limitante para a cultura na maioria das regiões produtoras. No Brasil, não há dados exatos sobre a magnitude da perda da produção provocada pelas doenças, mas sabe-se que esta pode chegar a até 100%, dependendo das condições climáticas (LEITE, 2005b).

A crescente importância da cultura do girassol torna necessário o desenvolvimento de estudos sobre detecção de patógenos em sementes sejam conduzidos a fim de garantir a sanidade desta cultura e a introdução de patógenos em novas áreas. Devido a estes fatores, o objetivo deste trabalho foi analisar amostras de sementes de girassol produzidas no Triângulo Mineiro quanto à ocorrência de sementes com infecção latente de *Sclerotinia sclerotiorum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do girassol

O girassol (*Helianthus annuus*) é uma espécie botânica pertencente à família Asteraceae, subfamília Asteroideae, é constituinte do gênero *Helianthus* L., o qual compreende, além das híbridas, em torno de 300 espécies, sendo a espécie *Helianthus annuus* (L) a de maior importância econômica. Indícios arqueológicos verificados em estudos recentes indicam que o centro de origem do girassol foi o México (LENTZ et al., 2005). Atualmente, é cultivado em todos os continentes, concentrando-se principalmente no leste europeu e países da antiga União Soviética, Argentina, EUA, China, Canadá e México. Destaca-se como a quarta oleaginosa em produção e a quinta em área cultivada no mundo (EMBRAPA, 2010).

No Brasil o cultivo de girassol iniciou no final do século XIX, na época da colonização no Sul do Brasil (PELEGRINI, 1985). A primeira indicação de cultivo comercial ocorreu em 1902, em São Paulo, quando a Secretaria da Agricultura distribuiu sementes aos agricultores. No início da década de 1920 o girassol era indicado como a melhor forrageira para alimentação de gado leiteiro. Em 1924 já se extraía seu óleo por meio de prensas. Na década de 1930 já era divulgado como nos dias de hoje, como uma planta de inúmeras utilidades, seja como forrageira e produtora de silagem, melífera, produtora de sementes para a extração de óleo combustível e para a alimentação de aves (UNGARO, 1982).

Na década de 1960, houve uma tentativa para estimular o cultivo do girassol no Brasil, dessa vez no Estado de São Paulo. A secretaria de Agricultura deu apoio à implantação junto com fábricas de óleos vegetais que incentivaram o cultivo da oleaginosa. Houve insucesso devido a falta de tecnologia de produção para as condições brasileiras e falta de estímulo do mercado, atingindo uma produção superior a 4 milhões de toneladas de grãos, em uma área de aproximadamente 3.000 ha (LASCA, 1993; DALL'AGNOL et al., 1994, apud PUIGNAN, 1994)

Outras tentativas de implementação da cultura foram realizadas, utilizando cultivares com bom teor de óleo e menos suscetíveis à ferrugem, doença que prejudicava significativamente a produção, mas não obtiveram sucesso. Os prejuízos causados por doenças, aliados à falta de informação mais precisa sobre correção de solo, nutrição, espaçamento e densidade de semeadura, o baixo teor de óleo dos materiais, e ainda a competição com outras opções agrícolas mais atraentes, como o milho, a soja, o amendoim e o

algodão, desestimularam o cultivo do girassol em São Paulo que teve a área de 1966/67 (5.324 ha) reduzida para menos da metade, na safra 1972/73 (1.500 ha), uma redução equivalente a 72% (LASCA, 1993).

No final da década de 1970, houve um novo incentivo à pesquisa com oleaginosas no Brasil, motivado pelo estímulo do governo ao uso de óleos vegetais para substituir os derivados de petróleo, aumentando as pesquisas em torno de oleoginosas como a mamona, o amendoim e o girassol. Assim, a produtividade do girassol em 1980, no oeste do Estado do Paraná (principal estado a incentivar as pesquisas através do Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR) alcançou média de 1800 kg ha⁻¹, mas logo em 1983 baixou para 460 kg ha⁻¹, sendo essa frustração de safra causada por doenças fúngicas, principalmente *Sclerotinia sclerotiorum* decorrentes da ocorrência de condições prolongadas de alta umidade no final do ciclo (DALL'AGNOL et al., 1994), o que novamente freou a expansão da cultura na região.

Até hoje o cultivo do girassol esta condenado. Os principais problemas enfrentados pelos produtores para a cultura do girassol são a falta de produtos registrados para o controle fitossanitário, dificuldade de semeadura, em função da necessidade de melhor classificação de sementes, ataque de pássaros em áreas pequenas e dificuldade de comercialização da produção.

Já como necessidade de pesquisa foram identificadas oportunidades relacionadas ao controle de pássaros, zoneamento de risco climático para doenças, cultivo em sistemas integrados e consórcios, potencial para cultivo em áreas de reforma de cana-de-açúcar a partir do desenvolvimento tecnológico voltado para ciclo precoce, tolerância à alternaria e atenção a herbicidas com longos períodos residuais (RAMOS, 2009).

