

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**Avaliação de híbridos e fungicidas para controle de *Alternaria* spp. em
canola**

Alexandre Spalding Scheffer

Passo Fundo

2017

Alexandre Spalding Scheffer

Avaliação de híbridos e fungicidas para controle de *Alternaria* spp. em canola

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção e Proteção de Plantas.

Orientadora:
Carolina Cardoso Deuner

Passo Fundo

2017

CIP – Catalogação na Publicação

- S316a Scheffer, Alexandre Spalding
Avaliação de híbridos e fungicidas para controle de
Alternaria spp. em canola. / Alexandre Spalding Scheffer. –
2017.
57 f. : il., color. ; 30 cm.
- Orientador: Profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de
Passo Fundo, 2017.

1. Colza. 2. Controle híbrido. 3. Fungicidas. I. Deuner,
Carolina Cardoso, orientadora. II. Título.

CDU: 633.853.49

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

“Avaliação de híbridos e fungicidas para controle de *Alternaria* spp. em canola”

Elaborada por

Alexandre Spalding Scheffer

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

Aprovada em: 29/06/2017
Pela Comissão Examinadora

Dra. Carolina Cardoso Deuner
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora

Dra. Eunice Oliveira Calvete
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

Dr. Gilberto Omar Tomm
Embrapa trigo

Dr. Hélio Carlos Rocha
Diretor FAMV

Dra. Nadia Canali Lângaro
FAMV

AGRADECIMENTOS

À minha família e minha namorada, que sempre me apoiaram para a realização do curso de Pós-Graduação.

À professora e orientadora, Dra. Carolina Cardoso Deuner, pela orientação, amizade e compreensão.

Aos professores Carlos Alberto Forcelini, Eunice Calvete e Simone Basso por estarem sempre dispostos a ajudar.

À CAPES e UPF, pela oportunidade de realizar este curso e ao PPGAgro pela dedicação com que atendem seus Pós-Graduandos.

Aos funcionários da UPF, Cinara Cardoso e Paulo Tironi, pelos ensinamentos, dedicação e colaboração.

Aos colaboradores e à equipe do Laboratório de Fitopatologia, em especial aos estagiários Giovani Pastre e Gustavo Visintin pela amizade e colaboração nos experimentos.

RESUMO

Avaliação de híbridos e fungicidas para controle de *Alternaria* spp. em canola

A mancha-de-alternária é uma das principais doenças fúngicas da canola, sendo responsável por danos e perdas na cultura. Levando em conta a importância da doença, os objetivos deste trabalho foram: a) verificar se há variabilidade de resistência entre híbridos de canola quanto à infecção por *Alternaria* spp.; b) verificar se *Alternaria* spp. afeta a qualidade fisiológica das sementes de canola e que ingredientes ativos são eficientes no seu controle; e c) testar se tratamentos fungicidas aplicados de forma preventiva e erradicativa, são eficientes em controlar o fungo inoculado artificialmente em plantas de canola. Técnicas de inoculação de fungo em sementes e na parte aérea de plantas possibilitam a obtenção de sementes altamente infectadas e de plantas com o inóculo para posterior estudo. O método utilizado para inocular o fungo em sementes constou no contato da semente com o inóculo sobre meio de cultura contendo restritor hídrico manitol. Para inocular o fungo na parte aérea foi utilizado a pulverização de uma suspensão de conídios e as plantas foram incubadas com condições controladas para o estabelecimento da doença. Os experimentos foram conduzidos em laboratórios, câmaras de inoculação e casa-de-vegetação. Para avaliar se existe variabilidade de híbridos de canola na resistência ao fungo, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo avaliados o número de lesões de *Alternaria* spp. por planta, incidência de folhas com lesões por planta e o tamanho médio de lesão. Para avaliar se o fungo afeta a qualidade fisiológica das sementes de canola e que ingredientes ativos são eficientes no seu controle, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com oito repetições em laboratórios e blocos ao acaso, com quatro repetições no experimento em casa-de-vegetação, sendo avaliados número de colônias de *Alternaria* spp., porcentagem de controle do fungo, germinação, vigor, índice de velocidade de germinação de sementes, altura de hipocótilo, comprimento de raiz primária, emergência de plântulas aos sete e doze dias após a semeadura, altura de parte aérea e comprimento de raiz. Para avaliar se fungicidas aplicados de forma preventiva e erradicativa são eficientes em controlar o fungo em plantas de canola, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo avaliados incidência de síliquas infectadas de *Alternaria* spp. por planta, número de lesões por síliqua, tamanho médio de lesão e porcentagem de controle dos fungicidas. Há variabilidade em híbridos de canola quanto à resistência à *Alternaria* spp. Os híbridos HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentam maior resistência ao fungo inoculado em plantas de canola em relação aos demais híbridos, sendo que não apresentam diferença significativa em relação aos híbridos ALHT M6, Diamond e HYOLA 433, para incidência de folhas com lesões e do híbrido HYOLA 571CL para tamanho médio de lesão de *Alternaria* spp. A colonização de *Alternaria* spp. em sementes de canola foi eficiente. A testemunha sem *Alternaria* spp. e sem fungicida apresenta maior porcentagem de germinação de sementes, comparada a testemunha inoculada com *Alternaria* spp. e sem fungicida. Os ingredientes ativos difenoconazol, iprodiona e metalaxil-M + fludioxonil apresentam controle de *Alternaria* spp. inoculado em sementes de canola. Sendo que em 2015 os ingredientes ativos carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil, e em 2016 carbendazim + tiram, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil, também apresenta controle sobre o fungo. O ingrediente ativo iprodiona se destaca

no controle do fungo inoculado em sementes de canola, e em 2016 diferiu da testemunha com o fungo e sem fungicida, para as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raiz primária e altura de parte aérea. Aplicações de fungicidas com azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculado em plantas de canola, tanto em aplicação preventiva quanto erradicativa. Em aplicação preventiva, os fungicidas testados diferem da testemunha inoculada com o fungo em relação ao tamanho médio de lesão.

Palavras-chave: 1. *Alternaria alternata*. 2. *Brassica napus* L. var. *oleifera* 3. Inoculação. 4. Manitol. 5. Restrição hídrica.

ABSTRACT

Evaluation of hybrids and fungicides to control *Alternaria* spp. in canola

The *Alternaria* spp. is one of the main fungal diseases of canola, being responsible for damages and losses in the culture. Taking into account the importance of the disease, the goals of this job were following: a) to verify if there is variability of resistance between canola hybrids as to the *Alternaria* spp. infection; b) to verify if the *Alternaria* spp. affects the physiological quality of canola seeds and what active ingredients are efficient in its control; and c) to test if fungicide treatments applied in a preventive and eradication way are efficient to control the fungus artificially inoculated in canola plants. The techniques of fungus inoculation in seeds and in the aerial part of plants make it possible to obtain hygly infected seeds and plants with the inoculum for later study. The method used to inoculate the fungus in seeds consisted in the contact of the seed with the inoculum on culture medium containing mannitol water restrictor. In order to inoculate the fungus in the aerial part it was used a spraying suspension of conidia and the plants were incubated with controlled conditions to the establishment of the disease. The experiments were conducted in laboratories, in inoculation chambers and in a greenhouse. In order to evaluate if there is variability of canola hybrids in fungus resistance, the experimental desing used was completely randomized with six repetitions, evaluating the number of *Alternaria* spp. lesions per plant, the incidence of leaves with lesions per plant and the average lesion size. As to evaluate if the fungus affects the canola physiological quality of canola seeds and what active ingredients are efficient to its control, the experimental desing used was completely randomized with eight repetitions in laboratories and in random blocks with four repetitions in the greenhouse experiment, evaluating the number of colonies of *Alternaria* spp., percentage of fungus control, germination, vigor, seed germination speed index, hypocotyl height, primary root length, seedling emergence at seven and twelve days after the sowing, shoot height and root lenght. In order to evaluated if fungicides applied in a preventive and eradication way are efficient to control the fungus in canola plants, the experimental desing used was completely randomized with six repetitions, evaluating the incidence of silica infected with *Alternaria* spp. per plant, number of lesions per silica, average lesion size and percentage control of the fungicides. There is variability in canola hybrids as to the resistance to *Alternaria* spp. The hybrids HYOLA 61 and HYOLA 76 present higher resistance to the inoculated fungus in canola plants in relation to the other hybrids, and they do not present a significant difference in relation to the hybrids ALHT M6, Diamond and HYOLA 433, to the incidence of leaves with lesions and the hybrid HYOLA 571CL to average lesion size of *Alternaria* spp. The colonization of *Alternaria* spp. in canola seeds was efficient. The control without *Alternaria* spp. and without fungicide present a higher percentage of germination of seeds, compared to the control inoculated with *Alternaria* spp. and without fungicide. The active ingredients diphenconazole, iprodione and metalaxyl-M + fludioxonil present control of *Alternaria* spp. inoculated in canola seeds. Being that in 2015 the active ingredients carbendazim + thiram + metalaxyl-M + fludioxonil, metalaxyl-M + thiabendazole + fludioxonil and pyraclostrobin + thiophanate-methyl + fipronil, and in 2016 carbendazim + thiram, thiophanate-methyl + fluazinam and thiophanate-methyl + metalaxyl-M + fludioxonil, also presented control of the fungus. The active ingredient iprodione stands out in the control of the inoculated fungus in canola seeds, and in 2016 differed from the inoculated control with the fungus and without fungicide, for the germination variables, seed germination speed index, primary root length and

shoot height. The fungicide applications with azoxystrobin + cyproconazole, iprodione and flutriafol are efficient to control *Alternaria* spp. inoculated in canola plants, both in preventive and in eradication application. In preventive application, the tested fungicides differ from the control inoculated with the fungus in relation to the average lesion size.

Key words: 1. *Alternaria alternata*. 2. *Brassica napus* L. var. *oleifera*. 3. Inoculation. 4. Mannitol. 5. Water restriction.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	<i>Considerações sobre a cultura da canola</i>	14
2.2	<i>Doenças fúngicas na cultura da canola</i>	15
2.2.1	Fungos associados a sementes de canola	16
2.3	<i>Mancha-de-alternária</i>	16
2.3.1	Etiologia	16
2.3.2	Hospedeiros	18
2.3.3	Ciclo da relação <i>Alternaria</i> spp. x <i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>	18
2.3.4	Sintomas	20
2.3.5	Manejo integrado	22
2.3.5.1	Controle cultural	22
2.3.5.2	Controle genético	22
2.3.5.3	Controle químico	23
2.4	<i>Inoculação artificial de fungos</i>	23
2.4.1	Inoculação de fungos em sementes	23
2.4.2	Inoculação de fungos em plantas	24
3	CAPÍTULO I- VARIABILIDADE DE HÍBRIDOS DE CANOLA NA RESISTÊNCIA À <i>Alternaria</i> spp.	25
3.1	<i>Resumo</i>	25
3.2	<i>Introdução</i>	25
3.3	<i>Material e métodos</i>	27
3.4	<i>Resultados e discussão</i>	28
3.5	<i>Conclusões</i>	30
4	CAPÍTULO II- TRATAMENTO DE SEMENTES DE CANOLA COM FUNGICIDAS PARA O CONTROLE DE <i>Alternaria</i> spp.	31
4.1	<i>Resumo</i>	31
4.2	<i>Introdução</i>	31
4.3	<i>Material e métodos</i>	32
4.4	<i>Resultados e discussão</i>	37
4.5	<i>Conclusões</i>	42

5	CAPÍTULO III- CONTROLE QUÍMICO PREVENTIVO E ERRADICATIVO DE <i>Alternaria</i> spp. EM CANOLA	43
5.1	<i>Resumo</i>	43
5.2	<i>Introdução</i>	43
5.3	<i>Material e métodos</i>	45
5.4	<i>Resultados e discussão</i>	47
5.5	<i>Conclusões</i>	49
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
7	CONCLUSÃO GERAL	51
	REFERÊNCIAS	52
	APÊNDICE	56
	<i>Apêndice I</i>	57

1 INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*, Brassicaceae) é uma oleaginosa utilizada para extração de óleo de alta qualidade para consumo humano ou biodiesel e farelo utilizado na formulação de rações (TOMM et al., 2009).

O cultivo de canola oportuniza a produção de óleos vegetais, vindo se somar à produção de soja, se encaixando nos sistemas de rotação de cultivos no outono-inverno da região Sul e na safrinha na região Centro-oeste do Brasil, otimizando os meios de produção (terra, equipamentos, pessoas) além de servir de fonte de renda ao agricultor (TOMM, 2007; TOMM et al., 2010).

A cultura está sujeita a doenças causadas por bactérias, fungos e vírus. A ocorrência está relacionada à disponibilidade de inóculo, condições favoráveis de clima e presença de material genético suscetível. A interação desses fatores pode possibilitar epifitias e a ocorrência de danos (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2005, p. 197).