Apesar de todos os problemas relacionados ao cultivo e comercialização que ainda precisam ser resolvidos de forma mais satisfatória, na última década, o cenário do cultivo do girassol mostrou-se promissor, a área semeada com girassol aumentou gradativamente no Brasil. Na safra de 2006/2007 a área cultivada com girassol foi de 75,4 mil ha, aumentando para 113,9 mil ha na safra de 2007/2008 (CONAB, 2008) esse número reduziu para 75 mil ha na safra 2008/2009 (CONAB, 2009) e 67,3 mil ha na safra 2009/2010 (CONAB, 2010), com uma produtividade média esperada em torno de 1400 kg ha⁻¹. Assim, a produção brasileira de girassol aumentou principalmente em função do aumento da área de plantio, 106,1 mil toneladas de grãos foram colhidos na safra 2006/2007, alcançando em torno de 149,3 mil toneladas na safra 2007/2008 (CONAB, 2008), observando uma queda a partir da safra 2008/2009, 109,4 mil toneladas e na safra de 2009/2010, 96,3 mil toneladas (CONAB, 2010).

O principal mercado para o girassol é a indústria de óleos. A demanda mundial pelo óleo de girassol vem crescendo em torno de 1,8% ao ano, sendo que a demanda brasileira aumenta em torno de 13% ao ano. Para suprir essa demanda o país importa óleo da Argentina (GOMES, 2005). É uma cultura com um valor alimentar significativo, além de ser usada na forma de óleo para a indústria de biodiesel, farelo ou silagem para a alimentação animal e também como planta ornamental (CASTRO; FARIAS, 2005).

Nos últimos anos, segundo Lazzarotto et al. (2005), o girassol vem sendo cultivado predominantemente como safrinha, após a colheita de verão em sucessão aos cultivos de soja e milho. Esse cultivo de safrinha permite o aproveitamento, por parte dos produtores, dos recursos disponíveis na propriedade como mão de obra e máquinas que poderiam ficar ociosos (AMORIN et al., 2008). Por isso, é interessante fazer estudos para melhorar as técnicas de produção não só na época de safra, mas também para obter melhor produtividade de forma sustentável nas semeaduras da safrinha, visto que as condições ambientais na época de safrinha são diferentes e podem influenciar de forma negativa a produção de aquênios, principalmente se forem mais favoráveis à ocorrência de doenças do que na época de safra.

Segundo Zimmer e Hoes (1989, apud MALDANER, 2009), o fator que mais afeta a produtividade do girassol na maioria das regiões produtoras é a ocorrência de doenças. Estima-se que 12% da produção mundial de girassol seja perdida todo ano devido a este fator. Por isso, no Brasil, a expansão da cultura do girassol pode voltar a ser prejudicada, já que os danos à produção podem alcançar a 100% se as condições climáticas forem favoráveis ao desenvolvimento de patógenos. Muitas das principais doenças que afetam a cultura do girassol são transmitidas através das sementes, principalmente, a Mancha de Alternária (*Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara; *Alternaria zinnae* Ellis.; *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler) e a Podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) (LEITE, 2005a).

Nesse sentido, torna-se imprescindível continuar e aprofundar o estudo das interrelações que ocorrem entre o ambiente de cultivo dessa oleaginosa, os patógenos causadores das principais doenças e os genótipos de girassol utilizados na produção dessa cultura no Brasil.

2.2 A análise de sementes

A semente é um insumo indispensável na produção agrícola, desempenhando importante papel para o aumento quantitativo e qualitativo de produtividade, portanto, a

utilização de sementes de alta qualidade é um fator preponderante para o sucesso de qualquer cultura (GASPAR; NAKAGAWA, 2002).

O aumento da produção de sementes no Brasil, nos últimos anos, tem levado as empresas produtoras a buscarem um aprimoramento técnico de suas atividades, o que visa, basicamente, o aumento de produtividade associado a um incremento na qualidade do produto colhido. Assim, a tecnologia de sementes, como um segmento do processo de produção, tem procurado aprimorar os testes de germinação e vigor com objetivo de que os resultados expressem a real qualidade fisiológica de um determinado lote de sementes (VIEIRA, 1994).

A principal finalidade da análise de sementes é a de determinar a qualidade de um lote de sementes e, conseqüentemente, o seu valor para a semeadura. A análise é caracterizada pelo exame pormenorizado e crítico de uma amostra, com o objetivo de avaliar sua qualidade. A análise, ainda, é utilizada em trabalhos de pesquisa e na identificação de problemas de qualidade e suas causas. Assim, para a obtenção de sementes com um nível de qualidade proposto, é importante manter a produção sob controle e, dessa forma, a análise se constitui em instrumento imprescindível (NOVEMBRE, 2001).

Ainda segundo Novembre (2001), no processo de produção de sementes, a análise é realizada com dois objetivos principais: atender às exigências para a comercialização das sementes e controle de qualidade da produção. A tecnologia de sementes tem procurado aperfeiçoar os testes de germinação e de vigor de modo a obter resultados que expressem o comportamento efetivo das sementes no campo. Nesse caso, desde mais de 14 anos tem-se destacado o interesse pelos testes de vigor, principalmente em programas internos de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes (VIEIRA et al., 1996).

Contudo, a qualidade sanitária das sementes deve ser lembrada e testes para detecção de fitopatógenos associados as sementes devem ser realizados para evitar que problemas desta natureza venham causar redução da produtividade da cultura e que os produtores fiquem desestimulados por dificuldades desta natureza.

2.3 A interferência de fungos na produção de sementes

Segundo Tanaka (1982), mesmo utilizando sementes sadias, muitas doenças podem ocorrer no campo, por contaminação, pelos processos naturais de disseminação dos patógenos. Além disso, as sementes podem constituir um veículo de disseminação de patógenos para áreas livres. As sementes são responsáveis por propagar aproximadamente 90% das plantas cultivadas destinadas à alimentação humana e animal (NEERGAARD,

1979). Sabe-se que muitas doenças existentes no Brasil tiveram seus agentes causais introduzidos através de sementes que carregam interna ou externamente organismos patogênicos.

Segundo Machado (1988), entre os agentes patogênicos para plantas, os fungos são os mais ativos, tendo uma maior habilidade em penetrar diretamente nos tecidos vegetais e aí alojarem-se mais facilmente. O inóculo pode ser transportado via semente, na forma de micélio e/ou de esporos, mas a taxa de transmissão do patógeno, entre outros fatores, depende fundamentalmente da quantidade e localização do inóculo na semente (MENTEN, 1991a).

Os patógenos transportados por sementes podem associar-se às mesmas de diferentes maneiras, contaminando-as superficialmente, ou colonizando os tecidos internos (TEIXEIRA et al., 1997).

Em muitos casos, a semente com baixa incidência de fungos germina quando semeada em condições ambientais favoráveis. No entanto, em ambiente adverso, a germinação é lenta e os fungos infectantes têm oportunidade de colonizar a semente e a plântula em desenvolvimento, ou mesmo podem causar a morte das mesmas após a semeadura (CASA et al., 1995). Isso ocorre devido à rapidez de desenvolvimento e a alta agressividade de certos patógenos latentes na semente, os quais retornam à atividade assim que encontram condições favoráveis, matando a semente antes que essa evidencie os primeiros indícios de germinação (MENTEN, 1991a).

A morte de sementes e o tombamento de plântulas, causados por patógenos transportados pelas sementes, ocorrem principalmente sob condições desfavoráveis à emergência dessas plântulas. Assim, baixa temperatura, excesso ou escassez de umidade, mal preparo do solo e semeadura inadequada retardam a germinação e desenvolvimento de plântulas, proporcionando tecidos altamente vulneráveis, à disposição dos patógenos, por um período de tempo mais longo (MENTEN, 1991b).

Os patógenos causam danos às plantas através da interferência em diversos processos fisiológicos essenciais. Existem patógenos que destroem os órgãos de reserva ou tecidos jovens; outros que danificam o sistema radicular ou o sistema vascular, afetando, respectivamente, a absorção e o transporte de água e nutrientes; outros patógenos interferem na fotossíntese, enquanto um grupo especializado afeta a distribuição da seiva elaborada. Esses danos ocorrem pela ação de enzimas, toxinas e reguladores de crescimento produzidos por esses microrganismos. Patógenos ligados a todos esses grupos de doenças podem estar associados às sementes (MACHADO, 2001).

De acordo com Carvalho (1997), a transmissão de patógenos, através das sementes, deve ser avaliada sob dois aspectos gerais, uma vez que os danos são variáveis. Alguns patógenos provocam perdas, considerando o campo de produção, restringindo seus efeitos à redução de rendimento, sem, no entanto, afetar a viabilidade das sementes. Outros patógenos se caracterizam por, além de provocar reduções no rendimento, concentrar seus efeitos danosos sobre a semente, quando colonizam seu embrião. Como consequência direta têm-se reduções na porcentagem de germinação e no vigor, com reflexos negativos sobre a aprovação dos lotes.

2.4 *Sclerotinia Sclerotiorum*

S. sclerotiorum é um patógeno, que tem uma grande gama de hospedeiro, é um fungo polífago, o que limita a rotação de culturas dificultando o seu controle. O registro mais recente da gama de hospedeiros de *S. sclerotiorum* foi atualizado por e Hall (1994, apud SHANG, 2004), no total são: 75 famílias , 278 gêneros, 408 espécies e 42 subespécies ou variedades, sendo a maioria dicotiledôneas, subclasse das angiospermas (LEITE, 2005b).

Tal patógeno tem preocupado produtores de várias culturas como feijoeiro, algodoeiro, soja e girassol, entre outras (OLIVEIRA, 2005). Este fungo é considerado o patógeno mais importante para o girassol no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas temperadas, tropicais ou subtropicais.

Desenvolvem-se três sintomas: podridão basal, podridão na porção mediana da haste e podridão do capítulo e as perdas causadas dependem da parte da planta afeta que pode ser a raiz e o colo da planta, a haste ou capítulo. As perdas atribuídas à podridão basal dependem da idade da planta no início da infecção. Como a *S. sclerotiorum* mata rapidamente as plantas infectadas na fase de plântula, ocorrem falhas no estande. Quando a infecção acontece em estádios de desenvolvimento mais avançados, a ocorrência de murcha afeta seriamente a produção e a qualidade das sementes, que apresentam menor peso. As perdas associadas à podridão do capítulo afetam diretamente a produção, com redução no número de sementes por capítulo, no peso de sementes e na concentração de óleo. A qualidade do óleo extraído de sementes infectadas pelo fungo é inferior devido ao aumento da concentração de ácidos graxos livres. A podridão branca pode causar a queda de sementes do capítulo ou do próprio capítulo. Quando a infecção ocorre na base deste, resulta em perda total da produção, (LEITE, 2005a; ZIMMER; HOES,1989, apud MALDANER, 2009).