A mancha-de-alternária é causada principalmente por três espécies de fungo do gênero *Alternaria*, a *Alternaria alternata* Fries Keissler (1912), *A. brassicae* Berkeley Saccardo (1880) e *A. raphani* Groves & Skolko (1944), a infecção do fungo pode ocorrer em todos os estádios de desenvolvimento da planta. O inóculo vem de sementes infectadas, restos culturais ou de esporos produzidos por plantas hospedeiras. Os danos no rendimento de grãos podem ser superiores a 20% o que pode ser agravado por deiscência das síliquas e do grão subsequente (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016a).

O emprego de resistência genética de um híbrido a uma determinada doença constitui uma medida preventiva no controle de doenças que pode ser adotada pelos produtores, reduzindo o uso de defensivos agrícolas, protegendo o meio ambiente e evitando danos na cultura.

A semente é o meio mais eficiente de disseminação de patógenos, uma vez que o patógeno veiculado por ela tem maior chance de provocar doença na planta oriunda dela e se espalhar para outras plantas sadias, iniciando assim uma epidemia (PARISI; MEDINA, 2016).

A aplicação de fungicidas na parte aérea de plantas protege da penetração e/ou posterior desenvolvimento de fungos patogênicos em seus tecidos (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 17), permitindo contribuir para a sanidade da planta e evitar danos.

Técnicas de inoculação de fungo em sementes e na parte aérea de planta possibilitam a obtenção de sementes altamente infectadas e de plantas com o inóculo para posterior estudo.

O emprego de híbridos com resistência ou tolerância a uma doença é uma medida de controle, porém a resistência de híbridos de canola ao fungo *Alternaria* spp. é desconhecida. As sementes de canola comercializadas no Brasil são tratadas com fungicidas, apesar disso, em análise sanitária realizada em lotes de sementes foi observada a presença de *Alternaria* spp. Não existe registro no Brasil de fungicidas para a cultura da canola visando ao tratamento de sementes deste fungo. Existe apenas para fungicida para o controle da mancha-de-alternária, na parte aérea das plantas. O momento de aplicação de fungicidas na parte aérea é importante, pois o fungo afeta qualitativamente e quantitativamente a produção de grãos. A falta de estudos sobre o manejo da doença dificulta o manejo integrado da doença.

Dessa forma, a identificação de híbridos resistentes ao fungo pode ser uma ferramenta importante no manejo integrado da doença, o qual deve ser combinado com o conhecimento da eficiência de fungicidas e momentos de aplicação, visando ao controle da mancha-de-alternária.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar: 1) se há variabilidade de resistência entre híbridos de canola quanto a *Alternaria* spp.; 2) se *Alternaria* spp. afeta a qualidade fisiológica das sementes de canola; 3) que ingredientes ativos são eficientes no seu controle; e 4) se tratamentos fungicidas aplicados de forma preventiva e erradicativa, são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculadas artificialmente em plantas de canola.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações sobre a cultura da canola

No Brasil, as pesquisas e o cultivo de canola (*Brassica napus* L.) foram iniciadas pela Cotrijuí, em 1974, em Ijuí, Rio Grande do Sul, com a cultura da colza. O cultivo alcançou o Paraná já no início dos anos 80. No entanto, na década de 90, observou-se uma retração do cultivo da oleaginosa. A partir do ano de 2001, houve uma retomada na expansão da área de cultivo comercial de canola (TOMM et al., 2010).

As cultivares de colza continham altas concentrações de ácido erúxico no óleo extraído e não eram consideradas comestíveis. Um novo nome era necessário para distinguir as cultivares desenvolvidas que apresentavam concentrações mais baixas de ácido erúxico. Em 1978, a Associação de Colza do Canadá escolheu a palavra “canola” para se tornar a marca registrada de óleo de colza com menos de 2% de ácido erúxico e menos de 30 μmol de glucosinolatos alifáticos por grama de farelo desengordurado (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016a).

No Brasil a canola é cultivada nos estados de Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. A área em 2016 foi de 47,5 mil hectares, com uma produtividade média de 1.514 kg/ha e uma produção de 71,9 mil toneladas. O Rio Grande do Sul, principal produtor, teve uma área de 41,2 mil hectares, com produtividade média de 1.520 kg/ha (CONAB, 2017). No mundo os principais produtores são a União Européia, Canadá, China, Índia e Austrália (EMBRAPA TRIGO, 2014).

Existem poucos defensivos agrícolas avaliados, recomendados e registrados para a canola no Brasil, outra limitação ao cultivo é a colheita, por apresentar desuniformidade na maturação por não ter completado o enchimento de grãos ou por desgrane no atraso da colheita. Práticas de colheita como corte-enleiramento ou uso de adesivante reduz perdas de grãos (TOMM et al., 2010; PIZOLOTTO et al., 2016).

2.2 Doenças fúngicas na cultura da canola

Entre as doenças fúngicas que ocorrem na cultura da canola estão a canela-preta (*Phoma lingam* (Tode) ex. Shaw. Desm.), oídio (*Erysiphe polygoni* DC), podridão-branca-da-haste (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Bary) e mancha-de-alternária (*Alternaria* spp.).

A canela-preta constitui uma das doenças mais importantes da canola mundialmente, sendo a estratégia de manejo mais econômica, a introdução de híbridos resistentes (TOMM, 2007). Esse patógeno pode infectar desde cotilédones até folhas, caules e siliques. Em pré e pós-emergência da cultura os sintomas de “damping off” assemelham-se aos causados por *Rhizoctonia solani*, podendo observar falhas de germinação e/ou morte de plântulas. Em cotilédones e folhas consistem em lesões circulares a irregulares, de coloração branca a amarelo-claro, com grande número de estruturas negras puntiformes correspondentes a picnídios. Os caules podem ser infectados por formas pouco agressivas, causando pequenas lesões ou cancrios nas áreas basais dos mesmos, ou ainda por formas de grande virulência, que ocasionam cancrios extensos e profundos. Esses cancrios impedem a nutrição adequada da planta, reduzem o ciclo da cultura e ocasionam a maturação e rompimento prematuro das siliques infectadas (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2005, p. 201).

O oídio causa manchas branca-acinzentada que cobrem total ou parcialmente os órgãos atingidos. Nos tecidos limítrofes, manchas necróticas escuras podem ocorrer. O patógeno é favorecido por períodos secos, com alternância de temperaturas baixas à noite e elevadas durante o dia e presença de orvalho nos tecidos do hospedeiro são fatores que favorecem o patógeno (CARDOSO et al., 1996).

A podridão-branca-da-haste infecta mais de cem espécies de plantas daninhas e culturas de folhas largas, como canola, soja e feijão, podendo sobreviver em restos culturais de plantas hospedeiras. Produz escleródios na cavidade de caules e pode permanecer no solo até dez anos. Em sementes infectadas, o fungo permanece vivo por sete anos, em média (TOMM, 2007). Cardoso et al. (1996), observaram sintomas em canola, de murcha com queda foliar, podridão seca dos tecidos colonizados, nas

cavidades de caules presença de escleródios, aceleração na maturação, siliquas com sementes chocas.

A mancha-de-alternária pode afetar a planta em todos os estádios de crescimento. Os esporos são disseminados pelo vento e a doença se alastra com clima úmido. Nas folhas, iniciam-se como lesões de coloração variando de marrons a negras, com halos amarelos em torno delas. Começa pelas cotiledonares da planta, podendo se multiplicar rapidamente e se espalhar para folhas superiores, hastes e siliquas causando deiscência de grãos. A doença pode reduzir o peso dos grãos e o teor de óleo (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016b).

2.2.1 Fungos associados a sementes de canola

No Brasil, as sementes comercializadas, importadas da Argentina e Austrália são tratadas com fungicidas (carboxina + tiram, metalaxil-M + fludioxonil, tiram). Apesar disso, em vinte e seis lotes de sementes de canola examinados (Apêndice I), foi observado a presença de fungos em mais de 70% das amostras, dentre eles, destacaram-se *Alternaria* spp., *Cercospora* spp., *Drechslera* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, com predominância do primeiro. Este fato pode estar atrelado à baixa eficiência de fungicidas utilizados ou ao poder residual.

2.3 Mancha-de-alternária

Segundo Rotem (1994, p. 11) “o gênero *Alternaria* foi descrito por Ness em 1817, com *A. alternata* (originalmente *A. tenuis*) como espécie tipo”. Pertence ao filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Pleosporales e família Pleosporaceae.

2.3.1 Etiologia

As espécies do gênero *Alternaria* são de fácil identificação, pela morfologia de seus grandes conídios, sendo catenulados (formados em cadeias ou solitários), tipicamente ovóides ou oblíquos, muitas vezes retorcidos e multicelulares, com septos

transversais e frequentemente oblíquos ou longitudinais. A espécie pode ser segregada em vários grupos de acordo com o número de conídios na cadeia (ROTEM, 1994, p. 12).

Apresentam coloração palha, parda ou ouro claro, são inseridos em conidióforos septados retos ou sinuosos que ocorrem isolados ou em grupos. As populações de *Alternaria* spp. são caracterizadas por apresentarem-se morfológicamente heterogêneas, diferindo quanto à coloração do micélio, produção de pigmentos em meio de cultura, presença ou ausência de esporulação em condições de laboratório, bem como quanto a patogenicidade e formação de setores em meio de cultura (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

A esporulação de *A. alternata* é em anéis concêntricos de superfície exposta à luz formando cadeias múltiplas-ramificadas de conídios. A parte aérea da colônia consiste de um crescimento menos denso de abundantes hifas subarborescente. O padrão típico de esporulação compreende um único conidióforo, um aglomerado apical de ramificação de cadeias pequenas, os conídios são separados por conidióforos curtos secundários. Em áreas de uma colônia expostas à luz, o conidióforo principal é relativamente curto, 40-70 x 3-4 μm , pode ser simples ou pode tornar-se ramificado (1-3) ou geniculado. Cadeias simples de conídios de *A. alternata* podem ter 15-20 conídios. Os primeiros 1 a 2 conídios em uma cadeia, geralmente apresenta forma longa elíptica. Os conídios produzidos mais tarde na cadeia se tornam ovóides ou elipsóides. Conídios elípticos são de 25-30 (-40) x 5-9 μm , com 4-7 septos transversais e pouca ou nenhuma longisepta; esporos subsequentes são de 7-25 (-40) x 5-12 μm , com 1-7 (muito comumente 3) transepta e muito poucos ou nenhum longisepta. A taxa de crescimento das colônias típicas de *A. alternata* é de cerca de 5 mm/dia em condições normais. Anéis concêntricos de alternância densa e moderada são evidentes, estes indicam incrementos de crescimento radial durante exposições sucessivas a ciclos diários de claro e escuro (SIMMONS, 2007, p. 582).

Uma característica comum, observada em algumas espécies de *Alternaria* spp., é a baixa capacidade, ou mesmo a ausência, de esporulação em meio de cultura. Um grande número de trabalhos indica diferentes métodos para induzir a esporulação

empregando variações quanto à luz utilizada, meios de cultura, ferimentos do micélio, temperaturas e idade das colônias (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

2.3.2 Hospedeiros

Segundo Rotem (1994, p. 251) a espécie *A. alternata* foi relatada em pelo menos 115 plantas hospedeiras de 43 famílias.

As principais plantas hospedeiras, além da canola, são: abacate (*Persea americana* L.), alface (*Lactuca sativa* L.), alfafa (*Medicago sativa* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), alho (*Allium sativum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), aveia (*Avena* spp.), banana (*Musa* spp.), batata (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), berinjela (*Solanum melongena* L.), caqui (*Diospyros kaki* L.), cebola (*Allium cepa* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), citros (*Citrus* spp.), coentro (*Coriandrum sativum* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), ervilha (*Pisum sativum* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), kiwi (*Actinidia deliciosa*), lentilha (*Lens culinaris* L.), mamão (*Carica papaya* L.), manga (*Mangifera indica* L.), maçã (*Malus domestica* L.), melão (*Cucumis melo* L.), milheto (*Pennisetum* spp.), milho (*Zea mays* L.), morango (*Fragaria vesca* L.), nabo (*Brassica rapa* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pêra (*Pyrus* spp.), pêssego (*Prunus persica* L.), pimenta (*Capsicum* spp.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.), repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sorgo (*Sorghum* spp.) (DEFESA VEGETAL, 2016).

2.3.3 Ciclo da relação *Alternaria* spp. x *Brassica napus* L. var. *oleifera*

O fungo é necrotrófico, e o inóculo inicial vem de sementes infectadas, restos culturais infectados ou infecção por espécies de plantas hospedeiras (Figura 1).

Os fungos do gênero *Alternaria* sobrevivem no intervalo entre cultivos, em restos de cultura infectados e hospedeiros intermediários, podendo sobreviver ainda em

equipamentos agrícolas. Além destas formas de sobrevivência, existe a possibilidade do patógeno, permanecer viável no solo na forma de micélio, esporos ou clamidósporos. Os conídios de *Alternaria* spp. são altamente resistentes a baixos níveis de umidade (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

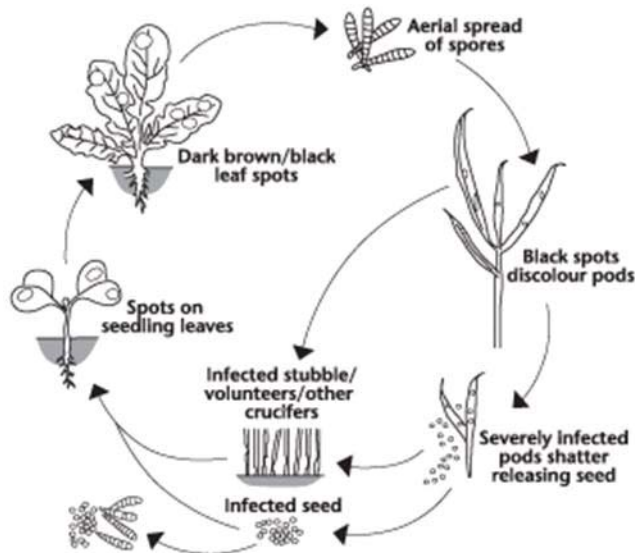


Figura 1 - Ciclo primário e secundário de *Alternaria* spp. em canola (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016a).

Para Rotem (1994, p. 83) em condições favoráveis, a maioria das espécies de *Alternaria* spp. germinam em aproximadamente uma a três horas, mas a penetração no tecido do hospedeiro pelos tubos germinativos pode ser atrasada. Alguns biótipos aparentemente menos virulentos, conseguem a penetração, somente tempo depois de os tubos germinativos emergirem e se espalharem na superfície da folha.

Uma vez presentes na cultura, os esporos são dispersos pela ação da água, ventos e insetos. Além dessas formas de disseminação, trabalhadores, equipamentos e animais, em contato com as folhas molhadas podem disseminar o fungo (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015). A temperatura ideal para germinação dos conídios de *A. brassicae* e respectiva infecção, está entre 17 e 24 °C (KIMATI et al., 2005, p. 202). As maiores dispersões de *A. brassicicola* (Schwein) Wiltshire (1947) em brássicas, ocorrem após um período de chuva, ou umidade foliar prolongada (com duração superior a 13 horas) com temperatura média acima de 13 °C (ROTEM, 1994, p. 140).

A umidade, fator importante na germinação de conídios, pode ser suprida pela chuva, água de irrigação ou orvalho. A presença de água livre na superfície foliar é fundamental para a germinação, infecção e esporulação do fungo. De maneira geral, os maiores índices de mancha-de-alternária ocorrem em condições de 40% de umidade relativa durante o dia e 95% durante a noite. Havendo umidade e calor suficientes, os conídios germinam e infectam as plantas rapidamente, podendo o fungo penetrar diretamente pela cutícula, por ferimentos ou através dos estômatos. A colonização é intercelular, invadindo tecidos do hospedeiro, provocando alterações em diversos processos fisiológicos, que se exteriorizam na forma de sintomas. Em condições de campo, as lesões surgem de 3 a 5 dias após a inoculação. Todavia em condições controladas os sintomas podem ser verificados 24 horas após a inoculação. A esporulação abundante do fungo ocorre na faixa de 14 a 26 °C, com umidade relativa de 100% durante 24 horas (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

2.3.4 Sintomas

O fungo pode afetar desde a fase inicial do desenvolvimento, causando tombamento de plântulas e necrose em cotilédones e hipocótilo. Nos cotilédones, as manchas aparecem na forma de pequenas lesões castanho-clara, tornando-se negras devido ao aparecimento dos conídios sob condições de umidade, e agem como fonte de infecção para outras partes da planta (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016b).

A doença costuma apresentar alto poder destrutivo em condições de altas temperaturas e umidade. A ocorrência de epidemias severas de *Alternaria* spp. está sempre associada a temperaturas diárias de 25 a 32 °C. A literatura cita que temperaturas mínimas, ótimas, e máximas necessárias para a germinação dos conídios são as de 5 a 7, 25 a 27 e 30 a 32 °C, respectivamente (TÖFOLI; DOMINGUES; FERRARI, 2015).

Nas folhas, iniciam-se como lesões marrons a negras, com halos amarelos em torno deles com tamanho (1 a 20 mm) e cor variando de acordo com as condições ambientais. As cores podem variar de totalmente cinza em condições úmidas a cinza com arroxeadado, com borda preta sob condições menos favoráveis. As lesões iniciam nas

folhas inferiores da planta podendo se multiplicar rapidamente e se espalhar para as folhas superiores, hastes e síliquis (Figura 2) (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016b).



Figura 2 - Sintomas de infecção por *Alternaria* spp. em folha de canola na parte adaxial e abaxial e em síliqua de canola (Acervo do autor, 2015).

Em folhas severamente infectadas sob condições de elevada umidade, várias lesões coalescem para causar desfolha. Em hastes, as lesões aparecem como pequenos pontos marrons ou pretos que podem evoluir para manchas visíveis ou lesões mais longas e amplas de várias formas. As manchas ou lesões podem ser totalmente preta ou acinzentada, com um centro branca-escuro limitado. Em casos graves, a parte superior das hastes e as síliquis secam. Em síliquis infectadas aparecem pontos preto, podendo ser pequenos e deprimidos, podendo variar de cinza a marrom. Síliquis infectadas podem amadurecer prematuramente e abrir, causando deiscência. Lesões profundas nas síliquis podem causar infecção da semente (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016a).

2.3.5 Manejo integrado

2.3.5.1 Controle cultural

A rotação de culturas tem uma eficácia limitada no controle da doença. Os esporos da mancha-de-alternária são disseminados pelo vento e podem chegar a locais afastados. Em parcelas de pesquisa, se observou que são necessários de três a quatro anos para a decomposição dos restos culturais da canola, em condições do Canadá com vários meses com temperaturas baixas. Em condições favoráveis para a propagação da doença a *Alternaria* spp. pode se espalhar com menos de 10% de resíduos de culturas deixados intactos. Também é importante o controle de plantas daninhas crucíferas e de canola voluntária durante a rotação. A fertilidade deve ser equilibrada e adequada, plantas deficientes em nutrientes tendem a ser mais suscetível a doença. Populações baixas de plantas e o aumento no espaçamento de entre-linhas permitem que o vento circule, ajudando a reduzir o estabelecimento da doença (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016b).

Não se deve semear grãos colhidos em lavouras de híbridos (geração F2 ou Fn), pois, frequentemente, esses grãos estão contaminados com fungos, como *Alternaria* spp., e geram lavouras com baixo estande e com desenvolvimento de plantas e maturação desuniforme. O valor da perda de rendimento de grãos é superior ao custo das sementes (TOMM et al., 2009).

2.3.5.2 Controle genético

Não se tem informações sobre resistência ou suscetibilidade de híbridos de canola ao fungo *Alternaria* spp.

Entre genótipos infectados por *A. brassicae*, houve diferenças significativas no número de lesões e respectivo tamanho, no período de latência, na capacidade de esporulação e taxa de infecção, sendo que espécies *B. napus* e *B. juncea* apresentaram maior resistência (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2005, p. 203).

2.3.5.3 Controle químico

O tratamento de sementes objetiva erradicar o inóculo veiculado pela semente para que não seja fonte de inóculo primário e proteger a semente e plântula da infecção de fungos. O inóculo veiculado pelas sementes está relacionado com o desenvolvimento inicial das doenças após a semeadura (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 131).

A aplicação de fungicida, em 95% de floração proporciona um controle econômico desta doença, estudos mostraram aumentos de rendimento variando de 9 a 36%, onde foi realizado. Além disso, o controle com fungicida aumentou a germinação de sementes, reduziu o número de sementes verdes de 8% para 4% e aumentou a massa de mil sementes em relação à área não tratada (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2015).

2.4 Inoculação artificial de fungos

2.4.1 Inoculação de fungos em sementes

O método de restrição hídrica, baseia-se no contato da semente com o inóculo sobre o meio de cultura contendo restritor hídrico "manitol". O manitol tem sido utilizado como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico por ser um composto inerte e não tóxico. Outro fator determinante para o sucesso da inoculação é o tempo de exposição das sementes ao inóculo (MACHADO et al., 2004; BERTAGNOLLI, 2015, p. 25 e 27). Desta forma, o manitol evita a absorção de água pelas sementes, impedindo a germinação.

Pedroso et al. (2013) inoculando *A. alternata* e *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko (1944) em sementes de coentro, empregando métodos de suspensão de conídios e restrição hídrica com manitol, obtiveram 100% de sementes infectadas.

Machado et al. (2004) obtiveram elevados níveis de infecção pelos fungos *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro utilizando o método da restrição hídrica, através do manitol.

Pedroso (2009, p. 55), inoculando *A. alternata* em sementes de cenoura com a restrição hídrica com manitol, verificou que o tratamento contendo BDA + manitol + fungo não diferiu estatisticamente da testemunha absoluta e da testemunha contendo BDA + manitol em relação à porcentagem de germinação das sementes.

Pedroso et al. (2010), inoculando *A. alternata* em sementes de salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill), obtiveram sucesso com o uso do método de restrição hídrica com manitol, sendo que o tratamento com sementes inoculadas não diferiu da testemunha para as variáveis de primeira contagem de germinação, germinação, plântulas anormais, comprimento de plântula e teste de vigor pelo método do teste de frio.

2.4.2 Inoculação de fungos em plantas

O estabelecimento artificial de uma doença consiste da obtenção, preparo e deposição do inóculo na superfície do hospedeiro; incubação; colonização; e, expressão dos sintomas e sinais. A inoculação de fungos fitopatogênicos consiste na transferência de quaisquer estruturas infectivas do patógeno (inóculo) do local onde são produzidos (fonte de inóculo) para o órgão a ser inoculado (ALFENAS et al., 2007, p. 117).

Azevedo et al. (2010) e Michielin et al. (2016) obtiveram sucesso na inoculação de *A. alternata* tanto em folhas destacadas, quanto em plantas jovens de híbridos de citros, através de pulverização com suspensão de conídios.

Carneiro et al. (2009), estudando patogenicidade de *A. brassicicola* em plantas de crambe (*Crambe abyssinica* Hochsts), pulverizaram uma suspensão de conídios na concentração de 2×10^4 conídios/mL sobre as plantas e observaram os primeiros sintomas do fungo dois dias após a inoculação.

Salustiano, Machado e Pittis (2005) obtiveram sucesso na inoculação de *A. helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara (1969) em plantas de girassol com atomização de suspensão de conídios.

3 CAPÍTULO I

VARIABILIDADE DE HÍBRIDOS DE CANOLA NA RESISTÊNCIA À *Alternaria* spp.

3.1 Resumo

O fungo *Alternaria* spp. incita uma das principais doenças fúngicas da canola. Causa lesões em folhas, hastes e siliquas, reduzindo a capacidade fotossintética e causando deiscência dos grãos. A resistência do híbrido a uma determinada doença é uma medida preventiva no controle que pode ser adotada pelos produtores, reduzindo o uso de defensivos agrícolas e protegendo o meio ambiente. Dessa forma, a identificação de híbridos menos suscetíveis ao fungo permite disponibilizar uma ferramenta importante no manejo fitossanitário da doença. Este trabalho teve como objetivo verificar se há variabilidade de resistência entre híbridos de canola quanto à infecção por *Alternaria* spp. Em casa-de-vegetação foram testados os híbridos ALHT B4, ALHT M6, Diamond, HYOLA 50, HYOLA 61, HYOLA 76, HYOLA 433 e HYOLA 571CL. Aos trinta e cinco dias após a emergência ocorreu a inoculação das plantas, através da pulverização de suspensão de conídios do fungo, as plantas apresentavam seis e sete folhas, as plantas foram mantidas em câmaras de inoculação para o estabelecimento da doença. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições. Foram avaliados: número de lesões de *Alternaria* spp. por planta, incidência de folhas com lesões por planta e tamanho médio de lesão. Há variabilidade em híbridos de canola quanto à resistência à *Alternaria* spp. Os híbridos HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentam maior resistência ao fungo inoculado em plantas de canola em relação aos demais híbridos, sendo que não apresentam diferença significativa em relação aos híbridos ALHT M6, Diamond e HYOLA 433, para incidência de folhas com lesões e do híbrido HYOLA 571CL para tamanho médio de lesão de *Alternaria* spp.

Palavras-chave: 1. *Brassica napus* L. var. *oleifera*. 2. Brassicaceae. 3. Inoculação. 4. Resistência. 5. Suscetibilidade.