Ainda segundo Leite (2005a), perdas indiretas ocorrem devido à contaminação de lotes de sementes com escleródios, freqüentemente de mesmo tamanho, forma e peso específico dessas, o que dificulta sua remoção na operação de limpeza. Além desses prejuízos, o fungo persiste durante muitos anos no solo, representando um perigo potencial permanente para o girassol. Bernardes (2005) afirma que os escleródios podem permanecer por até 8 anos no solo e em restos vegetais.

Sclerotinia sclerotiorum é o agente causal da podridão branca no girassol. *S. sclerotiorum* foi descrito pela primeira vez como *Peziza sclerotiorum* por Madame M. A. Libert em 1837 e, mais tarde renomeado como *S. libertiana* Funkel em 1870 (PURDY, 1979). Este binômio foi aceito até que fosse considerado incompatível com as 12 regras internacionais de nomenclatura botânica, portanto, o nome de *S. libertiana* foi mudado para *S. sclerotiorum* (Lib.) Masee (DUNCAN 2003). No entanto, foi constatado, mais tarde, que anteriormente Bary havia usado tal nomenclatura, estabelecendo apropriadamente como *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary (PURDY, 1979).

Sclerotinia sclerotiorum é um fungo pertencente à classe Ascomycetes, ordem Leotiales. O fungo produz estruturas de resistência negras, duras, relativamente grandes (cerca de 1 cm de diâmetro ou comprimento, ou mesmo maiores) e de formato irregular, chamados de escleródios (PAULA JÚNIOR et al., 2004). Forma micélio e escleródios na fase assexual e ascos com ascósporos na fase sexual. O escleródio forma-se a partir da anastomose de um grande número de hifas em um corpo duro e compacto, o escleródio maduro é formado por uma casca pigmentada, uma camada fina de células pseudoparenquimatosas e uma medula de tecido parenquimatoso.

Ocorrem duas formas de germinação do escleródio: uma miceliogênica, formando somente hifas e outra carpogênica, produzindo apotécios. O apotécio é uma estrutura plana ou em forma de taça que produz os esporos sexuais do fungo. Podem ser formados muitos apotécios a partir de um único escleródio, os apotécios são de coloração marrom-clara e tem de 4 a 10 mm de diâmetro. Solos úmidos por um longo período e luz são essenciais para a formação de apotécios (LEITE, 2005 a).

O fungo pode ser introduzido em novas áreas por sementes contaminadas e escleródios associado a massa de sementes. Máquinas e implementos agrícolas, sapatos e botas, utilizados em áreas contaminadas pelo fungo também podem transportar os escleródios. Adubação de culturas com dejetos de animais alimentados com material contaminado com o fungo podem conter escleródios e estes podem se desenvolver sob condições favoráveis. Ascósporos do fungo podem ser disseminados pelo vento ou outros meios e atingir plantas da

cultura e iniciar o desenvolvimento da doença. Água de irrigação, ou de chuva, também pode levar escleródios e introduzir o fungo numa área (ITO; PARISI, 2009)

O fungo forma micélios e escleródios (estruturas de resistência do fungo) na fase assexual e ascos com ascósporos na fase sexual. O micélio é composto de hifas hialinas multicelulares. O escleródio forma-se a partir da anastomose de um grande número de hifas em um corpo duro e compacto de formato e comprimento variável (LEITE, 2005a). Esta estrutura tem a capacidade de permanecer viável por muitos anos no solo, devido ao pigmento melanina presente nela, que é de difícil degradação, além de alta multiplicação dessas estruturas de resistência. Portanto, deve-se tomar muito cuidado para não introduzi-lo em áreas de cultivo (ITO; PARISI, 2009).

2.5 Detecção de *Sclerotinia sclerotiorum*

É de fundamental importância para o sucesso de qualquer cultura a qualidade das sementes, que é expressa pela interação das características genéticas, físicas, fisiológicas e sanitárias, para originar lavoura uniforme, constituída de plantas vigorosas e representativas da cultivar sem contaminação de plantas invasoras ou indesejáveis (POPINIGIS, 1977, apud SILVA, 2007).

A análise sanitária de sementes é uma das medidas de controle da qualidade de sementes que faz parte de um conjunto de normas, padrões procedimentos e atividades aplicadas às operações de produção, beneficiamento, armazenamento e distribuição. Esta análise, dentre outras avaliações que são realizadas para determinar a qualidade de um lote de sementes são de grande importância, pois constitui-se em um instrumento de levantamento de informações das doenças presentes nas sementes (HENNING, 1994).

Quanto aos padrões de sanidade de sementes, colaboram para isso os resultados de pesquisas sobre a quantificação de danos ou a infecção das sementes que correlacionam com níveis de ataque na lavoura, permitindo assim que eles sejam estabelecidos para cada patossistema de interesse sócio-econômico. Frequentemente, desconsidera-se a correlação entre a intensidade de doença no campo e a porcentagem de transmissão inicial do patógeno pelas sementes, que está diretamente relacionada com o estágio de desenvolvimento das plantas e com as condições climáticas. (LUCCA FILHO, 1985)

Para se ter uma idéia da importância da transmissão de patógenos pelas sementes, no Brasil foram constatados 22 patógenos e 14 saprófitas associados a sementes de girassol. O

nível de tolerância para algumas espécies de patógenos em sementes é zero, ou seja, nenhuma semente deveria estar infectada/contaminada para ser utilizada no plantio (MENTEN, 1985).