3.2 Introdução

O fungo *Alternaria* spp. incita uma das principais doenças fúngicas da canola, causa lesões em folhas, hastes e siliquas, reduzindo a capacidade fotossintética e provocando deiscência dos grãos (TOMM et al., 2009). O emprego de híbridos com resistência ou tolerância a uma determinada doença constitui uma medida preventiva no controle de doenças que pode ser adotada pelos produtores, reduzindo o uso de defensivos agrícolas e o impacto ao meio ambiente. Dessa forma, a identificação de híbridos com menor suscetibilidade, permite disponibilizar um instrumento importante no manejo fitossanitário da doença.

A resistência é a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos. A tolerância é a capacidade inerente ou adquirida de uma planta em suportar um ataque do patógeno sem que ocorram danos significativos em sua produção. E a imunidade é a incapacidade de estabelecimento das relações patógeno x hospedeiro, a planta apresenta-se 100% livre do patógeno, ou seja, não existe o estabelecimento das relações patógeno-hospedeiro (UFCEG, 2016).

Em 2000, a doença canela-preta, causada pelo fungo *Leptosphaeria maculans*, o qual tem *Phoma lingam* (Tode) ex. Shaw. Desm. como sua forma conidial, começou a ocasionar prejuízos em lavouras do Rio Grande do Sul, principal produtor de canola do Brasil. Os híbridos HYOLA 43 e HYOLA 60 possuem resistência vertical (inibe o crescimento inicial do fungo) ao grupo de patogenicidade desse fungo, viabilizaram o início da expansão da área de cultivo de canola no Brasil. Em 2006, foi iniciado o cultivo comercial do híbrido HYOLA 61, com resistência poligênica, conferida pela presença de um conjunto de genes, mais ampla e estável. Os híbridos registrados desde então, HYOLA 433 e HYOLA 411 possuem esta característica que confere maior segurança à produção (TOMM et al., 2009). Hoje praticamente todos híbridos comercializados no Brasil possuem resistência à canela-preta.

No Canadá existem híbridos de canola com certo grau de resistência a podridão-branca-da-haste (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016b). Existem populações de *B. napus* com elevado nível de resistência ao oídio (*Erysiphe polygoni* DC), que poderão ser utilizadas no melhoramento genético como fontes de resistência à doença (CARDOSO; LEITE; BARBOSA, 2005).

Já, para a mancha-de-alternária, causada principalmente por três espécies do gênero *Alternaria*, a *Alternaria alternata* Fries Keissler (1912), *A. brassicae* Berkeley Saccardo (1880) e *A. raphani* Groves & Skolko (1944), não existem híbridos resistentes. Canola Council of Canada (2016b) cita que variedades de *B. napus* são menos suscetíveis que as de *B. rapa* por possuir maior cerosidade nas folhas.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar se há variabilidade de resistência entre híbridos de canola quanto à infecção por *Alternaria* spp.

3.3 Material e métodos

O trabalho de avaliação de variabilidade entre híbridos de canola na resistência à *Alternaria* spp. foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e casa-de-vegetação da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (FAMV/UPF), no período de maio a julho de 2015 e 2016.

O inóculo do fungo foi obtido a partir de análise sanitária (BRASIL, 2009a) de sementes de canola do híbrido HYOLA 433, obtido em revenda da região de Passo Fundo/RS. O fungo foi repicado para placas de Petry com o meio de cultura BSA (batata-sacarose-ágar) (BOOTH, 1971) e colocado em câmara de incubação até esporulação, por doze dias. Realizou-se a mensuração dos conídios e contagem do número de septos, identificando a espécie provavelmente *A. alternata* (SIMMONS, 2007, p. 582) e posteriormente, procedeu-se o isolamento monospórico em meio de cultura ágar-água (2%) (FERNANDEZ, 1993, p. 20 e 48; ALFENAS et al., 2007, p. 35). Após esse procedimento, o fungo foi colocado em placas com meio de cultura BSA para o prosseguimento dos estudos.

Em casa-de-vegetação foram semeados em vasos, oito híbridos de canola, o ALHT B4, ALHT M6, Diamond, HYOLA 50, HYOLA 61, HYOLA 76, HYOLA 433 e HYOLA 571CL, após a emergência foi deixada uma planta por vaso. Aos trinta e cinco dias após a emergência foi realizada a inoculação das plantas com o fungo *Alternaria* spp. As plantas apresentavam seis e sete folhas por planta, sem sintomas da doença. A colônia com doze dias de crescimento foi raspada com auxílio de um pincel e água destilada para remover o máximo de esporulação, sendo filtrada e acrescentada água destilada com espalhante adesivo Tween, formando uma suspensão de conídios. A concentração de conídios foi ajustada para 10.000 conídios/mL. Essa suspensão foi pulverizada sobre as plantas de canola, até o ponto de escorrimento e os vasos foram mantidos em câmara de inoculação (ALFENAS et al., 2007, p. 126) em temperatura de 24 °C, por 48 horas. Após 48 horas, as plantas voltaram para a casa-de-vegetação, onde permaneceram por mais sete dias.

Leite e Amorim (2002) verificaram que a melhor temperatura para inoculação de *A. helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara (1969) em girassol (*Helianthus annuus* L.) se

situa na faixa entre 25 a 30 °C e que a doença necessita de um molhamento foliar para se estabelecer. Islam e Maric (1980), estudando *A. helianthi* mostraram que temperaturas na faixa entre 24 a 27 °C favoreceram o desenvolvimento dessa doença, quando comparado com 17 °C e é necessário um período mínimo de 12 horas de umidade do ar saturada.

As unidades experimentais constaram de vasos contendo substrato comercial, sem restrição de fertilidade, em delineamento experimental inteiramente casualizado e seis repetições por tratamento.

As variáveis avaliadas foram: número de lesões de *Alternaria* spp. por planta, incidência de folhas com lesões por planta e tamanho médio de lesão.

O número de lesões ocasionadas pela mancha-de-alternária foi determinado pela contagem, com auxílio de lupa. A incidência de folhas com lesões foi calculada com base na contagem das folhas existentes na planta e das folhas com lesões. O tamanho médio de lesão foi estimado com auxílio de um paquímetro digital, e os resultados expressos em mm².

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico ASSISTAT. Realizou-se a análise conjunta dos dois anos avaliados e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3.4 Resultados e discussão

A inoculação do fungo *Alternaria* spp. nas plantas de canola foi eficiente, as lesões iniciais foram de coloração marrom ou manchas enegrecidas com halos amarelos em torno deles. As lesões variaram em tamanho (1,8 a 5,6 mm²). Canola Council of Canada (2016a) cita que o tamanho (1 a 20 mm) e a cor das lesões variam conforme as condições ambientais.

Os sintomas da infecção foram semelhantes aos observados por Cardoso et al. (1996), ou seja: lesões circulares, zonadas, de cor marrom a cinza ou marrom escuro, apresentando dimensões variadas, apresentando halo amarelo em torno das lesões nas partes abaxial e adaxial das folhas.

Os híbridos HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentaram menor número de lesões de *Alternaria* spp. por planta de canola inoculada com o fungo. O híbrido HYOLA 50 apresentou o maior número de lesões por planta, sem diferir estatisticamente do híbrido HYOLA 571CL (Figura 1).

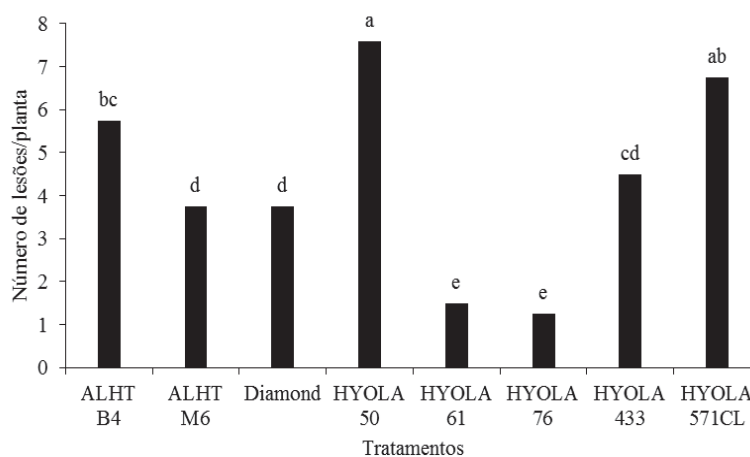


Figura 1 - Número de lesões de *Alternaria* spp. por planta de canola inoculada com o fungo, em análise conjunta de dois anos de avaliação. Letras diferentes sobre as colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Azevedo et al. (2010) e Michielin et al. (2016) encontraram grande variabilidade de reação à mancha-de-alternária entre genótipos de citros, tangerinas e seus híbridos, avaliando o número médio de lesões por folha, estimativa da área lesionada e severidade da doença.

Em relação à incidência de folhas com lesões de *Alternaria* spp. por planta (Tabela 1), os híbridos Diamond, HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentaram menor incidência de folhas com lesões, sem diferirem estatisticamente dos híbridos ALHT M6 e HYOLA 433. Os híbridos HYOLA 50 e HYOLA 571CL apresentaram maior incidência de folhas com lesões, sem diferir estatisticamente dos híbridos ALHT B4 e HYOLA 433.

O menor tamanho médio de lesão causado pelo fungo *Alternaria* spp. (Tabela 1) foram nos híbridos HYOLA 61 e HYOLA 571CL, sem diferirem estatisticamente do híbrido HYOLA 76. O maior tamanho médio de lesão foram nos híbridos ALHT B4 e Diamond, sem diferirem estatisticamente dos híbridos ALHT M6, HYOLA 50 e HYOLA 433.

Tabela 1 - Incidência e tamanho médio de lesão de *Alternaria* spp. em plantas de canola inoculadas com o fungo, em análise conjunta de dois anos de avaliação

	Tratamentos	Incidência (%)	Tamanho de lesão (mm²)
1	ALHT B4	37,49 ab ¹	3,95 a ¹
2	ALHT M6	23,60 bc	3,55 ab
3	Diamond	22,61 c	3,75 a
4	HYOLA 50	40,27 a	3,45 ab
5	HYOLA 61	16,66 c	2,65 c
6	HYOLA 76	15,27 c	3,00 bc
7	HYOLA 433	26,18 abc	3,70 ab
8	HYOLA 571CL	40,47 a	2,60 c

¹Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

3.5 Conclusões

Há variabilidade em híbridos de canola quanto à resistência à *Alternaria* spp. Os híbridos HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentam maior resistência ao fungo inoculado em plantas de canola em relação aos demais híbridos, sendo que não apresentam diferença significativa em relação aos híbridos ALHT M6, Diamond e HYOLA 433, para incidência de folhas com lesões e do híbrido HYOLA 571CL para tamanho médio de lesão de *Alternaria* spp.

4 CAPÍTULO II

TRATAMENTO DE SEMENTES DE CANOLA COM FUNGICIDAS PARA O CONTROLE DE *Alternaria* spp.

4.1 Resumo

Uma das limitantes ao sucesso na produção da cultura da canola é a presença de doenças fúngicas, como, a mancha-de-alternária (*Alternaria* spp.). Como medidas preventivas, utiliza-se rotação de culturas, resistência genética, sementes sadias e controle químico em sementes. Com essa última, evita-se a introdução de patógenos em novas áreas de cultivo e diminui-se o risco de estabelecimento precoce da doença. Este trabalho teve como objetivo verificar se *Alternaria* spp. afeta a qualidade fisiológica das sementes de canola e que ingredientes ativos são eficientes no seu controle. Foram realizados experimentos em laboratórios e em casa-de-vegetação. Em laboratório, o método de inoculação do fungo foi com restritor manitol, sendo posteriormente avaliados os ingredientes ativos carbendazim + tiram, carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil, piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições nos experimentos de laboratórios e blocos ao acaso, com quatro repetições no experimento em casa-de-vegetação. Foram avaliados: número de colônias de *Alternaria* spp., porcentagem de controle do fungo, germinação, vigor, índice de velocidade de germinação de sementes, altura de hipocótilo e comprimento de raiz primária. Em casa-de-vegetação, utilizaram-se as sementes de canola inoculadas com *Alternaria* spp., sendo avaliada a emergência de plântulas aos sete e doze dias após a semeadura, altura de parte aérea e o comprimento de raiz. A colonização do fungo em sementes de canola foi eficiente. A testemunha sem *Alternaria* spp. e sem fungicida apresenta maior porcentagem de germinação de sementes de canola, comparada a testemunha inoculada com *Alternaria* spp. e sem fungicida. Os ingredientes ativos difenoconazol, iprodiona e metalaxil-M + fludioxonil apresentam controle de *Alternaria* spp. inoculado em sementes de canola. Sendo que em 2015 os ingredientes ativos carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil, e em 2016 carbendazim + tiram, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil, também apresenta controle sobre o fungo. O ingrediente ativo iprodiona se destaca no controle do fungo inoculado em sementes de canola, e em 2016 diferiu da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, para as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raiz primária e altura de parte aérea.

Palavras-chave: 1. Inoculação. 2. Iprodiona. 3. Manitol. 4. Restrição hídrica.

4.2 Introdução

A semente é o vetor mais eficiente de disseminação de patógenos devido às suas características intrínsecas, uma vez que o patógeno veiculado por ela tem maior chance de provocar doença na planta oriunda dela e se espalhar para outras plantas sadias,

iniciando assim uma epidemia. O tratamento de sementes é, provavelmente, a medida mais antiga, barata e, às vezes, a mais segura para conter a proliferação da doença (PARISI; MEDINA, 2016). Os patógenos presentes nas sementes são transportados e introduzidos em áreas de cultivos, podendo ser transmitidos para órgãos aéreos, com o tratamento de sementes procura-se a erradicação dos patógenos (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 132). Com o tratamento de sementes se evita a introdução de patógenos em novas áreas de cultivo e diminui o risco de um estabelecimento precoce da doença.

Diversos fatores limitam o sucesso do cultivo de canola, entre eles o ataque de fungos, tanto em sementes quanto na parte aérea. No Brasil, as sementes comercializadas, importadas da Argentina e Austrália são tratadas com fungicidas. Apesar disso, em vinte e seis lotes examinados (Apêndice I), foi detectada a presença de fungos em mais de 70% das amostras, dentre eles, destacaram-se *Alternaria* spp., *Cercospora* spp., *Drechslera* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, com predominância do primeiro.

No entanto, ainda não existem fungicidas registrados para tratamento de sementes no Brasil, para controle de *Alternaria* spp. em canola. Para que fungicidas possam ser registrados, é necessárias obter informações a respeito de sua eficácia no controle de patógenos, sem descuidar da qualidade fisiológica das sementes.

Assim, este trabalho teve como objetivo verificar se *Alternaria* spp. afeta a qualidade fisiológica das sementes de canola e que ingredientes ativos são eficientes no seu controle.

4.3 Material e métodos

O trabalho de avaliação do tratamento de sementes de canola com fungicidas para o controle de *Alternaria* spp. foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, Laboratório de Sementes e em casa-de-vegetação da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (FAMV/UPF), em 2015 e 2016.

Experimento em laboratórios

O inóculo do fungo foi obtido a partir de análise sanitária (BRASIL, 2009a) de sementes de canola do híbrido HYOLA 433, obtido em revenda da região de Passo Fundo/RS. O fungo foi repicado para placas de Petry contendo meio de cultura BSA (batata-sacarose-ágar) (BOOTH, 1971), onde permaneceram na câmara de incubação até esporulação, por doze dias. Realizou-se a mensuração dos conídios e contagem do número de septos, identificando a espécie provavelmente *A. alternata* Fries Keissler (1912) (SIMMONS, 2007, p. 582) e posteriormente, procedeu-se o isolamento monospórico em meio de cultura ágar-água (2%) (FERNANDEZ, 1993, p. 20 e 48; ALFENAS et al., 2007, p. 35). Após esse procedimento, o fungo foi colocado em placas com meio de cultura BSA para o prosseguimento dos estudos.

Para inocular *Alternaria* spp. em sementes de canola foi empregado um meio de cultura com restritor hídrico manitol. Segundo metodologia de Pedroso et al. (2013) os quais utilizaram este método para inoculação do fungo em sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.). O manitol tem sido utilizado como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico, por ser um composto quimicamente inerte e não tóxico. Outro fator determinante para o sucesso da inoculação é o tempo de exposição das sementes ao inóculo (MACHADO et al., 2004; BERTAGNOLLI, 2015, p. 25 e 27).

Para isso, a colônia pura foi repicada para caixas gerbox contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) (RIKER; RIKER, 1936), no qual adicionou-se manitol visando restringir a absorção de água pela semente. No preparo do meio de cultura foram colocados em um erlenmeyer 39 g de BDA, 40,44 g de manitol, e um litro de água destilada, os quais foram autoclavados por vinte minutos, a 127 °C. Foram adicionados 50 mL de meio de cultura por gerbox esterilizado. E em seguida procedeu-se a repicagem do fungo (MACHADO et al., 2004; BERTAGNOLLI, 2015, p. 25). As caixas gerbox foram colocadas em câmara de incubação, sob luz fluorescente branca, na temperatura de 22 °C e fotoperíodo de 12 horas, por doze dias (BRASIL, 2009a). Decorrido esse tempo, trinta gramas de sementes de canola por gerbox do híbrido HYOLA 61 sem a presença do fungo *Alternaria* spp. (verificado através de análise sanitária), foram distribuídos sobre as colônias do fungo, e incubadas por 48 horas. Em

seguida, as sementes foram retiradas e colocadas para secar sobre papel filtro, por dois dias, em temperatura ambiente.

Após a secagem das sementes, foi realizada a análise sanitária (BRASIL, 2009a) de quatrocentas sementes retiradas da inoculação e plaqueadas com o meio de cultura BSA, que permaneceram por sete dias na câmara de incubação. A avaliação constitui na contagem do número de sementes colocadas em cada gerbox (cinquenta) e do número de colônias de *Alternaria* spp. desenvolvidas por gerbox. A porcentagem alcançada de infecção pelo fungo *Alternaria* spp. foi de 100%.

Após a inoculação do fungo *Alternaria* spp. nas sementes de canola pela técnica de restrição hídrica com manitol, procedeu-se a preparação da calda de fungicidas (ingredientes ativos + água) utilizando o volume de calda de 0,5% da massa das sementes. Nas testemunhas (com e sem o fungo e sem fungicida) utilizou-se somente água (Tabela 1). As caldas foram acondicionadas em sacos plásticos, acrescida as sementes e homogeneizadas, sendo posteriormente secadas em temperatura ambiente.

Tabela 1- Tratamentos contendo dose do produto comercial (p.c.) e dos ingredientes ativos (i.a.) visando avaliar eficiência de ingredientes ativos no controle de *Alternaria* spp. em sementes de canola

	Nome comercial	Nome técnico	Dose i.a. (g/L)	Dose p.c. (mL/100 kg)	Ano
1	Derosal plus	carbendazim + tiram	150 + 350	200	15/16
2	Derosal plus + Maxim XL	carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil	150 + 350 + 10 + 25	200 + 100	15
3	Spectro	difenoconazol	150	40	15/16
4	Rovral	iprodisina	500	250	15/16
5	Maxim XL	metalaxil-M + fludioxonil	10 + 25	100	15/16
6	Maxim advanced	metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil	20 + 150 + 25	100	15
7	Standak top	piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil	25 + 225 + 250	200	15/16
8	Certeza	tiofanato-metílico + fluazinam	350 + 52,50	220	16
9	Cercobin + Maxim XL	tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil	500 + 10 + 25	150 + 100	16
10	Testemunha com o fungo e sem fungicida	-	-	-	15/16
11	Testemunha sem o fungo e sem fungicida	-	-	-	15/16

Em 2015, os fungicidas utilizados foram Derosal plus, Derosal plus + Maxim XL, Spectro, Rovral, Maxim XL, Maxim advanced e Standak top, e em 2016 o Derosal plus, Spectro, Rovral, Maxim XL, Standak top, Certeza e Cercobin + Maxim XL.

No Laboratório de Fitopatologia, as unidades experimentais constituíram de caixas gerbox, contendo meio de cultura ágar sólido BSA, para análise de sanidade das sementes. No Laboratório de Sementes, as unidades experimentais constituíram de caixas gerbox, contendo papel germitest, para avaliar a qualidade das sementes. Ambos os experimentos seguiram o delineamento experimental inteiramente casualizado, com oito repetições.

As variáveis avaliadas foram: número de colônias do fungo em meio de cultura, porcentagem de controle do fungo e porcentagem de germinação das sementes de canola. Em 2016, além das citadas acima, incluiu-se o teste de vigor, índice de velocidade de germinação de sementes, altura de hipocótilo e comprimento de raiz primária.

Para avaliar o número de colônias do fungo e a porcentagem de controle do fungo foi utilizado o plaqueamento das sementes de canola em meio de cultura BSA, que foi autoclavada durante vinte minutos, a 127 °C. Foram adicionados 50 mL de meio de cultura por gerbox esterilizado e em seguida procedeu-se o plaqueamento das sementes com respectivos tratamentos, cinquenta sementes por repetição (gerbox). Em seguida os gerbox foram mantidos em câmara de incubação, sob luz fluorescente branca, na temperatura de 22 °C, fotoperíodo de 12 horas, por sete dias (BRASIL, 2009a). Decorrido esse tempo, para avaliar o número de colônias do fungo, procedeu-se a contagem das colônias formadas em torno das sementes plaqueadas em cada gerbox. O cálculo da porcentagem de controle do fungo foi realizada através da fórmula: (média do número de colônias do fungo na testemunha inoculada – média do número de colônias do fungo no tratamento) / número de colônias do fungo na testemunha inoculada, sendo o resultado multiplicado por 100, e os valores expressos em porcentagem (ABBOTT, 1925).

Para o teste de germinação de sementes, as sementes contendo os tratamentos foram distribuídas sobre três folhas de papel germitest previamente umedecidos com água destilada, utilizando-se 2,5 vezes o volume de água em relação ao peso do papel

seco. Utilizando cinquenta sementes por repetição (gerbox), permanecendo por sete dias sob temperatura de 5 °C, sendo após levadas ao germinador em temperatura de 20 °C por mais sete dias. Foram consideradas germinadas as sementes que geraram plântulas normais, ou seja, apresentaram estruturas essenciais (sistema radicular, hipocótilo e cotilédones) intactas ou com pequenos defeitos. Os resultados foram expressos em porcentagens médias de acordo com BRASIL (2009b). A altura de hipocótilo foi avaliada no último dia de contagem de germinação, medindo a altura de hipocótilo de cinco plântulas por repetição, mensurados com auxílio de um paquímetro digital, e os resultados expressos em cm/plântula. O comprimento de raiz primária também foi avaliado no último dia de contagem de germinação, medindo o comprimento de raiz primária de cinco plântulas normais por repetição, mensurados com auxílio de um paquímetro digital, e os resultados expressos em cm/plântula.

Para avaliar o índice de velocidade de germinação de sementes (IVG) o procedimento foi o mesmo que no teste de germinação. As avaliações iniciaram a partir do primeiro dia em que se evidenciaram às primeiras plântulas normais, realizando diariamente, à mesma hora. Essas plântulas normais foram mensuradas e retiradas do gerbox contendo papel germitest. Ao fim do teste, com dados diários do número de plântulas normais, calculou-se o índice de velocidade de germinação de sementes empregando a fórmula de Maguire (1962): $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, onde: G_1 , G_2 , G_n = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem e N_1 , N_2 , N_n = número de dias da semeadura à primeira, à segunda e à última contagem. Para cada repetição, calculou-se o IVG, empregando a referida fórmula. O IVG da amostra foi a média aritmética das repetições (ABRATES, 1999).

O vigor foi realizado pelo teste de envelhecimento acelerado, que constituiu da manutenção das sementes, por 24 horas, sob temperatura de 42 °C, sendo após distribuídas da mesma forma que no teste de germinação em papel germitest umedecido, e mantendo por sete dias, sob temperatura de 5 °C, sendo posteriormente levadas para o germinador sob temperatura de 20 °C por mais sete dias, considerando as plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagens médias (ABRATES, 1999).

Experimento em casa-de-vegetação

Foram empregadas as sementes inoculadas pelo método da restrição hídrica (experimento em laboratório) e tratadas com fungicidas (Tabela 1), acrescido de duas testemunhas (com e sem *Alternaria* spp.). Em 2016, foi realizada a semeadura dos tratamentos em vasos contendo substrato, com cinquenta sementes por unidade experimental.

As unidades experimentais constaram de vasos contendo substrato comercial para produção de mudas, sem restrição de fertilidade, em delineamento experimental com blocos ao acaso e quatro repetições por tratamento.

As variáveis avaliadas foram emergência de plântulas aos sete e doze dias após a semeadura, altura de plântulas e comprimento de raiz aos doze dias após a semeadura.

Para a emergência, foi realizada a contagem das plântulas emergidas com os cotilédones abertos, de acordo com a escala de CETIOM (COLOMER et al., 2010) aos sete e doze dias após a emergência.

Aos doze dias após a emergência, as plântulas foram retiradas do substrato e suas raízes lavadas em água. Cinco plântulas por unidade experimental foram mensuradas com auxílio de um paquímetro digital, medindo a altura de parte aérea e o comprimento de raiz, os resultados foram expressos em cm/plântula.