Devido à importância econômica originada da diminuição dos rendimentos das culturas devido às doenças transmitidas pelas sementes, na portaria n.º 71 do Ministério de Agricultura, de 21 de setembro de 2004 (Diário Oficial da União de 23/09/2004, Seção 1, Página 18) abriu caminho para a adoção do nível de tolerância de patógenos para as três classes de sementes: básicas, certificadas e fiscalizadas. A adoção de padrões de tolerância permitirá a aprovação ou a rejeição de campos de produção e de lotes de sementes, assim como impedir a introdução de patógenos em áreas onde eles ainda não estejam presentes, protegendo assim os agricultores (EMBRAPA, 2010).

No Brasil, de acordo com a Instrução Normativa n.º5, estabelecida pelo Ministério da Agricultura na Portaria n.º 47, de 26 de fevereiro de 2009 (Diário Oficial 40, seção 1, pág. 10 e 11 de 02/03/2009), o nível de exigência em proposição para *S. sclerotiorum* em sementes básicas, certificadas e fiscalizadas, devido a doença ter tido um efeito muito negativo para a produção de sementes e grãos, o nível de tolerância tem sido zero.

Para a detecção e identificação de toda a microflora associada a sementes de girassol, inclusive a maioria dos patógenos e fungos de armazenamento importantes, o método mais utilizado é o do papel de filtro em placas de Petri plásticas, incubação a 21-23°C, 12h luz próximo ao ultra-violeta /12h escuro, durante 8 dias, e identificação sob o microscópio estereoscópico. Comparações efetuadas entre variações deste método revelaram que papel de filtro + congelamento (24h a 21°C; 24h a - 20°C; 6 dias a 21°C), utilizando-se sementes submetidas à assepsia superficial facilitou a detecção e identificação adequada dos microorganismos associados às sementes. Entretanto, outros métodos provavelmente sejam mais eficientes para detecção de determinados patógenos de importância. Assim, para detecção de infecção de *Sclerotinia sclerotiorum*, o método tem sido o de incubação, através da distribuição de sementes submetidas à assepsia superficial com hipoclorito de sódio 0,5% e incubação por 7 a 30 dias, a 5-7°C, sob escuro contínuo, em BDA, BDA + estreptomicina ou papel de filtro; o patógeno é identificado através do crescimento micelial branco típico. Desta maneira, é necessário que se realizem testes comparativos de sanidade para se definir os mais eficientes e econômicos, considerando a confiabilidade, reprodutibilidade, economicidade (tempo, trabalho e equipamento) e rapidez (MENTEN, 1985).

De acordo com as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009b), o uso do meio àgar para a detecção de *Sclerotinia* se faz através do método do plaqueamento de sementes

em meio Agar sólido (BDA ou MEA), e colocadas em câmara de incubação, sob luz fluorescente branca a temperatura de 20 ± 2 °C pelo período de 7-8 dias.

Um outro método que também tem detectado a presença de *S. Sclerotiorum*, é o método do rolo de papel toalha, originalmente desenvolvido por Anselme e Champion (1982, apud PARISI; MEDINA, 2009) e posteriormente modificado, o que permitiu tal detecção. A virulência do fungo *S. Sclerotiorum* esta relacionada com a produção de ácido oxálico. Apesar de ainda não se conhecerem seus mecanismos exatos de ação, o ácido oxálico, além de propiciar um pH adequado para ação de suas enzimas, interfere com a produção de ácido abscísico e desregula as células-guarda dos estômatos, provocando a murcha das folhas, e pode ser diretamente tóxico às plantas, enfraquecendo suas defesas e suprimindo a explosão oxidativa (GUIMARÃES; STOTZ, 2004).

Menezes (1987) recomenda, além da observação do lote para verificar a presença de escleródios, a incubação das sementes pelo método do papel de filtro, por um período de 10 a 15 dias, tempo necessário para a formação dos escleródios. Koch e Menten (2000) verificaram que o método do papel de filtro, com incubação por 14 dias a 15°C sob escuro contínuo também foi adequado para a detecção do patógeno. Peres (1996) desenvolveu o meio semi-seletivo, sobre o qual as sementes são incubadas por 7 dias em temperaturas na faixa entre 14 e 20°C no escuro, sendo o patógeno detectado pela mudança de coloração do meio, que ocorre na presença de substâncias ácidas. Este, tem como principal característica a rapidez com que se obtém os resultados da análise. Este método utiliza um meio de cultura denominado neon, meio Agar-Bromofenol, onde as sementes são semeadas e posteriormente, expostas a luz negra. A partir do terceiro dia de incubação, observações devem ser realizadas para verificar a formação de halos amarelo-avermelhados ao redor das sementes, para a confirmação da presença de *Sclerotinia sclerotiorum*. Embora não atenda a exigência de economicidade, tem se mostrado bastante eficiente em detectar o patógeno em sementes de feijão e soja, em trabalhos que estão sendo desenvolvidos na Embrapa Cerrados (NASSER, 2009)

É também muito utilizado o Método de Incubação em Substrato de Papel ou método do Papel de Filtro (“blotter test”) estabelecido pelo Manual de Análise Sanitária de Sementes (BRASIL, 2009a) do Ministério da Agricultura. As sementes são incubadas em papel de filtro à temperatura de 10 a 15°C, sob escuro contínuo por 30 dias, tempo relativamente longo para detecção de um fungo.