As análises estatísticas para os experimentos foram realizadas com auxílio do programa estatístico ASSISTAT. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade de erro. As testemunhas foram comparadas entre si e os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade de erro.

4.4 Resultados e discussão

Para o experimento em laboratório, a inoculação de *Alternaria* spp. por meio da técnica de inoculação por restrição hídrica com manitol foi eficiente, uma vez que a porcentagem de sementes infectadas foi de 100%. Pedroso et al. (2010) ao inocular o fungo em sementes de salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill) obtiveram 100%

de sementes infectadas pelo fungo e o tratamento com meio de cultura BDA + manitol + *A. alternata* não prejudicou a germinação das sementes, quando comparada a testemunha.

Com relação ao número de colônias do fungo e porcentagem de controle do fungo (Tabela 2), em 2015, os ingredientes ativos carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Em 2016, os ingredientes ativos carbendazim + tiram, difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida.

Tabela 2 - Número de colônias de *Alternaria* spp. e porcentagem de controle do fungo com os fungicidas utilizados em tratamentos de sementes de canola em experimento de laboratório

Tratamentos	2015		2016	
	Colônias	Controle	Colônias	Controle
1 Carbendazim + tiram	49,0 ns ²	2,0 ns ²	44,3 * ¹	11,2 * ¹
2 Carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil	48,0 * ¹	4,0 * ¹	-	-
3 Difenoconazol	46,5 *	7,0 *	42,2 *	15,5 *
4 Iprodiona	0,25 *	99,5 *	1,0 *	98,0 *
5 Metalaxil-M + fludioxonil	48,0 *	4,0 *	42,5 *	15,0 *
6 Metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil	47,0 *	6,0 *	-	-
7 Piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil	48,5 *	3,0 *	47,5 ns ²	5,0 ns ²
8 Tiofanato-metílico + fluazinam	-	-	36,0 *	28,0 *
9 Tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil	-	-	46,5 *	7,0 *
10 Testemunha (com o fungo e sem fungicida)	50,0	0	50,0	0

¹Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ²Não significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$).

Resultados similares ao deste trabalho foram verificados por Belani (2010, p. 35 e 36), no qual a eficiência de controle de *A. alternata* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.), com triticonazol + iprodiona. Reis et al. (2006), avaliando *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko (1944) e *A. alternata* em sementes de coentro encontraram menores infecções utilizando o iprodiona, isolado, ou em mistura com tiram. Picinini &

Fernandes (1999), ao estudar a fungitoxicidade a *Alternaria* spp. em sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.), verificaram que iprodiona + tiram e carboxina + tiram reduziram o número de colônias desenvolvidas de *Alternaria* spp. Pontim (2011, p. 32) verificou que carbendazim + tiram, iprodiona e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil controlaram *Alternaria* spp. em sementes de canola. Migliorini et al. (2012), observaram que tratamentos com os fungicidas carbendazim + tiram, fludioxonil + metalaxil-M, piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil e carboxina + tiram + etileno glicol aumentaram a germinação de sementes de canola e controlaram a *Alternaria* spp. nas sementes.

Em 2015 não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à porcentagem de germinação de sementes de canola em laboratório, sendo que em 2016, houve diferença significativa com carbendazim + tiram, iprodiona e tiofanato-metílico + fluazinam comparados a testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. As testemunhas comparadas entre si diferiram estatisticamente sendo que a testemunha sem o fungo e sem fungicida apresentou maior porcentagem de germinação (Tabela 3).

O resultado do teste de vigor de sementes diferiu estatisticamente entre os ingredientes ativos comparados com as testemunhas, carbendazim + tiram, difenoconazol e metalaxil-M + fludioxonil diferiram da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Quando comparados com a testemunha sem o fungo e sem fungicida, carbendazim + tiram, metalaxil-M + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil diferiram significativamente. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa (Tabela 3).

Quanto ao índice de velocidade de germinação de sementes (Tabela 4), houve diferença estatística entre os ingredientes ativos comparados com as testemunhas. O difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil diferiram da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Comparando a testemunha sem o fungo e sem fungicida com os ingredientes ativos, carbendazim + tiram, difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil, piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil, diferiram significativamente. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa. Segundo Abrates (1999), quanto maior o valor obtido,

maior é a velocidade de germinação e, conseqüentemente, maior o vigor do lote, pois existe relação direta entre a velocidade e o vigor de sementes.

Tabela 3- Efeito dos tratamentos na porcentagem de plântulas normais e do vigor de sementes de canola em experimento de laboratório

Tratamentos	Plântulas normais		Vigor
	2015	2016	2016
1 Carbendazim + tiram	80,0 ns ⁴	98,0 * ¹	98,0 * ^{1,2}
2 Carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil	74,5	-	-
3 Difenconazol	80,0	94,0 ns ⁴	95,0 * ¹
4 Iprodiona	70,5	97,7 * ¹	93,7 ns ⁴
5 Metalaxil-M + fludioxonil	82,0	94,7 ns ⁴	97,0 * ^{1,2}
6 Metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil	78,5	-	-
7 Piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil	68,0	93,5 ns ⁴	90,7 * ²
8 Tiofanato-metílico + fluazinam	-	97,5 * ¹	93,0 ns ⁴
9 Tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil	-	95,5 ns ⁴	92,0 ns ⁴
10 Testemunha (com o fungo e sem fungicida)	76,5	94,2 b ³	92,0 ns ⁴
11 Testemunha (sem o fungo e sem fungicida)	72,0	96,0 a	93,5 ns ⁴

¹Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ²Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha sem o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ³Letras diferentes, indicam diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$), comparando os tratamentos testemunhas, entre si. ⁴Não significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$), comparando os tratamentos testemunhas, inoculada com o fungo e sem fungicida e sem o fungo e sem fungicida com tratamentos fungicidas e, comparando as testemunhas entre si.

Em relação à altura de hipocótilo, houve diferença estatística com difenoconazol, iprodiona, metalaxil-M + fludioxonil, tiofanato-metílico + fluazinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil comparados com a testemunha sem o fungo e sem fungicida. Não houve diferença significativa entre os fungicidas comparados a testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Nas testemunhas comparadas entre si, houve diferença significativa, sendo que na testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida apresentou maior valor. Para o comprimento de raiz primária, carbendazim + tiram, iprodiona e metalaxil-M + fludioxonil diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Não houve diferença significativa entre os fungicidas comparados a testemunha sem o fungo e sem fungicida. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4- Efeito dos tratamentos no índice de velocidade de germinação de sementes, altura de hipocótilo e comprimento de raiz primária de plântulas de canola em experimento de laboratório, no segundo ano de avaliação

Tratamentos	IVG	Altura de hipocótilo (cm)	Comprimento de raiz primária (cm)
1 Carbendazim + tiram	10,3 * ²	2,0 ns ⁴	4,5 * ¹
2 Difenconazol	10,7 * ^{1,2}	2,4 * ²	3,3 ns ⁴
3 Iprodiona	10,9 * ^{1,2}	2,5 * ²	3,9 * ¹
4 Metalaxil-M + fludioxonil	11,1 * ^{1,2}	2,3 * ²	4,0 * ¹
5 Piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil	10,4 * ²	1,6 ns ⁴	2,5 ns ⁴
6 Tiofanato-metílico + fluazinam	10,1 ns ⁴	2,2 * ²	2,9 ns ⁴
7 Tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil	11,0 * ^{1,2}	2,5 * ²	3,7 ns ⁴
8 Testemunha com o fungo e sem fungicida	10,2 ns ⁴	2,1 a ³	2,0 ns ⁴
9 Testemunha sem o fungo e sem fungicida	9,8 ns ⁴	1,7 b	2,7 ns ⁴

IVG- Índice de velocidade de germinação de sementes. ¹Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ²Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha sem o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ³Letras diferentes, indicam diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$), comparando os tratamentos testemunhas, entre si. ⁴Não significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$), comparando os tratamentos testemunhas, inoculada com o fungo e sem fungicida e sem o fungo e sem fungicida com tratamentos fungicidas e, comparando as testemunhas entre si.

Em casa-de-vegetação (Tabela 5), houve diferença estatística com difenoconazol, piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil comparados com a testemunha sem o fungo na porcentagem de plântulas emergidas aos sete dias após a semeadura. Não houve diferença significativa entre os fungicidas comparados a testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa. Na emergência aos doze dias após a semeadura não houve diferença estatística entre os tratamentos. Em relação à altura de parte aérea das plântulas, iprodiona foi estatisticamente diferente da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida. Não houve diferença significativa entre os fungicidas comparados a testemunha sem o fungo e sem fungicida. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa. Para o comprimento de raiz, tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil diferiu estatisticamente das testemunhas com e sem o fungo e sem fungicida. Nas testemunhas comparadas entre si, não houve diferença significativa.

Tabela 5- Efeito dos tratamentos na porcentagem de plântulas emergidas aos sete e doze dias após a semeadura (DAS), altura de parte aérea e comprimento de raiz em experimento na casa-de-vegetação, no segundo ano de avaliação

Tratamentos	Emergência aos 7 DAS	Emergência aos 12 DAS	Altura de parte aérea (cm)	Comprimento de raiz (cm)
1 Carbendazim + tiram	67,5 ns ³	80,0 ns ³	3,1 ns ³	12,8 ns ³
2 Difenconazol	75,0 * ²	92,5	3,4 ns ³	9,8 ns ³
3 Iprodiona	57,5 ns ³	77,5	3,6 * ¹	9,5 ns ³
4 Metalaxil-M + fludioxonil	67,5 ns ³	80,0	3,1 ns ³	10,1 ns ³
5 Piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil	72,5 * ²	90,0	3,3 ns ³	8,8 ns ³
6 Tiofanato-metílico + fluazinam	67,5 ns ³	80,0	3,0 ns ³	10,8 ns ³
7 Tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil	80,0 * ²	85,0	3,1 ns ³	14,1 * ^{1,2}
8 Testemunha com o fungo e sem fungicida	60,0 ns ³	77,5	3,0 ns ³	8,4 ns ³
9 Testemunha sem o fungo e sem fungicida	45,0 ns ³	80,0	3,3 ns ³	9,1 ns ³

¹Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ²Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha sem o fungo e sem fungicida, com tratamentos fungicidas. ³Não significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$), comparando os tratamentos testemunhas, inoculada com o fungo e sem fungicida e sem o fungo e sem fungicida com tratamentos fungicidas e, comparando as testemunhas entre si.

4.5 Conclusões

A testemunha sem *Alternaria* spp. e sem fungicida apresenta maior porcentagem de germinação de sementes de canola, comparada a testemunha inoculada com *Alternaria* spp. e sem fungicida.

Os ingredientes ativos difenoconazol, iprodiona e metalaxil-M + fludioxonil apresentam controle de *Alternaria* spp. inoculado em sementes de canola. Sendo que em 2015 os ingredientes ativos carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil, e em 2016 carbendazim + tiram, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil, também apresenta controle sobre o fungo.

O ingrediente ativo iprodiona se destaca no controle do fungo inoculado em sementes de canola, e em 2016 diferiu da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, para as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raiz primária e altura de parte aérea.

5 CAPÍTULO III

CONTROLE QUÍMICO PREVENTIVO E ERRADICATIVO DE *Alternaria* spp. EM CANOLA

5.1 Resumo

A mancha-de-alternária (*Alternaria* spp.) causa lesões em folhas, hastes e siliquas, reduzindo a capacidade fotossintética e provocando deiscência dos grãos, podendo também reduzir a massa e o conteúdo de óleo dos grãos. As perdas de rendimento de canola podem ser superiores a 20% e podem ser agravadas por deiscência da siliqua e queda dos grãos. A aplicação de fungicidas permite assegurar a sanidade da planta e evitar danos. A falta de informações sobre momentos de aplicação e eficiência dos fungicidas dificulta o manejo da doença. Assim, o estudo sobre ingredientes ativos e momento de aplicação torna-se importante para o manejo da doença. Este trabalho teve como objetivo verificar se tratamentos fungicidas aplicados de forma preventiva e erradicativa são eficientes em controlar *Alternaria* spp. em plantas de canola inoculadas artificialmente com o fungo. As plantas de canola do híbrido Diamond foram cultivadas em casa-de-vegetação e inoculadas com o fungo através da pulverização de uma suspensão de conídios no estágio fenológico de formação e enchimento das siliquas, as plantas foram incubadas com condições controladas para o estabelecimento da doença. Os ingredientes ativos testados foram azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol, em tratamentos preventivos, ou seja, antes da inoculação do fungo (48 horas antes) e tratamentos erradicativos, após sintomas do fungo em siliquas (72 horas após o início da inoculação). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento. Foram avaliados: incidência de siliquas infectadas por *Alternaria* spp. por planta, número de lesões por siliqua, tamanho médio de lesão e porcentagem de controle. Aplicações de fungicidas com azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculado em plantas de canola, tanto em aplicação preventiva quanto erradicativa. Em aplicação preventiva, os fungicidas testados diferem da testemunha inoculada com o fungo em relação ao tamanho médio de lesão.

Palavras-chave: 1. *Brassica napus* L. var. *oleifera*. 2. Fungicida. 3. Inoculação artificial. 4. Momento de aplicação.

5.2 Introdução

A mancha-de-alternária (*Alternaria* spp.) causa lesões em folhas, hastes e siliquas, reduzindo a capacidade fotossintética e provando a deiscência dos grãos (TOMM et al., 2009). As perdas de rendimento podem ser superiores a 20% e pode ser agravada por deiscência da siliqua e queda dos grãos, podendo reduzir a massa e o teor de óleo dos grãos (CANOLA COUNCIL OF CANADA, 2016ab).

A aplicação de fungicidas na parte aérea de plantas protege da penetração e/ou posterior desenvolvimento de fungos patogênicos em seus tecidos (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 17), permitindo contribuir para a sanidade da planta e evitar danos.

O modo bioquímico de ação dos fungicidas refere-se ao processo bioquímico interferido pelo ingrediente ativo do fungicida na célula do fungo e que determina sua morte. As estrobilurinas (azoxistrobina) inibem a respiração mitocondrial do fungo. São classificadas em mesostêmicos, recebendo esta denominação por apresentar afinidade com a superfície foliar, podendo ser absorvida pela camada de cera. Penetra nos tecidos vegetais apresentando atividade translaminar, a translocação vascular é mínima ou inexistente. Os triazóis (ciproconazol, flutriafol) inibem a biossíntese do ergosterol, esteróides, triglicerídios e fosfolipídios do fungo. São classificados em sistêmicos e após absorção pelas folhas são translocados pelo sistema condutor da planta principalmente via xilema. A dicarboxamida, iprodiona, atua com a peroxidação dos lipídios, interagindo com a enzima flavina-redutase do citocromo-c. O transporte de elétrons de NADPH para o citocromo-c seria bloqueado pela ação do fungicida. Quando aplicada aos órgãos aéreos não é absorvida, por isso não é translocada, permanecendo na superfície da planta no local onde foi depositada (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 33, 54 e 211).

Em relação ao momento de aplicação dos fungicidas, pode ser preventivo com ação protetora ou de pré-penetração do fungo; curativo inibindo a penetração e crescimento micelial do fungo; e erradicativo, quando aplicado após sintomas e sinais da doença, com ação inibitória do crescimento micelial, antiesporulante ou morte das estruturas do fungo (REIS; REIS; CARMONA, 2010, p. 45).

No Brasil, para o controle de mancha-de-alternária em canola existe registro para o fungicida Tenaz, ingrediente ativo flutriafol, pertencente ao grupo triazóis. A falta de informações sobre momentos de aplicação e eficiência dos fungicidas dificulta o manejo da doença, assim o estudo sobre outros ingredientes ativos e momento de aplicação torna-se importante para o manejo da doença.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar se tratamentos fungicidas aplicados de forma preventiva e erradicativa são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculadas artificialmente em plantas de canola.

5.3 Material e métodos

O trabalho de avaliação do controle químico preventivo e erradicativo de *Alternaria* spp. em plantas de canola foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e casa-de-vegetação da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (FAMV/UPF), no período de setembro a dezembro de 2016.

O inóculo do fungo *Alternaria* spp. foi obtido a partir do isolamento em siliquis e folhas infectadas do híbrido HYOLA 575CL. Fraqueamentos de tecidos infectados foram desinfestados com hipoclorito de sódio (1%), durante 1 minuto, sendo após lavados com água destilada e colocados em placas de Petry contendo meio de cultura BSA (batata-sacarose-ágar) (BOOTH, 1971). Permanecendo sete dias em câmara de incubação, sendo após repicados para placas de Petry com o meio de cultura BSA, onde permaneceram na câmara de incubação por mais doze dias até a esporulação (FERNANDEZ, 1993, p. 38). Realizou-se a mensuração dos conídios e contagem do número de septos, identificando a espécie provavelmente *A. alternata* Fries Keissler (1912) (SIMMONS, 2007, p. 582) e posteriormente, procedeu-se o isolamento monospórico em meio de cultura ágar-água (2%) (FERNANDEZ, 1993, p. 20 e 48; ALFENAS et al., 2007, p. 35). Após esse procedimento, o fungo foi colocado em placas com meio de cultura BSA para o prosseguimento dos estudos.

Em casa-de-vegetação foram semeados em vasos, sementes do híbrido de canola Diamond. Após emergência foi deixada uma planta por vaso.

Os ingredientes ativos testados foram azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol (Tabela 1). O fungicida Piori Xtra (azoxistrobina + ciproconazol) é registrado para controle de *A. helianthi* na cultura do girassol, o fungicida Rovral (iprodiona) para controle de *Bipolaris sorokiniana* na cultura do trigo e o fungicida Tenaz (flutriafol) para controle de *A. brassicae* na cultura da canola.

Tabela 1- Fungicidas contendo respectivas doses do produto comercial (p.c.) e ingredientes ativos (i.a.) avaliados em relação ao controle de *Alternaria* spp. em siliquis de canola

	Nome comercial	Nome técnico	Dose i.a. (g/L)	Dose p.c. (L/ha)
1	Priori Xtra ¹	Azoxistrobina + ciproconazol	200 + 80	0,3
2	Rovral ¹	Iprodiona	500	1,2
3	Tenaz ¹	Flutriafol	250	0,3

¹Adicionado Nimbus 0,5% v/v.

As aplicações constaram de tratamentos preventivos, ou seja, antes da inoculação do fungo (48 horas antes) e tratamentos erradicativos, após sintomas do fungo em siliquis (72 horas após o início da inoculação), a aplicação dos fungicidas foi realizada com auxílio de um pulverizador costal pressurizado a gás carbônico (CO₂), pressão constante, vazão de 200 L/ha e ponta jato duplo Teejet Turbo Twinjet 60- 11002.

A inoculação foi realizada no estágio fenológico de formação e enchimento das siliquis e as plantas de canola não apresentavam sintomas da doença. As siliquis que se formaram após a inoculação do fungo, foram eliminadas. A colônia com doze dias de crescimento foi raspada com auxílio de um pincel e água destilada para remover o máximo de esporulação, sendo filtrada e acrescentada em água destilada com espalhante adesivo Tween, formando uma suspensão de conídios. A concentração de conídios foi ajustada para 10.000 conídios/mL. A suspensão foi pulverizada sobre as plantas de canola, até o ponto de escorrimento e os vasos foram colocados em câmaras de inoculação (ALFENAS et al., 2007, p. 126) em temperatura de 24 °C por 48 horas. Após 48 horas as plantas voltaram para a casa-de-vegetação.

As unidades experimentais constaram de vasos contendo substrato comercial, sem restrição de fertilidade, em delineamento experimental inteiramente casualizado e seis repetições por tratamento.

As variáveis avaliadas foram: incidência de siliquis infectadas por planta, número de lesões por siliqua, tamanho médio de lesão e porcentagem de controle.

A incidência de siliquis infectadas por planta foi realizada pela contagem total de siliquis na planta e o número de siliquis infectadas. A contagem do número de lesões por siliqua foi baseada na avaliação visual, com auxílio de lupa. O tamanho médio de lesão foi estimado com auxílio de um paquímetro digital, e os resultados expressos em mm². O cálculo da porcentagem de controle foi realizado através da

fórmula: (média de (%) infecções na testemunha inoculada – (%) infecção do tratamento) / média de (%) infecções na testemunha inoculada, sendo o resultado multiplicado por 100, e os valores expressos em porcentagem (ABBOTT, 1925).

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico ASSISTAT. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade de erro.

5.4 Resultados e discussão

Os fungicidas diferiram estatisticamente das testemunhas inoculadas com o fungo em relação a incidência de síliquas infectadas por planta, independente do momento de aplicação (Tabela 2 e 3).

Em relação ao número de lesões por síliqua (Tabela 2 e 3), os fungicidas azoxistrobina + ciproconazol e iprodiona diferiram estatisticamente das testemunhas inoculadas com o fungo. O fungicida flutriafol não diferiu das testemunhas inoculadas.

Os fungicidas aplicados de forma preventiva (Tabela 2) diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com o fungo, em relação ao tamanho médio de lesão. Em aplicação erradicativa (Tabela 3) não houve efeito significativo em relação a testemunha inoculada para esta variável.

Tabela 2- Incidência de síliquas infectadas por planta, número de lesões por síliqua e tamanho médio de lesão, em aplicação preventiva de fungicidas em plantas de canola inoculadas com *Alternaria* spp.

	Tratamentos	Incidência (%)	Lesões/síliqua	Tamanho médio de lesão (mm ²)
1	Azoxistrobina + ciproconazol	6,1 * ¹	2,1 * ¹	1,68 * ¹
2	Iprodiona	5,9 *	1,5 *	0,83 *
3	Flutriafol	9,3 *	2,2 ns ²	2,19 *
4	Testemunha inoculada	19,9	3,5	4,92

¹Diferença significativa pelo teste Dunnett (p<0,05), comparando o tratamento testemunha inoculada com tratamentos fungicidas. ²Não significativo pelo teste F (p≥0,05).

Tabela 3- Incidência de síliquis infectadas por planta, número de lesões por síliqua e tamanho médio de lesão, em aplicação erradicativa de fungicidas em plantas de canola inoculadas com *Alternaria* spp.

	Tratamentos	Incidência (%)	Lesões/síliqua	Tamanho médio de lesão (mm ²)
1	Azoxistrobina + ciproconazol	1,8 * ¹	1,4 * ¹	2,16 ns ²
2	Iprodiona	6,8 *	1,7 *	4,30
3	Flutriafol	5,6 *	2,3 ns ²	3,00
4	Testemunha inoculada	19,9	3,5	4,92

¹Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com tratamentos fungicidas. ²Não significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$).

Os fungicidas apresentaram diferença significativa em relação às testemunhas inoculadas com o fungo na porcentagem de controle (Figura 1 e 2), tanto em aplicação preventiva quanto erradicativa.

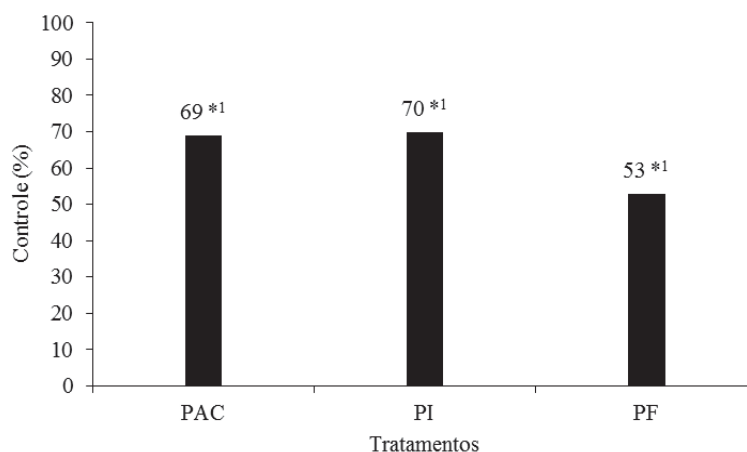


Figura 1- Controle de *Alternaria* spp. em síliquis de canola, em aplicação preventiva, em relação aos tratamentos: PAC- Preventivo azoxistrobina + ciproconazol; PI- Preventivo iprodiona; PF- Preventivo flutriafol. ¹*Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com tratamentos fungicidas.

Wang et al. (2016) estudando *A. alternata* na cultura do tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), verificaram que azoxistrobina e azoxistrobina + difenoconazol (estrobilurina e estrobilurina + triazol) foram eficazes no controle de *A. alternata*.

Canola Council of Canada (2015) cita que a aplicação de fungicida em 95% de floração proporciona um controle econômico desta doença, estudos mostraram aumentos de rendimento variando de 9 a 36%, onde foi realizada a aplicação. Além disso, no tratamento com fungicida, houve aumento na germinação das sementes,

reduziu o número de sementes verdes de 8% para 4% e aumentou a massa de mil sementes em relação à área não tratada.