Existem algumas variações do método oficializado pelo Ministério da Agricultura que utilizam tempo, temperatura e métodos diferentes, como por exemplo, o rolo de papel filtro modificado, mas que, ainda assim, demandam um período de incubação maior do que sete

dias, tempo este necessário para detectar a maioria dos fungos presentes nas sementes (PARISI; MEDINA, 2009).

Anterior a qualquer destes métodos é imprescindível à realização da inspeção visual da amostra de sementes, considerando a fração correspondente aos pesos indicados na análise de pureza descritos nas Regras para Análise de Sementes vigentes. Porções de sementes são submetidas ao peneiramento com malha de tamanhos variados, coletando as frações obtidas em separado e dispendo-as em uma camada simples sobre superfície limpa, previamente desinfestada, e sob luminosidade suficiente para observações dos componentes fracionados a olho nu e/ou com auxílio de lupas à resolução de 10 a 40 X. Sementes e impurezas devem ser examinadas em separado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação e no Laboratório de Análises e Sementes (LASEM), do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, no mês de outubro de 2009.

3.1 Obtenção das amostras

O trabalho foi realizado com amostras, em um total de seis cultivares, obtidas com produtores de girassol da região do Triângulo Mineiro, onde estas foram analisadas qualitativamente, quanto a ocorrência ou não do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.

3.2 Análise da qualidade das sementes

A análise da qualidade das sementes de girassol foi realizada através do método do rolo de papel filtro modificado. As sementes foram semeadas sobre folhas de papel germitest, previamente umedecidas, medindo 38 x 28 cm, estas foram colocadas no substrato com espaçamento uniforme e suficiente para minimizar a competição e contaminação entre as sementes e plântulas em desenvolvimento, com o auxílio de um contador de sementes do tipo placa perfurada.

O papel germitest foi previamente umedecido com um volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009b), no caso 746,5 g, o que equivale um total de 108 folhas do substrato de papel. Sendo utilizado dessa maneira, o equivalente a 1866,25 mL. Determinado pelo controle de qualidade do Laboratório utilizou-se água destilada.

Após o umedecimento dos papéis germitest, as sementes foram semeadas, num total de 50 sementes, sobre uma folha do papel substrato sendo cobertas por uma outra do mesmo papel. As bases das folhas foram dobradas no sentido da maior dimensão e enroladas em sentido perpendicular ao primeiro, formando um rolo, tomando a atenção para que este não ficasse muito apertado para não impedir a aeração. Os rolos, num total de oito para cada lote, foram divididos em dois grupos, constituindo assim, dois rolos maiores com um total de quatro rolos menores; onde foram nestes, semeados as sementes. Estes rolos, posteriormente

foram levados para o germinador, onde foram submetidos, durante sete dias a uma temperatura de 20°C.

O substrato, durante todo o teste, foi mantido suficientemente úmido a fim de dar às sementes a quantidade de água necessária para sua germinação. Desta maneira, os rolos foram acondicionados dentro de sacos plásticos, para manter a umidade durante a incubação e foi feita a reposição da água na cuba do germinador quando foi necessário. Foi tomado o cuidado para que os papéis não ficassem tão umedecidos a ponto de formar uma película de água em torno das sementes, já que este excesso restringe a aeração prejudicando a germinação.

Todos os utensílios usados no teste foram, conservados limpos para evitar a ocorrência de contaminação. Os gerbox foram desinfetados utilizando uma solução de hipoclorito de sódio e a desinfestação dos germinadores foi feita com álcool a 70%.

Para o teste de germinação, as sementes de girassol não exigem especificações em relação à presença de luz. Para o teste foi estabelecida um regime de 12 horas de luz fluorescente e 12 horas de escuro.

Após o período de sete dias de incubação os rolos foram analisados quanto a existência de plântulas saudáveis, plantas infeccionadas, e a existência de plântulas e sementes mortas com a presença de um micélio cotonoso de coloração branca, característico do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, ou até mesmo a existência de escleródios. As plântulas com sintomas da doença e as sementes mortas, ambas circundadas ou não por micélio cotonoso, foram retiradas dos rolos, colocadas em gerbox contendo duas folhas de papel “mataborrão” umedecido e, em seguida, foram novamente incubadas no germinador por três dias sob as mesmas condições do período de germinação, a fim de favorecer o desenvolvimento de escleródios, uma vez que a presença apenas do micélio branco não confirma a existência do fungo, por ser característica também, de outros patógenos. Na seqüência, as caixas com as plântulas foram incubadas por mais três dias, totalizando seis dias de incubação, e ao final deste segundo período as plântulas e sementes mortas foram reavaliadas quanto a presença de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a incubação das sementes nos germinadores, a umidade relativa se manteve alta, com o auxílio de sacos plásticos revestindo os rolos e também com a reposição de água na cuba do germinador, a temperaturas se estabeleceu em uma média de 20°C. Zimmer e Hoes (1989, apud MALDANER, 2009) citam que o intervalo de temperatura ótima para o desenvolvimento micelial situa-se entre 18°C e 25°C, o que indica que o experimento foi conduzido em condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, o que não foi percebido, não havendo assim, a detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em nenhum lote submetido à análise de sementes durante o período de incubação. Entretanto, foram detectadas várias plântulas com sintomas da doença e sementes mortas. A incubação destas plântulas com sintomas e das sementes mortas em caixas gerbox com umidade por três dias possibilitou o desenvolvimento de micélio fúngico branco e cotonoso, mas não houve formação de escleródios, resultado que permaneceu inalterado mesmo prolongando a incubação até o sexto dia, e o micélio apresentava características de patógenos do gênero *Fusarium* sp.

Segundo Parisi et al. (2006) o teste de germinação em rolo de papel modificado, consistindo na colocação dos rolos de papel em sacos plásticos, seguido da incubação de plântulas infeccionadas em gerbox úmida, foi eficiente para a detecção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão. Segundo estes autores com eficiência estatisticamente igual á do método desenvolvido por Koch e Menten (2000). Recentemente, Parisi et al. (2009) comprovaram que este método além de sensível, rápido, simples e de baixo custo, pode ser utilizado nas análises de rotina, como medida preventiva da disseminação do patógeno e também pode ser avaliado para a detecção de *S. sclerotiorum* em sementes de outras culturas, como as do girassol.

Segundo Nasser et al. (2009) as análises utilizadas para detectar *S. sclerotiorum* em sementes de feijão utilizando os métodos existentes têm encontrado de 0,25 a 2,3% de sementes infectadas. Embora pareça muito pequena a infecção de 0,25% de sementes, o que representa uma semente infectada em 400 analisadas, isso pode significar, em uma população de 250.000 plantas por hectare, a introdução de 625 focos primários da doença, fato este extremamente relevante, principalmente em áreas ainda isentas do patógeno. Tais dados não são considerados como regra. Gomes et al. (2006) detectaram em um determinado genótipo de girassol, através da análise sanitária de sementes, um grande percentual de sementes com este fungo, o equivalente a 17%, demonstrando também que a infecção destas sementes não

esta relacionada com bom índice de vigor e germinação das sementes, onde alguns genótipos mesmo apresentando baixos índices de vigor de sementes e germinação, apresentam altos índices de plântulas infectadas e mortas.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que não foram detectadas sementes com micélio dormente do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* nas amostras analisadas.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, E.P.; RAMOS, N.P.; UNGARO, M.R.G.; KIIHL, T. A. M. Correlações e análise de trilha em girassol. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p.307-316, 2008.
- BERNARDES, A. **Intensidade do mofo-branco do feijoeiro em função da densidade de plantio e da aplicação de *Trichoderma* spp.** 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília, DF: SDNA/DNDV/CLAV, 2009 a. 200p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 2009 b. 398p.
- CÁCERES, D.R. **Cultura do Girassol**, 2009. Disponível em:
<http://www.cati.sp.gov.br/novacati/tecnologias/produção_agrícola/girassol/cultura_girassol>
> Acesso em: 20 /04/2010.
- CARVALHO, M. V. **Ocorrência, contágio e associação em sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1997. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- CASA, R.T.; REIS, E.M.; MEDEIROS, C.A.; MOURA, F.B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas, na proteção de fungos do solo, no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v.20, p.633-637, 1995.
- CASTRO, C.; FARIAS, J. R. B. Ecofisiologia do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHETTI, A.M.; CASTRO, C. (ed). **Girassol no Brasil**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005, p. 163-218.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento abril de 2010**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/8graos_6.5.10.pdf>. Acesso em: 25 /04/2010.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento junho de 2009**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/sureg/RS/9prevarea09.pdf>>. Acesso em: 28 /06/2009.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento setembro de 2008**. Disponível em:
<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/12_levantamento_set2008.pdf> Acesso em: 15/09/2010.
- DUNCAN, R. W. **Evaluation of host tolerance, biological, chemical, and cultural control of *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower (*Helianthus annuus* L.)**. 2003. 59 f. Tese (Mestrado), University of Manitoba, Manitoba.
- EMBRAPA. **Tecnologias de Produção Girassol: Cultivo do girassol**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaogirassol/importancia.htm>>. Acesso em: 26 jan, Embrapa Soja, 2010.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 24, n. 2, p. 70-76, 2002.

GOMES, E.M. **Parâmetros básicos para irrigação sistemática do girassol (*Helianthus annuus* L.)**. 2005. 99 f. Tese de doutorado (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GOMES, D.P., BRINGEL, J. M.M., MORAES, M.F.H., GOMES, J.J.A., LEITE, R.M.V.B.C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de girassol produzidas na região de Timon, Maranhão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, n.3, p.291-292, 2006.

GUIMARÃES, R. L.; STOTZ, H. U. Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 136, p. 3703-3711, 2004.

HENNING, A.A. **Patologia de Sementes**. Londrina: EMBRAPA - CNPSo, 1994. 43p. (EMBRAPA - CNPSo / Documento 90).

ITO, M. F., PARISI, J. J. D. **Mofa-Branco**: Doença que exige muita atenção, principalmente no período outono-inverno. Disponível em: <
<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/mofobranco.htm> >. Acesso em: 19 dez. Campinas, 2009.

KOCH, E.F.A.; MENTEN, J.O.M. Método alternativo para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.276-279, 2000.

LASCA, D.H.C. Produção de girassol em São Paulo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, Goiânia, 1993. **Resumos**. Campinas: IAC, 1993. p. 9-11.

LAZZAROTTO, J. J.; ROESSING, A.C.; MELLO, H.C. O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHETTI, A.M.; CASTRO, C. (ed). **Girassol no Brasil**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. Cap. 02, p.15-42.

LEITE, R. M.V.B.C. Doenças do Girassol (*Helianthus annuus*). In: KIMATI, H., AMORIM, L. (ed). **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005 (a). Cap. 43, p. 385-399.

LEITE, R.M.V.B.C. Manejo de doenças no girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHETTI, A.M.; CASTRO, C. (ed). **Girassol no Brasil**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005 (b), cap.17, p. 501-546.

LENTZ, D.; POHL, M.E.D.; POPE, K.O.; WYAT, A.R. Origem e histórico do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHETTI, A.M.; CASTRO, C. (ed). **Girassol no Brasil**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005, cap.1, p. 1-14.

LUCCA FILHO, O. A. Importância da Sanidade na produção de sementes de alta qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 7, n. 1, p.113-124, 1985.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, p. 95–101, 2001.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

MALDANER, I. C. **Irrigação e aplicação de fungicida na ocorrência de doenças e produtividade do girassol**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal De Santa Maria, Santa Maria.

MENEZES, J.R. Testes de sanidade de sementes de feijão. In: SOAVE, J.; WETZEL M.M.V.S. (ed.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap. 18, p. 395-405.

MENTEN, J. O. Diagnóstico da patologia de sementes de girassol no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 7, n. 1, p.25-30, 1985.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: MENTEN, J.O.M. (ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991a. p. 203–217.

MENTEN, J. O. M. Prejuízos causados por patógenos às sementes. In: MENTEM, J.O.M. (ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991b. p. 115–136

NASSER, L.C.B.; NAPOLEÃO, R.; CARVAJAL, R.A. **Mofo branco** - cuidado com a semente. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=51>>. Acesso em: 19 dez. 2009.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2. ed. London: McMillan, 1979. 1190 p.

NOVEMBRE, A. D. L. C. **Avaliação da qualidade de sementes**, Londrina. 2001. Disponível em:<<http://www.seednews.inf.br>>. Acesso em: 19 abr. 2010.

OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo branco, 2005. **Revista DBO Agrotecnologia, São Paulo**. Ano 2 –nº 4. Disponível em : <<http://www.jcofertilizantes.com.br/pesquisa/pesquisa2-manejo-do-mofo-branco.pdf>>. Acesso em 10 jan. 2008.

PAULA JÚNIOR, T. J.; FERREIRA, A. C. de B.; CHAGAS, J. M.; CARNEIRO, J. E. S. **Cultura do feijão**. Belo Horizonte: EPAMIG/CTZM, 2004, 52 p.(Guia técnico).

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Eficiência do método do rolo de papel toalha modificado para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* e avaliação do vigor em sementes de soja**. 2009. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

PARISI, J.J.D.; PATRÍCIO, F.R.A., OLIVEIRA, S.H.F. Método do rolo de papel toalha modificado para a detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, n.3, p.288-290, 2006.

PELEGRINI, B. **Girassol: Uma planta solar que das Américas conquistou o mundo**. São Paulo: Icone, 1985.117p.

PERES, A.P. **Deteção de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De bary em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e soja (*Glycine max* (L.) Merrill): desenvolvimento de metodologias.** Lavras, 1996. 51f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PORTO, W.S.; CARVALHO, C.G.P. de; PINTO, R.J.B. Adaptabilidade e estabilidade como critérios para seleção de genótipos de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 4, p.491-499, 2007.

PUIGNAN, J.P. **Mejoramiento genético de girasol.** Montevideo: IICA, PROCISUR, 1994. p.37-41.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, disease and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. **Phytopathology**, Saint Paul. p.875-880.1979.

RAMOS, N.P. **Eventos avaliam impactos ambientais da produção de girassol na obtenção de biocombustíveis.** Disponível em: < <http://bit.ly/bL03BG>>. Acesso em: 23 jan. 2010.

SHANG, Y. **Biocontrol of *Sclerotinia* Stem Rot of Cano by Bacterial Antagonists and Study of Biocontrol Mechanisms Involved.** 2004. 46 f. Tese (Mestrado) - University Of Manitoba, Winnipeg.

SILVA, C. S. **Qualidade Fisiológica e sanitária de sementes de arroz com diferentes graus de umidade tratadas com fungicidas.** 2007. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

TANAKA, M. A. S. Doenças em sementes de soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 7, n. 2, p. 36–48, 1982.

TEIXEIRA, H.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C. Influência de *Colletotrichum gossypii* South no desenvolvimento inicial do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) em função da localização do inóculo e desinfestação das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 19, n. 1, p. 9-13, 1997.

VIEIRA, R. D.; PANOBIANCO, M.; LEMOS, L. B.; FORNASIERI FILHO, D. Efeito de genótipos de feijão e de soja sobre os resultados da condutividade elétrica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 18, n. 2, p. 220-224, 1996.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N.M. (ed.). **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: Funep, 1994. p. 103–139.

UNGARO, M.R.G. **Cultivo e processamento de girassol, a planta mais completa, para todos os usos.** Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaogirassol/importancia.htm>>. Acesso em: 19 dez. 2009.

UNGARO, M.R.G. O girassol no Brasil. **O Agrônomo**, Campinas, v.34, p.43-62, 1982.