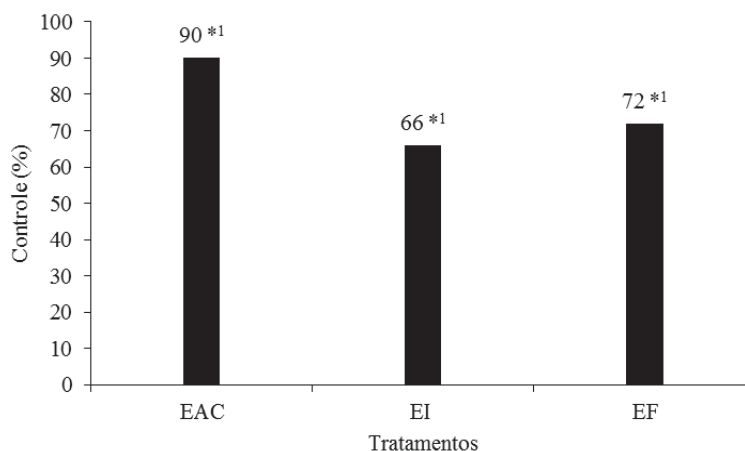


Figura 2- Controle de *Alternaria* spp. em siliques de canola, em aplicação erradicativa, em relação aos tratamentos: EAC- Erradicativo azoxistrobina + ciproconazol; EI- Erradicativo iprodiona; EF- Erradicativo flutriafol. ¹*Diferença significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$), comparando o tratamento testemunha inoculada com tratamentos fungicidas.

Colomer et al. (2010) cita os ingredientes ativos azoxistrobina, azoxistrobina + ciproconazol, boscalid + metconazol, ciproconazol, flusilazol + carbendazim, flutriafol + carbendazim, metconazol, procimidone, tebuconazol e tebuconazol + carbendazim para controle de *Alternaria* spp. em colza.

5.5 Conclusões

Aplicações de fungicidas com azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculado em plantas de canola, tanto em aplicação preventiva quanto erradicativa. Em aplicação preventiva, os fungicidas testados diferem da testemunha inoculada com o fungo em relação ao tamanho médio de lesão.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As hipóteses que levaram a realização deste trabalho, ou seja, pelo menos um híbrido de canola testado possui maior resistência ao fungo *Alternaria* spp., pelo menos um fungicida possui controle do fungo em sementes de canola e fungicidas aplicados na parte aérea controlam o fungo, foram comprovadas.

Sugere-se estudos com outros híbridos de canola e inoculação do fungo em outras fases de desenvolvimento da cultura, para avaliar a resistência dos híbridos de canola ao fungo *Alternaria* spp. Também é importante testar outros fungicidas em parte aérea e em diferentes fases de desenvolvimento da cultura embora a fase de formação e enchimento das siliquis os danos são mais significantes.

7 CONCLUSÃO GERAL

Há variabilidade em híbridos de canola quanto à resistência à *Alternaria* spp. Os híbridos HYOLA 61 e HYOLA 76 apresentam maior resistência ao fungo inoculado em plantas de canola em relação aos demais híbridos, sendo que não apresentam diferença significativa em relação aos híbridos ALHT M6, Diamond e HYOLA 433, para incidência de folhas com lesões e do híbrido HYOLA 571CL para tamanho médio de lesão de *Alternaria* spp.

A testemunha sem *Alternaria* spp. e sem fungicida apresenta maior porcentagem de germinação de sementes de canola, comparada a testemunha inoculada com *Alternaria* spp. e sem fungicida.

Os ingredientes ativos difenoconazol, iprodiona e metalaxil-M + fludioxonil apresentam controle de *Alternaria* spp. inoculado em sementes de canola. Sendo que em 2015 os ingredientes ativos carbendazim + tiram + metalaxil-M + fludioxonil, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e piraclostrobina + tiofanato-metílico + fipronil, e em 2016 carbendazim + tiram, tiofanato-metílico + fluzinam e tiofanato-metílico + metalaxil-M + fludioxonil, também apresenta controle sobre o fungo.

O ingrediente ativo iprodiona se destaca no controle do fungo inoculado em sementes de canola, e em 2016 diferiu da testemunha inoculada com o fungo e sem fungicida, para as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raiz primária e altura de parte aérea.

Aplicações de fungicidas com azoxistrobina + ciproconazol, iprodiona e flutriafol são eficientes em controlar *Alternaria* spp. inoculado em plantas de canola, tanto em aplicação preventiva quanto erradicativa. Em aplicação preventiva, os fungicidas testados diferem da testemunha inoculada com o fungo em relação ao tamanho médio de lesão.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- ABRATES- Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. **Vigor de sementes: conceito e testes**. Londrina: 1999. 174 p.
- ALFENAS, A. C.; ZAUGA, E. A. V.; MIZUBUTI, E. S. G.; FERREIRA, F. A.; ZERBIM, F. M.; PEREIRA, J. F.; OLIVEIRA, J. R. de.; FREITAS, L. G. de.; MAFFIA, L. A.; PEREIRA, O. L.; ZERBINI, P. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C.; OLIVEIRA, R. D. de L.; NEVES, W. S. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 383 p.
- AZEVEDO, F. A.; POLYDORO, D. A.; BASTIANEL, M.; KUPPER, K. C.; STUART, R. M.; COSTA, F. P.; PIO, R. M. Resposta de diferentes genótipos de tangerinas e híbridos à inulação *in vitro* e *in vivo* de *Alternaria alternata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 944-951, 2010.
- BELANI, A. M. M. **Levantamento, sobrevivência e controle de *Alternaria alternata* em sementes de trigo**. 2010. 42 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)- Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2010.
- BERTAGNOLLI, V. V. **Deteção de fungos em sementes, inoculação em sementes, identificação de raças e controle químico de *Drechslera tritici-repentis* em trigo**. 2015. 133 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2015.
- BOOTH, C. **Methods in microbiology**. London: Academic Press, 1971. 795 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília, DF, 2009a.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF, 2009b.
- CANOLA COUNCIL OF CANADA. **Canola encyclopedia**. Disponível em: <<http://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/>>. Acesso em: 03 ago. 2015.
- _____. **Canola grower's manual**. Disponível em: <<http://www.canolacouncil.org/crop-production/canola-grower-s-manual-contents>>. Acesso em: 03 fev. 2016a.
- _____. **Diseases**. Disponível em: <<http://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/diseases/>>. Acesso em: 12 mai. 2016b.

CARDOSO, R. M. de L.; OLIVEIRA, M. A. R. de.; LEITE, R. M. V. B. de C.; BARBOSA, C. de J.; BALBINO, L. C. **Doenças de canola no Paraná**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1996. (Boletim Técnico, 34).

CARNEIRO, S. M. de T. P. G.; ROMANO, E.; MARIANOWSKI, T.; OLIVEIRA, J. P. de.; GARBIM, T. H. S.; ARAÚJO, P. M. de. Ocorrência de *Alternaria brassicicola* em crambe (*Crambe abyssinica*) no estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 2, p. 154-159, 2009.

COLOMER, J. S.; CASTILLO, J.; IRIARTE, L.; VILLEGAS, N. **Cultivo de colza bajo riego en Mendonza**. Mendonza: Cóndor, 2010. 53 p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 23 jan. 2017.

DEFESA VEGETAL. *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912). Disponível em: <<http://www.defesavegetal.net>>. Acesso em: 05 fev. 2016.

EMBRAPA TRIGO. **Estatísticas, canola em números, OOS, 2014**. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/economia/2014_04_CANOLAnumeros.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2017.

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA, 1993. 128 p.

ISLAM, U.; MARIC, A. Contribution to the studies on biology, epidemiology and resistance of sunflower to *Alternaria helianthi* (Hansf.) Taub. Nish. **Zastita Bilja**, v. 31, p. 35-49, 1980.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. Manual de Fitopatologia. In: CARDOSO, R. M. L.; LEITE, R. M. V. B. C.; BARBOSA, C. J. **Doenças de canola**. 4. ed. 2. v. São Paulo: Ceres, 2005. p. 197- 208.

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**, v. 27, p. 193-200, 2002.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A. de.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. de C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n.1, p. 62-67, 2004.

MICHIELIN, T. H. V.; YALY, M. C.; CAMPOS, K. A. F. de.; SCHINOR, E. H.; AZEVEDO, F. A. de.; BASTIANEL, M. Reação de híbridos de citros à inoculação com *Alternaria alternata*. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 313-320, 2016.

MIGLIORINI, P.; KULCZYNSKI, S. M.; SILVA, T. A.; BELLÉ, C.; KOCH, F. Efeito do tratamento químico e biológico na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de canola. **Centro Científico Conhecer**, v. 8, n. 15, p. 788- 801, 2012.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Tratamento de sementes**. Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Disponível em: <http://www.iac.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf>. Acesso em: 05 mai. 2016.

PEDROSO, D. C. **Associação de *Alternaria* spp. com sementes de apiáceas: métodos de inoculação e influência na qualidade fisiológica**. 2009. 118 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

PEDROSO, D. C.; MENEZES, V. O.; MUNIZ, M. F. B.; PIVETA, G.; TUNES, L. M. de.; MULLER, J.; MENEZES, N. L. de. Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 79-85, 2010.

PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; TUNES, L. V. M. de.; MÜLLER, J.; JUNGES, E.; SANTOS, R. F. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 563-569, 2013.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Fungitoxidade “In Vitro” a *Fusarium graminearum* e a *Alternaria* spp. em sementes de cevada, cultivar BR 2, tratadas com fungicidas, no ano de 1998. In: Reunião Anual de Pesquisa de Cevada, Passo Fundo. *Anais...* Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999.

PIZOLOTTO, C. A.; BOLLER, W.; LÂNGARO, N. C.; TOMM, G. O. Dessecação em pré-colheita e corte-enleiramentocombinados a um adensante como estratégia de manejo na redução de perdas de grãos em canola. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 3, p. 265-271, 2006.

PONTIM, B. C. A. **Controle de patógenos associados às sementes de canola, cartamo, colza e crambe**. 2011. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2011.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas**. 6 ed. Passo Fundo: UPF, 2010. 226 p.

REIS, A.; SATELIS, J. F.; PEREIRA, R. S.; NASCIMENTO, W. M. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 107-111, 2006.

RIKER, A. J.; RIKER, R. S. **Introduction to research on plant disease**. St. Louis: Jonh S. Swift, 1936. 334 p.

ROTEM, J. **The genus Alternaria: biology, epidemiology and pathogenicity**. St. Paul: APS Press, 1994. 326 p.

SALUSTIANO, M. E.; MACHADO, J. da C.; PITTIS, J. E. Patogenicidade de *Alternaria helianthi* (Hansf.) e *Alternaria zinniae* (Pape) ao girassol a partir de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 138-143, 2005.

SIMMONS, E. G. **Alternaria an identification manual**. Utrecht: CBS Fungal Biodiversity Center, 2007. 775 p.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J. T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. **Biológico**, v. 77, n. 1, p. 21-34, 2015. (Divulgação técnica).

TOMM, G. O. **Indicativos tecnológicos para produção de canola no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: MAPA, 2007. (Documentos, 03).

TOMM, G. O.; WIETHÖLTHNER, S.; DALMAGO, G. A.; SANTOS, H. P. **Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa, 2009. (Documentos, 113).

TOMM, G. O.; FERREIRA, P. E. P.; AGUIAR, J. L. P. de.; CASTRO, A. M. G. de.; LIMA, S. M. V. L.; MORI, C. de. **Panorama atual e indicações para aumento de eficiência da produção de canola no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa, 2010. (Documentos, 118).

UFCG- UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE. **Controle genético de doenças em plantas**. Disponível em: < <http://www.ccta.ufcg.edu.br/admin.files.action.php?action=download&id=2744>>. Acesso em: 27 dez. 2016.

WANG, H.; HUANG, Y.; WANG, J.; CHEN, X.; WEI, K.; WANG, M.; SHANG, S. Activities of azoxystrobin and difenoconazole against *Alternaria alternata* and their control efficacy. **Journal Elsevier**, n. 90, p. 54-58, 2016.

APÊNDICE

Apêndice I- Incidência (%) de fungos em lotes de sementes de canola

	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Cercospora</i> spp.	<i>Drechslera</i> spp.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
ALHT B4	1,00	-	-	-
ALHT M6	2,50	0,50	-	-
Diamond	-	-	-	0,60
HYOLA 43	-	-	-	0,60
HYOLA 50	-	-	-	2,00
HYOLA 60	-	-	-	-
HYOLA 61	-	-	0,50	-
HYOLA 61	2,00	-	0,50	-
HYOLA 61	1,50	0,50	-	-
HYOLA 61	-	-	-	-
HYOLA 76	0,60	-	-	1,30
HYOLA 432	-	-	-	1,30
HYOLA 433	7,00	-	1,00	-
HYOLA 433	0,50	-	-	-
HYOLA 433	-	-	-	0,60
HYOLA 433	-	-	-	-
HYOLA 571CL	-	1,00	0,50	-
HYOLA 571CL	1,00	-	-	-
HYOLA 571CL	0,50	0,50	-	-
HYOLA 571CL	1,30	-	0,60	-
HYOLA 571CL	1,30	-	0,60	2,00
HYOLA 571CL	-	0,60	-	0,60
HYOLA 571CL	0,60	-	0,60	-
HYOLA 571CL	-	-	-	-
HYOLA 571CL	0,60	-	1,30	1,30
HYOLA 571CL	-	-	-	0,60



PPGAgro

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAMV