

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**

**Detecção e transmissão planta-semente de *Colletotrichum gossypii*
South var. *cephalosporioides* Costa: efeito de níveis de incidência na
semente e do controle químico da parte aérea sobre o progresso da
ramulose do algodoeiro**

Alderí Emídio de Araújo

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2008**

Alderi Emídio de Araújo
Engenheiro Agrônomo

Detecção e transmissão planta-semente de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa: efeito de níveis de incidência na semente e do controle químico da parte aérea sobre o progresso da ramulose do algodoeiro

Orientador:

Prof. Dr. **JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Araújo, Alderi Emídio de

Detecção e transmissão planta-semente de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa: efeito de níveis de incidência na semente e do controle químico da parte aérea sobre o progresso da ramulose / Alderi Emidio de Araújo. - Piracicaba, 2008.

93 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Algodão 2. Controle químico 3. Fungos fitopatogênicos 4. Ramulose
5. Semente I. Título

CDD 633.51

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

*À minha esposa **Márcia**
e às minhas filhas, **Anáise** e **Adriana**, por terem compartilhado comigo os momentos
felizes e difíceis dessa jornada.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA**, em especial à Embrapa Algodão, por ter me proporcionado a oportunidade de realizar esse treinamento

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq**, por ter me concedido bolsa de estudos para desenvolver este trabalho

Ao **Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz De Queiroz”** por ter me acolhido e concedido a honra de fazer parte de seu quadro discente

Ao **Prof. Dr. José Otávio Machado Menten**, por ter me recebido, me aceito como orientando, pela amizade, pelos ensinamentos e por ter me proporcionado a oportunidade de participar de novas experiências

À **Dra. Maria Heloísa Duarte Moraes** pela amizade, pela convivência e pelo permanente apoio dispensado à condução dos experimentos

À **Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Goiás – Fundação GO**, na pessoa de seu Diretor Presidente, **Washington Luiz Posse Senhorello**, por ter colocado à minha disposição toda a sua estrutura para a realização deste trabalho.

Aos colegas pesquisadores da Embrapa Algodão, **Alexandre da Cunha Barcellos Ferreira** e **Camilo de Lelis Morello** pela amizade, companheirismo e pelo imenso apoio durante a realização dos experimentos

Aos colegas fitopatologistas, **Nelson Dias Suassuna** pelo incentivo e colaboração na execução deste trabalho e **Wirton Macedo Coutinho**, pelas sugestões apresentadas

Aos funcionários da Fundação GO, **Kézia de Assis Barbosa** e **André da Silva Teobaldo**, pela valiosa colaboração na condução dos experimentos de campo

À Colega fitopatologista **Ana Beatriz Costa Kzermainski** pela amizade, pela oportunidade da convivência e pela colaboração nas análises estatísticas

Ao Professor Dr. **Carlos Tadeu dos Santos** pela colaboração nas análises estatísticas

Ao amigo **Francisco José Correia Farias**, por ter nos acolhido em Piracicaba e pela permanente demonstração de amizade

Aos amigos **João Alberto** e **Silvana**, pelos momentos agradáveis de nossa convivência

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia **Rodolfo** e **Fernanda**, pela amizade e pelo apoio

Aos **professores** do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos, pelas críticas construtivas e pelo incentivo

Aos colegas **Diogo Togni** e **Alessandra Rabalho**, pela colaboração e por terem, também, enveredado pelos caminhos do algodão

À colega **Vanessa C. Frare** pelas experiências compartilhadas, por estar sempre disposta a ajudar e pela colaboração na fase final deste trabalho

Aos **colegas**, Laura, Thaís, Pastora, Helen, Júlio, Júlia, Tatiana, Luana, Paulo, Anne, Silvio, Rock, Alexandre, Fabrício, Cleci, Sandra, Eliane, Liliane, Cândido, Gleiber, Paulo Albuquerque, Silvia, Carol, Eniel, e Walnice pela amizade, pela alegria da convivência e pela disposição de colaborar, sempre que foi preciso.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	12
1 INTRODUÇÃO	14
Referências	19
2 EFEITO DE INIBIDORES DE GERMINAÇÃO SOBRE OS NÍVEIS DE DETECÇÃO DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South var. <i>cephalosporioides</i> Costa EM SEMENTES DE ALGODOEIRO	23
Resumo	23
Abstract	23
2.1 Introdução	24
2.2 Desenvolvimento	26
2.2.1 Revisão bibliográfica	26
2.2.2 Material e Métodos	31
2.2.2.1 Obtenção do inóculo.....	31
2.2.2.2 Inoculação das sementes.....	32
2.2.2.3 Inibidores de germinação	32
2.2.2.4 Teste de sanidade	32
2.2.2.5 Delineamento experimental e análise estatística	33
2.2.3 Resultados e discussão.....	33
2.3 Conclusões.....	39
Referências	40
3 EFEITO DE NÍVEIS DE INCIDÊNCIA DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South var. <i>cephalosporioides</i> Costa NA SEMENTE E DO CONTROLE QUÍMICO DA PARTE AÉREA SOBRE O PROGRESSO DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO	45
Resumo	45
Abstract	45
3.1 Introdução	46

3.2 Desenvolvimento.....	48
3.2.1 Revisão bibliográfica	48
3.2.2 Material e Métodos	53
3.2.2.1 Obtenção do inóculo.....	53
3.2.2.2 Inoculação das sementes.....	53
3.2.2.3 Tratamento das sementes.....	54
3.2.2.4 Área experimental, delineamento, plantio e manejo do experimento	54
3.2.2.5 Avaliação da intensidade da doença e análise estatística.....	56
3.2.3 Resultados e discussão.....	57
3.3 Conclusões.....	72
Referências	72
4 TRANSMISSÃO PLANTA-SEMENTE DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South var. <i>cephalosporioides</i> Costa AGENTE CAUSAL DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO	77
Resumo	77
Abstract	77
4.1 Introdução	78
4.2 Desenvolvimento.....	80
4.2.1 Revisão bibliográfica	80
4.2.2 Material e Métodos	82
4.2.2.1 Cultivar e sementes utilizadas.....	82
4.2.2.2 Área experimental, plantio, delineamento e manejo do experimento	82
4.2.2.3 Avaliação da intensidade da doença, da infecção das sementes e análise estatística	83
4.2.3 Resultados e discussão.....	84
4.3 Conclusões.....	90
Referências	90

RESUMO

Detecção e transmissão planta-semente de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa: efeito de níveis de incidência na semente e do controle químico da parte aérea sobre o progresso da ramulose do algodoeiro

A ramulose, causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, é uma das mais importantes doenças do algodoeiro no Brasil. O fungo é transportado e transmitido pela semente, que se constitui fonte de inóculo inicial. Os objetivos do presente trabalho foram i) estudar o efeito de inibidores de germinação sobre a germinação, comprimento da radícula e incidência do patógeno nas sementes; ii) avaliar o efeito de níveis de incidência na semente e do controle químico da parte aérea sobre o progresso da ramulose; iii) estudar a transmissão do patógeno planta-semente em função da incidência da doença. Com base nos resultados observou-se que os solutos Manitol e NaCl no potencial osmótico de -0,8 MPa reduziram a germinação, o comprimento da radícula e não interferiram na detecção do patógeno. A área abaixo da curva de progresso da incidência e severidade da ramulose foi maior, quanto maior foi o nível de incidência nas sementes, independente do número de pulverizações no ano de 2006. No ano de 2007, a área abaixo da curva de progresso da ramulose foi dependente do número de pulverizações, sendo maior, quanto maior foi o nível de incidência nas sementes, mas sendo reduzida de acordo com o número crescente de pulverizações. Não houve efeito da quantidade de doença sobre a produção nos anos estudados, mas no ano onde foi registrada maior intensidade de doença, a produção de algodão em caroço foi mais baixa. Houve correlação positiva e significativa entre o nível de inóculo inicial, 40 dias após a emergência, e a incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas. Também houve correlação positiva e significativa entre a incidência da doença no campo e a incidência do patógeno nas sementes.

Palavras-chave: Algodão; *Gossypium hirsutum*; Doença; Incidência; Pulverização;
Restrição hídrica

ABSTRACT

Detection and transmission plant to seeds of *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa. Effect of incidence levels in the seeds and the chemical control of the canopy on the progress of ramulosis of cotton

The ramulosis, caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* is one of the most important disease of cotton in Brazil. The fungus is transported and transmitted by seeds and is an important initial inoculum source. The objectives of this research were i) to study the effect of germination inhibitors on the germination, length of radicle and incidence of the pathogen in the seeds; ii) to evaluate the effect of incidence levels in the seeds and the chemical control of canopy on the progress of ramulosis; iii) to study the transmission of the pathogen from plant to seeds in function of incidence of disease. Based on results it was observed that the Manitol and NaCl in the osmotic potential of -0,8 MPa reduced the germination, the length of radicle and did not caused decrease in the incidence of the pathogen in the seeds. The area under curve of progress of incidence and severity of ramulosis was higher, as much as the level of incidence in the seeds, independent of sprays number in the 2006 year. In the 2007 year the area under curve of progress of incidence and severity of ramulosis was dependent of sprays number. It was higher as much as the level of incidence in the seeds, but it was reduced according to the number of sprays was increased. There was not effect of disease intensity on the yield in the studied years, but in the year which the disease was more severe, the cottonseed yield was reduced. There was positive and significant correlation between the level of initial inoculum at 40 days after seedling emergence and the incidence of ramulosis when 70% of bolls were completely developed. There was positive and significant correlation between the incidence of disease in the field and the incidence of the pathogen in the seeds.

Keywords: *Gossypium hirsutum*; Disease; Incidence; Spray; Water restriction

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006 58
- Figura 3.2 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006 59
- Figura 3.3 - Curvas de progresso da incidência da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006 60
- Figura 3.4 - Curvas de progresso da severidade da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006 61
- Figura 3.5 - Pluviosidade (mm), médias das temperaturas máximas e mínimas ($^{\circ}\text{C}$), e número de horas com umidade relativa acima de 90% no intervalo entre 18 e 25 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura nos anos de 2006 (a) e 2007 (b) em Santa Helena de Goiás, GO 64
- Figura 3.6 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea Santa Helena de Goiás, GO, 2007 65

- Figura 3.7 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2007 66
- Figura 3.8 - Curvas de progresso da incidência da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2007 68
- Figura 3.9 - Curvas de progresso da severidade da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2007 69
- Figura 4.1 - Análise de regressão para a relação entre níveis de inóculo inicial constituído pela percentagem de incidência de plantas com ramulose 40 dias após a emergência e a incidência da doença quando 70% das maçãs encontravam-se formadas. 2006 (a); 2007 (b). Santa Helena de Goiás, 2007 87
- Figura 4.2 – Precipitação (mm) e número de horas com umidade relativa acima de 90% no intervalo entre 18 e 25^oC nos anos de 2006 (a) e 2007 (b)..... 89

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1 - Efeito de solutos com diferentes potenciais osmóticos empregados em teste de sanidade de sementes de algodoeiro, sobre a germinação das sementes, comprimento da radícula e incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em relação ao tratamento-padrão de água destilada, ao 2,4D e ao congelamento. Piracicaba, 2007 34
- Tabela 2.2 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre a percentagem de germinação de sementes de algodoeiro em teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007 36
- Tabela 2.3 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre a o comprimento da radícula em teste de sanidade de sementes de algodoeiro pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007 37
- Tabela 2.4 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre os níveis de detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro, em teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007 38
- Tabela 3.1 - Efeito do controle químico da parte aérea sobre os valores da área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro a partir de 4, 6 e 8% de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes. Santa Helena de Goiás,GO,2007 67

- Tabela 3.2 - Rendimento de algodão em caroço (arrobas/ha) em relação aos tratamentos com diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e ao número de pulverizações com fungicidas na parte aérea do algodoeiro, nos anos de 2006 e 2007 em Santa Helena de Goiás, GO 71
- Tabela 4.1 – Inóculo inicial constituído da percentagem de plantas sintomáticas no campo, incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas e infecção das sementes colhidas por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Santa Helena de Goiás, 2007.....85
- Tabela 4.2 - Coeficientes de correlação entre incidência da ramulose no algodoeiro, quando 70% das maçãs estavam formadas e a incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes. Santa Helena de Goiás, 2007 87

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de algodão situando-se em quinto lugar, atrás da China, Estados Unidos, Índia e Paquistão (ANUÁRIO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 2007), tendo produzido, na safra 2006/2007 mais de um milhão de toneladas de pluma (CONAB, 2007).

A cultura do algodoeiro no Brasil concentra-se, principalmente, na região do cerrado de Mato Grosso, Bahia e Goiás, sendo esses três estados, responsáveis por aproximadamente 85% da produção nacional (FERREIRA FILHO; ALVES, 2007), e o restante distribuídos nos estados de São Paulo e Paraná e na região semi-árida do Nordeste.

O crescimento da produção de algodão no cerrado deu-se a partir do início da década de 1990, como alternativa para sucessão com a cultura da soja, encontrando naquela região, condições propícias para o seu desenvolvimento, principalmente a partir do lançamento de cultivares com maior rendimento de fibra, adaptadas àquele ecossistema e com a adoção de alto nível de tecnologia e insumos em todo o sistema de produção (PAIVA et al., 2001; MELO FILHO; RICHETTI, 2003; SUASSUNA; COUTINHO, 2007;).

A elevação do rendimento obtido nos últimos anos, como resultado dos avanços genéticos e das adequações dos sistemas de produção, tem possibilitado a viabilidade econômica da cultura do algodoeiro; entretanto, tem causado preocupação o aumento sistemático no uso de insumos, destacando-se entre estes, os fungicidas (SUASSUNA; COUTINHO, 2007).

O aumento do uso de fungicidas decorre da maior incidência de doenças induzidas pelas condições de clima mais favorável, pelas alterações significativas no sistema de produção e pela utilização de cultivares suscetíveis. Doenças consideradas de pouca importância nas áreas tradicionais de cultivo passaram a ocupar lugar de destaque no cenário da cotonicultura nacional, assim como doenças de grande importância naquelas regiões representam, atualmente, uma ameaça ao avanço da cotonicultura no cerrado (ARAÚJO; FARIAS, 2003; ARAÚJO, 2006).

Mais de 250 agentes causais de doenças do algodoeiro já foram relatados na literatura mundial, alguns dos quais ocorrem em todas as regiões produtoras, enquanto

outros se mantêm restritos a algumas regiões. Cerca de 90% são fungos, sendo que algumas doenças são altamente destrutivas, enquanto outras não resultam em danos expressivos à cultura (CIA; ARAÚJO, 1999; CIA; FUZATTO, 1999)

Dentre as principais doenças que afetam a cultura do algodoeiro, no Brasil, destaca-se a ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa. A doença foi constatada pela primeira vez no estado de São Paulo, em 1936 (COSTA; FRAGA JÚNIOR, 1937), sendo posteriormente descrita nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Paraná, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba (ABRAHÃO; COSTA, 1949; CIA, 1977; KIMATI, 1980; LIMA, 1981; MALNATI; CARES, 1991, SANTOS, 1993). A ramulose é restrita à América Latina, tendo sido constatada, além do Brasil, na Venezuela (MALAGUTI, 1955) e no Paraguai (MATHIESON; MANGANO, 1985).

Glomerella gossypii é considerada a forma sexuada de *Colletotrichum gossypii* (HILLOCKS, 1992; HOLLIDAY, 1980). Esse fungo afeta os frutos e as plântulas causando, normalmente, antracnose e tombamento. *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, apesar de apresentar micélio, conídios e apressórios semelhantes a *C. gloeosporioides* e nenhuma descrição autorizada do patógeno ter sido reportada, é considerado, na América Latina, como um patógeno distinto, cujo quadro sintomatológico induzido nas plantas de algodoeiro é conhecido como ramulose (BAILEY et al., 1996). Os conídios são produzidos em conidióforos presentes em uma matriz mucilaginosa nos acérvulos, bem como em setas férteis. Esse último aspecto tem grande importância epidemiológica, uma vez que os conídios produzidos pelas setas férteis podem ser dispersos pelo vento e atingir grandes distâncias, enquanto aqueles produzidos na matriz mucilaginosa são dispersos apenas a curtas distâncias pela ação de respingos de chuva, água de irrigação e, possivelmente, insetos (LENNÉ; SONODA; PARBERY, 1984; TANAKA; MENTEN; MACHADO, 1996).

As condições de ambiente mais favoráveis à ramulose são, normalmente, aquelas onde predominam alta pluviosidade, temperaturas entre 25 e 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (SILVEIRA, 1965, MIRANDA; SUASSUNA, 2004). No Mato Grosso a amplitude de temperatura favorável ao desenvolvimento da doença variou entre 20 e 30°C (ARAÚJO; FARIAS, 2003), enquanto em Minas Gerais a temperatura

ótima para maior incidência da ramulose foi de 18,3^oC (SANTOS, 1993). O fungo pode ser transportado externamente à semente, como esporo aderido à sua superfície, ou como micélio dormente no seu interior (LIMA et al., 1985), constituindo esta uma das principais fontes de inóculo primário da doença, além de restos de cultura contaminados (ARAÚJO et al., 2003; SUASSUNA; COUTINHO, 2007).

Os primeiros sintomas da doença ocorrem nas folhas mais jovens, caracterizados por manchas necróticas circulares que evoluem e o tecido necrosado rompe-se e se desprende, originando perfurações com formato de estrela. O crescimento desigual do tecido induz o enrugamento do limbo foliar. Logo após o surgimento das primeiras lesões foliares, ocorre a morte do meristema apical do ramo afetado, paralisando o seu crescimento e estimulando a brotação de gemas laterais, que culmina com a formação de um aglomerado de ramos com entrenós curtos e intumescidos, dando à planta um aspecto envassourado (ARAÚJO; SUASSUNA, 2003; SUASSUNA; COUTINHO, 2007). Plantas infectadas antes do florescimento abortam estruturas florais, devido à competição por seiva com os demais ramos vegetativos. Por fim, a doença reduz o porte da planta e a produção de capulhos (SUASSUNA; COUTINHO, 2007).

Os danos à cultura do algodoeiro podem atingir entre 30 e 70% no rendimento podendo atingir até 85% quando as condições de ambiente são favoráveis (SILVEIRA, 1965; KIMATI, 1980). Carvalho et al. (1984) verificaram redução entre 33 e 46% no rendimento. A maioria das características tecnológicas de fibra foi influenciada negativamente. Embora sejam conhecidos os efeitos danosos da ramulose do algodoeiro não existem, até o presente, estudos que revelem a quantificação dos danos à produção de pluma, em função da intensidade da ramulose sob as condições de plantio no cerrado.

No manejo da ramulose, têm sido recomendados a utilização de sementes livres do patógeno ou o tratamento de sementes, a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes e o controle químico da parte aérea (ARAÚJO; SUASSUNA, 2003; SUASSUNA; COUTINHO, 2007). O uso de sementes sadias torna-se um imperativo para evitar epidemias precoces da doença em função de maiores níveis de inóculo

inicial. Assim sendo, a produção de sementes com controle da qualidade sanitária apresenta-se como uma atividade imprescindível.

Avaliar a qualidade sanitária das sementes visando a sua semeadura ou o tratamento direcionado a patógenos alvo como *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, com o objetivo de evitar o uso de sementes portadoras, é uma prática indispensável. Para tanto, o método empregado na análise sanitária deve assegurar a detecção do patógeno com o máximo de eficiência. Esse aspecto deve ser ressaltado em função, sobretudo, do fato de que, considerando-se o agente causal da ramulose como uma variante de *C. gossypii*, existem dificuldades quanto a distinguir a identidade de ambos (TANAKA; MENTEN; MACHADO, 1996)

Dois métodos são normalmente utilizados em análises de rotina para detecção de fungos em sementes de algodoeiro. O método do papel de filtro, com algumas variações, é o mais empregado e, apenas eventualmente, emprega-se o método de incubação em meio de ágar (BRASIL, 1992). O método do papel de filtro baseia-se na avaliação de sinais dos patógenos desenvolvidos sobre as sementes, seguida da sua identificação morfológica, e ou, sintomas nas plântulas (NEERGAARD, 1979; DHINGRA; ACUÑA, 1997). A principal desvantagem desse método é a dificuldade de leitura quando o sistema radicular se espalha sobre o papel, formando um emaranhado de radículas e a parte aérea da plântula ergue a tampa do recipiente, aumentando as chances de infecção de plântulas sadias, uma vez estabelecido o contato entre estas e aquelas com sintomas ou sinais ou com o ambiente externo (DHINGRA; ACUÑA, 1997). Neste sentido a associação do método do papel de filtro com técnicas direcionadas à inibição do processo germinativo das sementes tem sido proposta por vários autores, visando facilitar possíveis interferências na visualização do crescimento dos patógenos a elas associados por ocasião da análise de sanidade, bem como visando estimular o seu crescimento (ALAM; JOYCE; WEARING, 1996; CARVALHO, 2000; COUTINHO et al., 2001; MACHADO, 2002; MACHADO et al., 2003).

A produção de sementes com controle de qualidade sanitária e o seu tratamento com fungicidas são medidas que asseguram a semeadura com níveis de inóculo que atendam aos padrões de sanidade (LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998). Esse aspecto é fundamental para evitar a ocorrência de epidemias precoces e para a redução do

número de aplicações direcionadas ao controle da ramulose. Sendo *C. gossypii* var. *cephalosporioides* transportado, predominantemente, através das sementes, o uso de sementes infectadas não só é responsável pela introdução do patógeno em áreas indenes, como significa maior quantidade de inóculo inicial (LIMA et al., 1985; LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998). No Mato Grosso, Machado e Cassetari Neto (2003) identificaram 13,3 plantas/ha, com ramulose, aos 28 dias após a emergência, quando as sementes apresentavam 5% de infecção. Também no Mato Grosso, Araújo e Chitarra (2005) constataram associação entre incremento na severidade da ramulose em relação a um aumento nos níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes. A doença apresentou alta severidade mesmo a partir de lotes de sementes com 1% de infecção pelo patógeno.

Considerando a possibilidade de utilização de sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e a partir de dados que indicam aumento na severidade da doença em função do aumento na incidência do patógeno nas sementes (ARAÚJO, 2006), deve-se avaliar se o controle químico da parte aérea, visando reduzir a intensidade da ramulose, torna-se viável quando se aumenta o nível de inóculo inicial através das sementes como agente de disseminação.

A severidade da ramulose não tem sido correlacionada com a infecção nas sementes (LIMA et al. 1985; PIZZINATTO, CIA, FUZATO, 1991). Áreas onde a doença ocorre de maneira severa, nem sempre resulta em níveis de infecção das sementes, elevado. Por outro lado, em áreas onde a doença se manifesta com menor intensidade, podem ser detectados índices de infecção das sementes elevados. Segundo Lima et al. (1985) a infecção das sementes está associada ao estágio de desenvolvimento da cultura, sendo o período de formação das maçãs, ou quando as mesmas estão completamente formadas, o mais favorável à infecção das sementes por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Tendo em vista o fato de que as inspeções de campo são realizadas com base na incidência, cabe investigar a relação entre níveis de incidência da ramulose em campo e o nível de infecção das sementes pelo patógeno, visando nortear medidas de manejo que resultem em sementes com alta qualidade sanitária.

Referências

ANUÁRIO BRASILEIRO DO ALGODÃO. **Um giro pelo mundo**. Santa Cruz do Sul, Gazeta Comunicações 2007, p. 40.

ABRAHÃO, J.; COSTA, A.S. Instruções para o reconhecimento da ramulose do algodoeiro. **O Biológico**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 59-60, 1949.

ALAM, S.; JOYCE, D., WEARING, A. Effects of equilibrium relative humidity on *in vitro* growth of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 36, n. 3, p. 383-388, 1996.

ARAÚJO, A. E. Novas doenças surgem no cerrado. **Visão Agrícola**. Piracicaba, v. 6, p. 42-43, jul/dez 2006

ARAÚJO, A.E.; FARIAS, F.J.C. Progress of witches broom disease of cotton in Mato Grosso state Brazil. In: WORLD COTTON RESEARCH CONFERENCE, 3., 2003, Cape Town, **Anais...**Cape Town, ICAC, p. 1428-1430.

ARAÚJO, A.E.; SUASSUNA, N.D. **Guia de identificação e controle das principais doenças do algodoeiro no estado de Goiás**. Campina Grande, 2003. 40p. (Embrapa Algodão. Documentos 113)

ARAÚJO, A.E.; CHITARRA, L.G. Efeito de níveis de inóculo nas sementes sobre o progresso da ramulose do algodoeiro no Mato Grosso. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v. 30, p. S193, 2005, Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27, 2005, Brasília.

ARAÚJO, A.E.; FREITAS, J.S.; SUASSUNA, N.D.; FARIAS, F.J.C. Sobrevivência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em restos de cultura no solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. **Fitopatologia: Trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM

BAILEY, J.A.; NASH, C.; MORGAN, L.W.; O'CONNELL, R.J.; TEBEEST, D. ° Molecular Taxonomy of *Colletotrichum* Species Causing Anthracnose on the Malvaceae. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 10, p. 1076-1083, Oct. 1996.

BRASIL, **Regras para análise de sementes**. Brasília, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365p.

CARVALHO, J.C.B. **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade**. 2000. 78 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

CARVALHO, L.P.; CAVALCANTI, F. B.; LIMA, E.F.; SANTOS, E.O. Influência da ramulose nas características de fibra e produção do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 9, n 3, p.593-598, out.1984.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. (Ed.) **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 4ª ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CELANO, F.A.O. **Desempenho de sementes de algodão durante o armazenamento, após inoculação com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pela técnica de restrição hídrica**. 2004. 83p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2004.

CIA, E. Ocorrência e reconhecimento das doenças do algodoeiro *Gossypiu hirsutum* L. no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 3. p. 167-193, jun/1977

CIA, E; ARAÚJO, A.E. Doenças do algodoeiro. In: _____ . **Mato Grosso: Liderança e Competitividade**. Rondonópolis: Fundação MT; Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. p. 100-112.

CIA, E.; FUZATTO, M.G. Manejo de doenças na cultura do algodão. In: CIA, E.; FREIRE, E.C.; SANTOS, W.J. (Ed.) **Cultura do Algodoeiro**. Piracicaba: Potafos, 1999. p. 121-131.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>T. Acesso em 10 jun. 2007.

COSTA, A.S; FRAGA JÚNIOR, C.G. **Superbrotamento ou ramulose do algodoeiro**. Campinas: Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo, Instituto Agrônomo de Campinas, 1937. 15p. (Boletim Técnico 29.)

COUTINHO, W.M., MACHADO, J.C., VIEIRA, M.G.G.C., GUIMARÃES, R.M., FERREIRA, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio agar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 127-135, jul./dez. 2001.

DELOUCHE, J.C.; MATTHES, R.K.; DOUGHERTY, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in subtropical and tropical regions. **Seed science and technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 671-700, Jul./Dec. 1973.

DHINGRA, O.D., ACUÑA, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa: UFV, 1997. 119p.

FERREIRA FILHO, J.B. S.; ALVES, L.R. Aspectos econômicos do algodão no cerrado. In: FREIRE, E.C. (Ed.) **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira de Produtores de Algodão, 2007. p. 53-89.

- HOLLIDAY, P. **Fungus diseases of tropical crops**. Cambridge: Cambridge University Press, 1980. 642p.
- HILLOCKS, R.J. Seedling Diseases. In: HILLOCKS, R.J. (Ed.) **Cotton diseases**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-38
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro. In: GALLI, F. et al. **Manual de Fitopatologia**. 2.ed. v. 2. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980, p. 29-48.
- LENNÉ, J.M.; SONODA, R.M.; PARBERY, D.G. Production of conidia by setae of *Colletotrichum* species. **Mycologia**. Albuquerque, v. 76, n.2, p. 359-362, Mar./Apr.1984.
- LIMA, E.F. **Variabilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* Costa e avaliação da resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose**. 1981. 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1981.
- LIMA, E.F.; ARAÚJO, A.E.; CARVALHO, L.P. Produção de sementes de algodoeiro com controle da qualidade sanitária. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DO ALGODÃO, 4. ENCONTRO MATO GROSSO 2000, 1. 1998, Cuiabá. **Anais....**Rondonópolis: Embrapa/Fundação MT/Empaer-MT, 1998. p. 91-101.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P.; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 99-109, abr. 1985.
- MACHADO, A.Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro**. 2002. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.
- MACHADO, A. Q.; CASSETARI NETO, D. Nível de tolerância de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão no Mato Grosso. . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. **Fitopatologia Trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM
- MACHADO, J.C., OLIVEIRA, J.A., VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES, M.C. Controle da germinação de sementes de soja em testes de sanidade pelo uso da restrição hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, p. 77-81, jul/dez 2003.
- MALAGUTI, G. La escobilla del algodón en Venezuela. **Agronomia Tropical**. Maracay, v. 5, n. 2, p. 73-86, jul./sep. 1955.
- MALNATI, W.D.; CARES, J.H. Levantamento das doenças do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) na região de Cáceres, MT. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 116 1991. Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 24., 1991, Rio de Janeiro.

- MATHIESON, J.T.; MANGANO, V. Ramulose, a new cotton disease in Paraguay caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 11, n. 1/2, p. 115-118, jan./jun. 1985.
- MELO FILHO, G.A.; RICHETI, A. **Cadeia produtiva de Algodão de Mato Grosso do Sul: eficiência econômica e competitividade**. Dourados, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2003. 72p.
- MIRANDA, J.E.; SUASSUNA, N.D. **Guia de Identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. 47p. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 76).
- NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2nd ed. London: McMillan, 1979. v. 2. 1191p.
- PAIVA, F.A.; ASMUS, G.L.; ARAÚJO, A.E. Doenças. In: **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste/Embrapa Algodão, 2001. p. 245-267.
- PIZZINATTO, M.A.; CIA, E; FUZZATO, M.G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n.3/4, p. 207-217, jul./dez. 1991.
- SANTOS, G.R. **Progresso da ramulose do algodoeiro e transmissão de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa pelas sementes**. 1993. 53p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1993.
- SILVEIRA, A.P. Fungos e bactérias. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE POTASSA. **Cultura e adubação do algodoeiro**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1965. p. 417-419.
- SUASSUNA, N.D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: FREIRE, E.C. (Ed.) **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira de Produtores de Algodão, 2007. p. 479-521.
- TANAKA, M.A.S.; MENTEN, K.O.M. MACHADO, J.C. Hábito de crescimento de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro **Bragantia**. Campinas, v. 55, n. 1, p. 95-104, 1996.

2 EFEITO DE INIBIDORES DE GERMINAÇÃO SOBRE OS NÍVEIS DE DETECÇÃO DE *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* Costa EM SEMENTES DE ALGODOEIRO

Resumo

O fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, agente causal da ramulose do algodoeiro, é transmitido pela semente e se constitui em uma das mais importantes fontes de inóculo inicial e de introdução da doença em áreas indenadas. Para que se possa identificar sua presença em lotes de sementes, é importante que se empreguem métodos de detecção rápidos e seguros. O mais empregado é o método do papel de filtro, que se baseia na avaliação de sinais do patógeno desenvolvidos sobre as sementes, seguido de sua identificação morfológica. O método apresenta a desvantagem do crescimento das plântulas no período de incubação das sementes, que pode favorecer o desenvolvimento de outros fungos e prejudicar a caracterização do patógeno. Para minimizar este problema vem sendo empregada a restrição hídrica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de três solutos em dois potenciais osmóticos, comparados ao tratamento padrão de água destilada, ao congelamento e ao 2,4D, sobre a germinação, comprimento da radícula e detecção do agente causal da ramulose, durante o teste de sanidade. Os solutos reduziram a germinação e o comprimento da radícula em relação à água destilada, 2,4D e ao congelamento e induziram maior incidência do patógeno nas sementes. Os solutos Manitol e NaCl foram mais eficientes em inibir a germinação no potencial osmótico de -0,8 MPa. O mesmo comportamento foi observado em relação à incidência. O KCl mostrou-se eficiente em inibir a germinação nos dois potenciais osmóticos testados, -0,6 e -0,8 MPa, porém induziu menor incidência. Os solutos Manitol e NaCl no potencial osmótico de -0,8 MPa foram eficientes em reduzir a germinação e o comprimento da radícula, sem interferir negativamente nos níveis de detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, podendo ser recomendados para uso em análises sanitárias de rotina.

Palavras-chave: Fungo; Restrição hídrica; Incidência; Potencial osmótico; Ramulose

EFFECT OF GERMINATION INHIBITORS ON DETECTION LEVELS OF *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa IN COTTON SEEDS

Abstract

The fungus *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, the causal agent of ramulosis in cotton, is transmitted by seeds and is one of the most important source of inoculum and the introduction of disease in health areas. To detect the pathogen in the cotton seeds it is important the use of a safe and quick method. The more used method is the blotter test that is based on the evaluation of pathogen growing on the seeds and the morphological identification. The method presents the disadvantage of seedlings

growing during the seeds incubation period, which can be favorable to development of contaminants fungi and become difficult the identification of main pathogen. To avoid this problem the water restriction technique had been used. The present research had the objective to study the effect of water restriction in the blotter test with manitol, NaCl and KCl, in two osmotic potential, -0,6 and -0,8, compared to pattern treatment of distilled water and 2,4D added to the substrate and the freezing technique, in relation to seed germination, radicle elongation and incidence of the pathogen on the seeds. The manitol and NaCl, with osmotic potential of -0,8 MPa were more efficient to inhibit the germination and promoted higher incidence of the pathogen. The KCl was efficient to inhibit the germination in the two osmotic potentials of -0,6 and -0,8, but the incidence of the pathogen was reduced. The manitol and NaCl in the osmotic potential of -0,8 MPa were efficient to reduce the germination and radicle elongation but not reduced the incidence of the pathogen on the seeds. This technique can be used in routine health test to detect *C. gossypii* var. *cephalosporioides* in seed cotton.

Keywords: Fungus; Water restriction; Incidence; Osmotic potential; Ramulosis

2.1 Introdução

A taxa de utilização de sementes de algodão é estimada em cerca de 56% (MENTEN et al., 2005). Essa taxa ainda é considerada baixa pela indústria de sementes, tendo em vista os benefícios obtidos pelo produtor quando da utilização de sementes melhoradas e certificadas. Um dos aspectos importantes no que se refere à utilização de sementes selecionadas diz respeito ao controle sobre sua qualidade fisiológica e sanitária, que assegura melhor germinação, maior vigor das plântulas e baixos índices de doenças iniciais, no que resulta em estande uniforme e baixa taxa de replantio.

A semente é, sem dúvida, uma dos insumos mais importantes. Sua alta qualidade se constitui a base para elevação do rendimento agrícola. A qualidade envolve um conjunto de fatores que, avaliados conjuntamente, propiciam o conhecimento do valor real e do potencial de utilização de um lote de sementes. Os aspectos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários assumem diferentes graus de importância conforme o perfil da produção da espécie ou de determinado lote (BORÉM, 2005).

Uma semente de alta qualidade pode ser definida como aquela que apresenta boas características genéticas, fisiológicas e sanitárias. Neste contexto um dos aspectos fundamentais na associação entre sementes e manejo de doenças é o fato de

que as sementes podem transportar patógenos, os quais ali encontram condições adequadas para sobreviver, mantendo suas características patogênicas, podendo ainda ser disseminados e introduzidos nas lavouras, constituindo-se em fonte de inóculo inicial de doenças que podem reduzir o estande, debilitar as plantas e causar epidemias (BAKER; SMITH, 1966; MENTEN et al., 2005;)

No caso do algodoeiro, a semente é veículo de transporte e transmissão de vários patógenos, os quais podem causar doenças iniciais importantes ou epidemias de graves proporções. Neste sentido a produção de sementes com controle da qualidade sanitária e sua utilização isenta de patógenos, deve-se constituir uma premissa básica no sistema de produção de algodão.

Embora ainda sejam poucos os estudos que forneçam elementos para o estabelecimento de padrões de sanidade que visem minimizar os efeitos da incidência de patógenos nas sementes de algodoeiro, tem sido consenso a necessidade de, à luz do conhecimento atual, serem definidos critérios que determinem níveis máximos de ocorrência de patógenos específicos em lotes de sementes, que assegurem o mínimo de danos à cultura durante o seu estabelecimento e no decorrer de seu ciclo.

Assim é que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabeleceu normas específicas e padrões de identidade para produção e comercialização de sementes de diversas cultura, incluindo o algodão (DOU, 2005 apud BRUNETTA; BRUNETTA; FREIRE, 2007). O padrão de sanidade em nível de campo para *C. gossypii* var. *cephalosporioides* é zero para as sementes C1 e C2 e 2% para as sementes S1 e S2.

A definição de padrões de sanidade para sementes de algodoeiro impõe a necessidade de se produzir sementes isentas do agente causal da ramulose e, como conseqüência, a necessária realização do teste de sanidade de sementes visando à detecção de patógenos, para que sejam atendidas as exigências da legislação vigente.

O método empregado normalmente para a detecção do agente causal da ramulose é o do papel de filtro, que se baseia na avaliação de sinais do patógeno desenvolvido sobre as sementes, seguida da sua identificação morfológica, e ou, sintomas nas plântulas (NEERGAARD, 1979), cujos resultados têm sido satisfatórios. Entretanto uma das desvantagens do método é o crescimento das plântulas durante o

período de incubação das sementes que, muitas vezes, pode criar condições para o desenvolvimento de fungos indesejáveis e prejudicar a visualização e caracterização do patógeno (DHINGRA; ACUÑA, 1997; BARBA et al., 2002). Visando minimizar esse problema, assim como aumentar a sensibilidade do método têm sido utilizadas técnicas para inibir a germinação.

Essas técnicas constituem variações do método do papel de filtro e entre as mais utilizadas destacam-se o congelamento e o uso de solução de 2,4 D (LIMONARD, 1966; REGO, 2007). Entretanto o uso do 2,4 D apresenta a desvantagem da manipulação de um produto tóxico, enquanto o congelamento necessita de ampliação da logística do laboratório visando a utilização de freezer e a transferência de material incubado de um local para outro, resulta em dispêndio de tempo e mão-de-obra. O uso da restrição hídrica tem se mostrado eficiente para inibir a germinação das sementes em testes de sanidade como alternativa aos métodos tradicionais (CAMARGO, 1998, COUTINHO, 2000), e vem sendo empregado com sucesso em testes de sanidade de sementes de algodão (GUIMARÃES, 1991; MACHADO, 2002). Entretanto deve-se ressaltar que, em que pese a eficiência destas variações, é importante maximizar os benefícios de seu emprego, tendo em vista que as mesmas sempre representarão custos adicionais ao método do papel de filtro.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência dos solutos manitol NaCl e KCl como inibidores de germinação comparados ao método do papel de filtro tradicional, ao 2,4D e ao congelamento, sobre a germinação de sementes de algodoeiro e sobre a detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Revisão bibliográfica

A sanidade de sementes deve ser uma preocupação permanente de técnicos e produtores visando minimizar os efeitos danosos causados por patógenos a elas associados que podem causar danos expressivos ao estabelecimento da cultura, assim como contribuir decisivamente para a ocorrência de severas epidemias durante todo o seu ciclo.

Diversos patógenos podem estar presentes tanto externa como internamente na semente do algodoeiro podendo induzir doenças importantes. Entre estes destacam-se *Rhizoctonia solani*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (WATKINS, 1981; GOULART, 2005), , várias espécies de *Fusarium* (RONCADORI et al., 1971; DAVIS, 1977) além de *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, o primeiro conhecido, normalmente, como agente causal do tombamento de plântulas e da antracnose e o segundo, como agente causal da ramulose (CIA; ARAÚJO, 1999; GOULART, 2005).

De acordo com Cia (1977) *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foi detectado pela primeira vez em sementes de algodoeiro no município de Rancharia estado de São Paulo. Posteriormente, inúmeros trabalhos têm demonstrado o transporte e a transmissão do fungo pela semente e avaliado o impacto do plantio de sementes infectadas sobre o desenvolvimento da ramulose no campo (LIMA et al., 1985; SANTOS et al., 1994; ARAÚJO, 2004; ARAÚJO; CHITARRA, 2005).

Os testes de sanidade de sementes de algodão vêm sendo amplamente utilizados visando identificar precocemente patógenos por elas transportados e/ou transmitidos para que se possam tomar as medidas de controle adequadas antes que a semente seja colocada no campo.

De acordo com Pizzinatto (1987) diversos métodos, os quais envolvem diferentes processos, têm sido utilizados em testes de sanidade de sementes de algodão. Entretanto para a detecção de vários patógenos ou de um patógeno específico, deve-se empregar ou padronizar, tanto quanto possível, um método rápido, simples e reproduzível.

Colletotrichum gossypii foi detectado em sementes de algodão por Lehman (1938) através do exame microscópico de sementes e plântulas infectadas no teste padrão de germinação, ou seja, papel toalha umedecido e esterilizado e incubação a 28°C. Por outro lado Halfon-Meiri e Volcani (1977) desenvolveram o método de sintoma em plântula para detecção de *X. axonopodis* pv *malvacearum* e *Colletotrichum gossypii*. A novidade do método era a detecção de ambos os patógenos em uma mesma amostra de sementes. O método baseia-se na identificação dos sintomas de ambos os

patógenos em diferentes partes de plantas com 14 dias de idade, tendo se mostrado um método bastante sensível.

Ruano (1980) comparou os métodos do papel de filtro e o de sintoma em plântulas para detecção de diferentes fungos em sementes de algodoeiro. O autor empregou sementes com línter e, ao contrário de Lehman (1938) e Helfon-Meiri e Volcani (1977), utilizou substrato de areia e vasos de plástico para a avaliação de sintomas em plântulas, após 14 dias de incubação, sob temperatura de 23-26⁰C e regime de luz alternada de 12 horas de luz e 12 de escuro. O autor verificou que o método de sintoma em plântula foi mais sensível para a detecção de *C. gossypii*.

Uma das limitações do método de sintoma em plântulas empregando-se substrato de areia, é a mobilização de materiais necessários, o tempo e a mão-de-obra despendidos no processo, assim como o espaço necessário para a sua execução. Assim sendo, sua utilização não tem sido recomendada em análises de rotina.

Basicamente dois métodos têm sido empregados para detecção de fungos em sementes de algodoeiro, sendo o método do papel de filtro, com algumas variações, o mais utilizado, enquanto o método de incubação em meio de ágar é utilizado apenas em algumas circunstâncias (BRASIL, 1992, MACHADO, 2002).

O método do papel de filtro tem se mostrado eficiente na detecção de *C. gossypii* var *cephalosporioides* (LIMA et al., 1985; SANTOS, 1993; TANAKA; MENTEN; MACHADO, 1996). Por esse método, as sementes são dispostas de maneira eqüidistantes em placas de Petri ou outro recipiente transparente sobre papel absorvente, normalmente em três camadas, as quais são o bastante para fornecer o nível de umidade necessário para a duração do teste. As sementes são incubadas por um período de tempo determinado, em geral uma semana, sob temperatura de 20 ± 2⁰C, com fotoperíodo de 12 horas (NEERGAARD, 1979).

A germinação rápida das sementes de algumas espécies durante o período de incubação, pode resultar em contaminação da amostra e dificuldades na detecção e caracterização dos patógenos (MACHADO, 1988). Neste sentido o uso de inibidores de germinação tem sido encorajado.

O congelamento das sementes e o uso de 2,4 D (diclofenoxiacetato de sódio) em solução com a água utilizada no umedecimento do papel absorvente constituem as

modificações mais tradicionais do método do papel de filtro visando inibir a germinação das sementes, ou mesmo reduzir o comprimento das plântulas (LIMONARD, 1968; NEERGAARD, 1979). O 2,4 D é normalmente recomendado na concentração de 0,2% (LUCCA FILHO, 1987), entretanto pode variar de acordo com a cultura e com o patógeno alvo que se deseja detectar. Essa variação pode ser entre 10 e 2000 ppm (BRASIL, 1992)

Farias et al. (2003) utilizaram 2,4 D a 0,5% para inibir a germinação de sementes de milho em teste de sanidade. Por outro lado Goulart (2001) avaliando a incidência de fungos em sementes de soja no Mato Grosso do Sul, utilizou 2,4 D na concentração de 0,02% visando inibir a germinação das sementes. Trabalhando também com sementes de soja, Machado et al, (2003) empregaram solução de 2,4 D a 10 ppm para inibir a germinação.

Em sementes de algodão, vários autores têm utilizado o 2,4 D na concentração de 10 ppm (MACHADO, 2002; ARAÚJO, 2004; TEIXEIRA et al, 2002). De acordo com. Sobreira (1988) essa concentração prejudicou o crescimento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, entretanto Goulart (2001) trabalhando com sementes de soja não verificou problemas na detecção de *C. truncatum*, tendo utilizado 0,02% de 2,4 D para inibir a germinação.

O método do papel de filtro com congelamento tem sido bastante utilizado na detecção de fungos associados a sementes de gramíneas (COUTINHO et al., 2001; GARCIA JÚNIOR et al., 2007), porém tem se estendido a diferentes espécies. Magalhães et al. (2004) utilizaram o método do papel de filtro com congelamento para a detecção de espécies de *Alternaria* em cenoura, enquanto Teixeira et al, 2002 utilizaram o mesmo método para detecção de patógenos associados a sementes de arroz, milho, trigo e cenoura.

Nascimento et al, (2003) também utilizaram o método do congelamento visando a detecção de fungos em sementes de amendoim bravo (*Pterogyne nitens*). O congelamento não tem sido normalmente utilizado em sementes de algodão. De acordo com Farias et al., 2003 a ruptura das células pode induzir a produção de exsudatos das sementes, que são drenados pelo substrato de papel podendo provocar infecções secundárias.

O método consiste basicamente em manter os recipientes com as sementes sob a temperatura de incubação por 24 horas, transferindo-os em seguida para um freezer com temperatura de -18°C a -20°C por 24 horas e, posteriormente, transferindo-os outra vez para a temperatura de incubação (NEERGAARD, 1979, BRASIL, 1992).

A restrição hídrica vem sendo amplamente utilizada como método para inibir a germinação das sementes durante o período de incubação do teste de sanidade e, assim, facilitando a identificação e caracterização de patógenos a elas associados.

O processo de germinação das sementes está intrinsecamente ligado à absorção de água pelo embrião e pelos tecidos circunvizinhos. Todas as células dos tecidos embrionários e dos demais tecidos apresentam potencial hídrico, que pode ser específico para cada tecido, célula ou até mesmo a cada compartimento celular. Em função disso, a semente como um todo pode se comportar como uma célula gigante, apresentando relações hídricas específicas (CASTRO; HILHORST, 2004).

As sementes, em geral, apresentam um padrão trifásico de absorção de água e hidratação durante o processo de embebição. A fase I é rápida e dirigida pelo potencial matricial da semente seca. Nessa fase ocorrem aumento da respiração e acúmulo de ATP, síntese de mRNA e reparo de DNA, ativação de polissomos e síntese de proteínas a partir de mRNAs recentemente sintetizados. A fase II se caracteriza pela preparação e ativação do metabolismo na qual ocorrem a síntese e duplicação do DNA, início da degradação de reservas, alongamento das células da radícula, protusão da radícula e mitose. Na fase III ocorre um aumento no conteúdo de água da semente devido à absorção associada com o início do crescimento do embrião (BEWLEY; BLACK, 1994; CASTRO; HILHORST, 2004).

O conhecimento das diferentes fases do processo germinativo das sementes deu margem a estudos sobre técnicas de controle da absorção de água pelas sementes. Dentre estas o condicionamento osmótico visa permitir a ocorrência das fases I e II e impedir que a umidade alcance níveis que permitam o alongamento celular e a conseqüente emergência da radícula, fenômeno verificado na fase III (HEYDECKER; HIGGINS; 1975; BRADFORD, 1986 apud MACHADO, 2002). Neste sentido o uso de diferentes solutos tem sido proposto para controlar o processo de hidratação das sementes e, assim, impedir que o processo de germinação se complete, evitando

problemas decorrentes do crescimento das plântulas durante o período de incubação do teste de sanidade.

Um problema a ser considerado é a possibilidade da restrição hídrica induzir redução no crescimento fúngico. Neste sentido, alguns estudos têm sido realizados visando identificar os potenciais osmóticos mais adequados que dificultem a germinação, mas não interfiram significativamente no crescimento dos patógenos.

Rey et al., 2005 avaliaram o crescimento micelial de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* utilizando sacarose e NaCl sob diferentes potenciais osmóticos, constatando crescimento radial máximo nos potenciais de -0,6 e -0,8 MPa.

Farias et al, (2003) utilizaram NaCl, KCl, polietilenoglicol, manitol e sacarose visando inibir a germinação de sementes de trigo e milho e verificaram uma redução expressiva no percentual de sementes germinadas com o incremento no nível de restrição hídrica imposta ao substrato e não observaram diferenças na incidência de fungos associados às sementes.

Coutinho (2000) verificou que a restrição hídrica induzida por NaCl, KCl e manitol, nos potenciais osmóticos variando entre -0,6 a -0,9 MPa, inibiram eficientemente a germinação das sementes e não interferiram na detecção de fungos a elas associados.

Machado (2002) avaliou o efeito da restrição hídrica induzida por NaCl e Manitol, em diferentes potenciais osmóticos, com o objetivo de utilizar a restrição hídrica como método alternativo ao uso do 2,4 D na inibição da germinação de sementes de algodoeiro em testes de sanidade. O autor verificou que os solutos em potenciais osmóticos entre -0,6 e -1,2 MPa inibiram a germinação das sementes em níveis similares ao 2,4 D e observou também que os solutos utilizados em potencial osmótico de -1,0 MPa não interferiram no desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

2.2.2 Material e métodos

2.2.2.1 Obtenção do inoculo

O ensaio foi realizado no Laboratório de Patologia de sementes da ESALQ/USP. Utilizou-se o isolado 242 de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, obtido no

estado de Goiás e pertencente à micoteca da Embrapa Algodão, Campina Grande-PB. O isolado foi repicado para placas de Petri com meio de cultura BDA onde se manteve em crescimento até dez dias.

2.2.2.2 Inoculação das sementes

Sementes de algodoeiro da cultivar Delta Opal, num total de 50 por placa, foram colocadas em contato com micélio e conídios do patógeno conforme metodologia descrita por Tanaka e Menten (1991). Em seguida as placas foram agitadas de modo que as estruturas fúngicas pudessem estabelecer contato, tanto quanto possível, com o máximo de superfície das sementes. Posteriormente as placas foram deixadas em repouso sob condições de temperatura ambiente do laboratório, por um período de 24 horas, quando foram retiradas e colocadas em saco de papel Kraft. Em seguida as sementes inoculadas foram submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro, visando identificar o percentual de infecção do lote pelo patógeno.

2.2.2.3 Inibidores de germinação

Utilizaram-se manitol, KCl e NaCl nos potenciais osmóticos de -0,6 e -0,8 MPa. Para obtenção da quantidade de soluto empregado utilizou-se o software SPPM (MICHEL; RADCLIFFE, 1995). O 2,4 D foi utilizado na concentração de 10µg/ml e o congelamento foi realizado como descrito em Brasil (1992). No cálculo das soluções osmóticas foi utilizada a temperatura de 20°C.

2.2.2.4 Teste de sanidade

As sementes foram colocadas sobre três camadas de papel de filtro, em placas de Petri plásticas de 9 cm de diâmetro, em um total de dez sementes por placa, utilizando-se os diferentes inibidores de germinação em solução, para promover o molhamento do substrato e um tratamento com água destilada. Esta última também foi empregada no teste de sanidade quando se aplicou, às sementes, o congelamento. As placas foram incubadas em câmara de crescimento sob luz ultravioleta a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante sete dias. Decorrido esse período foi feita a avaliação da incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nos diferentes tratamentos.

2.2.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos regulares, três tratamentos adicionais e quatro repetições, constituindo-se cada repetição de cinco placas de Petri de 9 cm de diâmetro com 10 sementes cada uma.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste *t* e de Tukey através do procedimento GLM do software de estatística SAS[®] (SAS Institute, 2003). Os dados de porcentagem de incidência foram transformados para $x^{(2,3)}$ visando atender aos pressupostos da análise de variância.

2.2.3 Resultados e discussão

A incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* obtida no teste de sanidade das sementes de algodoeiro, pelo método do papel de filtro, sem o uso de inibidores de germinação, após a inoculação, foi de 96%. Esse resultado é compatível com aquele obtido por Tanaka e Menten (1991), empregando sementes sem assepsia. No presente trabalho, mesmo com mesmo após a assepsia superficial realizada com hipoclorito de sódio a 2%, por um minuto, após a inoculação, os níveis de incidência do patógeno nas sementes permaneceram elevados, sendo reduzidos em apenas 3% .

Não estava incluído nos propósitos deste trabalho comparar métodos de inoculação, mas tão somente empregar um método que permitisse obter uma quantidade de inóculo nas sementes, necessário à avaliação do desempenho de inibidores de germinação, quanto à eficiência na detecção do patógeno. Entretanto convém ressaltar que, mais recentemente, utilizando a técnica de restrição hídrica, Machado et al. (2004) obtiveram percentuais de incidência do patógeno nas sementes acima de 80%, quando utilizaram potencial osmótico de -0,8 MPa. Também Celano (2004) obteve percentual de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, de cerca de 75%, quando inoculou sementes de algodoeiro empregando o método da restrição hídrica. Os autores argumentam que a inoculação por esse método permite a infecção pelo patógeno de maneira mais efetiva, evitando, assim, apenas a contaminação superficial.

Com base na análise de variância observou-se significância para os tratamentos manitol, NaCl e KCl, pelo teste F, e efeito da interação inibidores x potencial osmótico em relação às variáveis estudadas. Os solutos foram mais eficientes em reduzir o percentual de germinação e o comprimento da radícula, bem como induziram maior incidência do patógeno nas sementes. As sementes submetidas ao congelamento não germinaram, porém a incidência do patógeno nesse tratamento foi baixa (Tabela 2.1). Os dados do presente trabalho concordam com aqueles obtidos por Machado (2002) que observaram menor percentagem de germinação e menor comprimento de radícula, em teste de sanidade de sementes de algodoeiro, empregando os solutos NaCl e Manitol, em relação à água destilada e ao 2,4 D.

Tabela 2.1 - Efeito de solutos com diferentes potenciais osmóticos empregados em teste de sanidade de sementes de algodoeiro, sobre a germinação das sementes, comprimento da radícula e incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em relação ao tratamento-padrão de água destilada, ao 2,4D e ao congelamento. Piracicaba, 2007

Tratamentos*	Germinação (%)	Comprimento da radícula (cm)	Incidência (%)
Água destilada	96,00a	34,45 ^a	67,00a*
2,4D	97,00a	8,73b	63,00a
Congelamento	0,00	0,00	46,50b
Média	96,59a	21,59^a	58,80a
Manitol	73,12a	10,44C	77,00A
NaCl	71,00A	12,41B	74,50A
KCl	63,25B	14,46 ^a	60,50B
Média	69,10b	12,43b	70,67b
CV:	7,574	12,01	18,49

*Tratamentos comparados nas colunas

a, b: significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey para tratamentos adicionais.

A, B: significativo a 1% de probabilidade para os solutos pelo teste de Tukey para solutos.

a, b: significativo a 1% de probabilidade para solutos x tratamentos adicionais pelo teste *t*.

O potencial osmótico de -0,8 MPa foi mais eficiente em inibir a germinação das sementes tanto quando se empregou o soluto manitol como inibidor quanto o NaCl. O soluto KCl mostrou-se eficiente em inibir a germinação nos dois potenciais osmóticos utilizados (Tabela 2.2). Esses resultados também estão de acordo com aqueles obtidos por Machado (2002) que empregando NaCl e manitol nos potenciais osmóticos de -0,8

MPa observou uma maior redução na percentagem de germinação das sementes e comprimento das plântulas de algodoeiro, em relação ao potencial de -0,6 MPa e semelhante à obtida como uso de 2,4 D como inibidor de germinação.

Braccini et al. (1996), trabalhando com sementes de soja, verificaram que potenciais osmóticos inferiores a -0,3 MPa foram críticos para a germinação das sementes, enquanto Farias et al. (2003), avaliando o efeito da restrição hídrica induzida por diferentes solutos sobre a germinação de sementes de trigo e milho, constataram que o percentual de germinação das sementes foi drasticamente reduzido com o aumento no nível de restrição hídrica aplicada ao substrato. O manitol induziu níveis de germinação próximos a zero quando utilizado em potenciais osmóticos inferiores a -0,8

Assim como foi observado em sementes de milho e trigo por Farias et al. (2003) que constataram redução nos níveis de germinação para zero e 1% respectivamente, no presente trabalho o KCl foi eficiente na redução dos níveis de germinação das sementes de algodoeiro nos potenciais osmóticos de -0,8 e -0,6 MPa, porém não atingindo os níveis obtidos por aqueles autores.

Coutinho et al. (2001) também constataram que o NaCl e o KCl, utilizados nos potenciais osmóticos de -0,6 e -0,7 MPa, induziram ou retardaram a germinação de plântulas de arroz e feijão em teste de sanidade de sementes dessas espécies pelo método do papel de filtro.

O aspecto fundamental que faz o uso de inibidores de germinação ganhar importância na realização de testes de sanidade de sementes, é a germinação e o conseqüente crescimento da radícula durante o período de incubação, dificultando a visualização de patógenos associados às sementes bem como, em alguns casos, aumentando a probabilidade da ocorrência de contaminações externas. Neste sentido, em que pese a germinação ser uma variável importante, o comprimento da radícula ganha maior dimensão que àquela, no que se refere à exequibilidade do teste de sanidade.

Tabela 2.2 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre a percentagem de germinação de sementes de algodoeiro em teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007

Inibidor de germinação	Potencial Osmótico	
	- 0,6 Mpa	- 0,8 MPa
Germinação (%)		
Manitol	81,0aA	65,3bB*
NaCl	86,5aA	59,0bB
KCl	64,0bA	62,55bA

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

No presente trabalho, houve efeito significativo dos solutos, pelo teste F, sobre o comprimento da radícula, em relação aos tratamentos adicionais de água destilada e 2,4D. Não houve germinação quando as sementes de algodoeiro foram submetidas ao congelamento.

Entre os solutos, não houve diferença de comprimento de radícula nos potenciais osmóticos utilizados, em relação ao Manitol e ao KCl. Já em relação ao NaCl, a radícula se desenvolveu menos quando se utilizou o potencial osmótico de -0,8 (Tabela 2.3)

Machado et al. (2003) observaram redução crescente do comprimento da radícula em sementes de soja com a crescente elevação da restrição hídrica. Os mesmos resultados foram obtidos por Coutinho et al (2001) que constataram inibição crescente do crescimento da radícula em sementes de arroz e feijão, quando a restrição hídrica do substrato foi elevada, utilizando os solutos Manitol, NaCl e KCl.

Tabela 2.3 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre o comprimento da radícula em teste de sanidade de sementes de algodoeiro pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007

Inibidor de germinação	Potencial Osmótico	
	- 0,6 Mpa	- 0,8 MPa
	Comprimento da radícula (cm)	
Manitol	9,48aA	11,40aA*
NaCl	14,86bA	9,95aB
KCl	15,41bA	13,51bA

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade

O congelamento interferiu de maneira significativa na germinação das sementes de algodoeiro impedindo que esta ocorresse. Rey et al. (2005), trabalhando com inibidores de germinação de sementes de trigo e milho também verificaram que o congelamento reduziu os níveis de germinação a zero. Problemas fisiológicos associados ao congelamento de sementes, provavelmente seja um fator de desestímulo ao seu emprego como inibidor de germinação em sementes de algodoeiro. Farias et al. (2003) afirmam que o congelamento induz a morte das sementes pela ruptura das células, liberando exsudatos que são drenados no substrato de papel, podendo induzir contaminações por fungos secundários. Embora não quantificado, esse problema não foi observado no presente trabalho. Entretanto, os níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foram muito baixos comparados aos demais tratamentos, tanto a água destilada e 2,4 D, quanto aqueles onde foram empregados os solutos.

A literatura é escassa no que se refere à avaliação comparativa do congelamento com outros métodos empregados para inibir a germinação de sementes no teste de sanidade. O método é rotineiramente utilizado na detecção de fungos em sementes de gramíneas como arroz, trigo, cevada e milho (NAKAMURA; SADER, 1986; COUTINHO, et al. 2001; TEIXEIRA et al. 2002; GARCIA JÚNIOR, 2007). Barba et al. (2002) trabalhando com diferentes métodos de detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada, incluindo meios seletivos, não constataram diferenças na detecção do patógeno quando as sementes foram submetidas ao congelamento. Farias et al. (2003) também não constataram diferenças entre o congelamento e a restrição hídrica na detecção de fungos associados a sementes de milho e trigo. Por outro lado Athayde

Sobrinho et al. (2003) trabalhando com sementes de feijão caupi e diferentes inibidores de germinação, verificaram que o congelamento inibiu a expressão de *Macrophomina phaseolina*, cujos valores foram significativamente inferiores aos tratamentos com NaCl, KCl e manitol em concentrações que variaram de -0,6 MPa a -0,9 MPa.

Uma preocupação recorrente em testes de sanidade empregando a restrição hídrica é quanto à possibilidade de inibição do crescimento fúngico prejudicar a sua detecção. Entretanto, no presente trabalho, o potencial osmótico de -0,8 MPa tanto para o manitol quanto para o NaCl, mostrou-se mais eficiente em favorecer a incidência do patógeno nas sementes e, por conseguinte, a sua detecção, em relação ao potencial osmótico de -0,6 MPa (Tabela 2.4). Farias et al. (2003) verificaram que a restrição hídrica induzida em sementes de milho e trigo por NaCl, KCl e manitol não prejudicou a detecção de fungos como *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* e *Penicillium*.

Trabalhando com uma amplitude maior de potenciais osmóticos, Machado (2002) observou que a restrição hídrica induzida por NaCl em potenciais osmóticos variando entre -0,6 e -1,2 MPa não afetou a detecção de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro

Do mesmo modo Machado et al. (2004) avaliaram o efeito da restrição hídrica imposta por Manitol em potenciais osmóticos variando entre -0,4 e -1,0 MPa e constataram que o crescimento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* não foi afetado.

Tabela 2.4 - Efeito de inibidores de germinação em diferentes potenciais osmóticos sobre os níveis de detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro, em teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007

Inibidor de germinação	Potencial Osmótico	
	- 0,6 Mpa	- 0,8 MPa
	Incidência (%)	
Manitol	62,00aA	92,00aB*
NaCl	62,50aA	86,50aB
KCl	67,50aA	62,5bA

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade

No presente trabalho, o KCl, nos dois potenciais osmóticos, reduziu a incidência do patógeno nas sementes. Os percentuais de incidência do patógeno obtidos com o emprego desse soluto foram compatíveis com aqueles obtidos quando se utilizou o 2,4 D. O efeito deletério desse último sobre o crescimento fúngico foi relatado por Sobreira (1988) que observou redução na incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro a partir de 10 ppm.

Coutinho et al. (2001) constataram que a restrição hídrica proporcionada pelos solutos NaCl, KCl e Manitol e com potenciais osmóticos de -0,8 e -0,9 MPa em sementes de arroz, não interferiu no crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, *Phoma sorghina*, *Pyricularia grisea*, *Gerlachia oryzae* e *Rhizoctonia solani*. Por outro lado Rey et al. (2005) avaliaram o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em meio de cultura Mathur, sob diferentes potenciais osmóticos de NaCl e Sacarose, e concluíram que a restrição hídrica pode ser empregada como inibidor de germinação de sementes de feijoeiro, em testes de sanidade para a detecção do patógeno, sem afetar o seu desenvolvimento. No presente trabalho, o KCl reduziu a incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* enquanto os solutos manitol e NaCl, no potencial osmótico de -0,8 MPa não afetaram a sua detecção.

Farias et al. (2003) afirmam que, para ser utilizado em análises de rotina, o soluto deve ser de fácil aquisição, baixo custo e deve promover a inibição ou retardamento da germinação em potenciais osmóticos menos negativos, para diminuir a quantidade de soluto necessário ao preparo da solução. Com base nessa premissa, embora Machado (2002) afirme que manitol e NaCl, no potencial osmótico de -1,0 MPa, não interferiram no desenvolvimento e detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, os resultados do presente trabalho sugerem que o potencial osmótico de -0,8 MPa, também avaliado pelo autor, deva ser utilizado para detectar o agente causal da ramulose em sementes de algodoeiro, em análises de rotina.

2.3 Conclusões

Os solutos foram mais eficientes em reduzir a germinação das sementes de algodoeiro. Embora o congelamento tenha impedido a germinação, a incidência do patógeno nas sementes foi reduzida e, apesar de ter havido acentuada redução do

comprimento da radícula no tratamento com 2,4D, as desvantagens relacionadas ao seu manuseio, não justificam o seu emprego em testes de sanidade. O potencial osmótico de -0,8 MPa nos solutos manitol e NaCl proporcionou menor germinação e comprimento de radícula, bem como foi mais eficiente na detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. A restrição hídrica proporcionada pelo soluto KCl induziu menor germinação, porém induziu maior comprimento de radícula nos dois potenciais osmóticos testados, -0,6 e -0,8. além de reduzir a incidência do patógeno nas sementes. Com base nos resultados aqui obtidos os solutos manitol e NaCl, no potencial osmótico de -0,8 MPa, são os mais recomendados para o emprego da técnica de restrição hídrica, na detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro.

Referências

- ARAÚJO, A.E.; CHITARRA, L.G. Efeito de níveis de inóculo nas sementes sobre o progresso da ramulose do algodoeiro no Mato grosso. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, S193, 2005. Suplemento. Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27, 2005, Brasília.
- ARAÚJO, D.V. **Níveis de Inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro.** 2004. 87p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; BRUNELLI, K., MORAES, M.H.D., MENTEN, J.O.M. Efeito do congelamento e da restrição hídrica como inibidores da germinação de sementes sobre a detecção de *Macrophomina phaseolina* (Tass) Goid. Em sementes de caupi (*Vigna unguiculata* L). **Informativo Abrates**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 231, 2003. Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 13, Gramado, 2003.
- BAKER, K; SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul, v. 3. p. 311-344, 1966.
- BARBA, J.T.; REIS, E.M., FORCELINI, C.A. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 389-394, jul./ago. 2002.
- BEWLEY, J.D., BLACK, M. **Seeds: physiology, of development and germination.** 2. ed. New York: Plenum, 1994. 445p.

BRACCINI, A.L., RUIZ, H.A., BRACCINI, MC.L., REIS, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 18, n. 1, p.10-16, jan./jun, 1996.

BRASIL, **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. 1992. 365p.

BORÉM, A. Biotecnologia e sementes. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV; DFP, 2005. p. 1-34.

CAMARGO, R. de **Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L)**. 1998. 108p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIA; BORGHETTI, (Ed). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 149-162.

CELANO, F.A.O. **Desempenho de sementes de algodão durante o armazenamento, após inoculação com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pela técnica de restrição hídrica**. 2004. 83p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças do algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 3, n. 3, p. 167-193, mai./jun./jul 1977.

CIA, E.; ARAÚJO, A.E. Doenças do Algodoeiro no Cerrado de Mato Grosso. In: FUNDAÇÃO MT. **Mato Grosso: Liderança e Competitividade**. Rondonópolis: Fundação MT; Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999, 182p. (Fundação MT. Boletim. 3).

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 10 jun. 2007.

COUTINHO, W.M. **Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa*, L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade**. 2000.78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

COUTINHO, W.M., MACHADO, J.C., VIEIRA, M.G.G.C., GUIMARÃES, R.M., FERREIRA, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio agar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 127-135, jul./dez. 2001.

DAVIS, R.G. *Fusarium* species in the internal microflora of Mississippi cotton seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 5, p. 587-591, July./Sept. 1977.

DHINGRA, O.D.; ACUÑA, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 119p.

FARIAS, C.J.; DEL PONTE, E.M.; DAL MAGRO, T.; PIEROBOM, C.R. Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em teste de sanidade em substrato de papel. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n.2, p. 141-144, abr./jun. 2003.

GARCIA JÚNIOR, D.; VECHIATO, M.H.; MENTEN, J.O.M.; LIMA, M.I.P.M. Influência de *Fusarium graminearum* na germinação de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n.2, p. 157-162, abr./jun. 2007.

GOULART, A C.P. Doenças iniciais do algodoeiro-identificação e controle. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV; DFP, 2005, p. 425-449.

GOULART, A.C.P. Incidência e controle químico de fungos em sementes de soja em alguns municípios de Mato Grosso do Sul. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 25, n.6, p. 1467-1473, jun./jul. 2001.

GUIMARÃES, R.M. **Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais de estresse térmico, hídrico e salino**. 1991. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1991.

HALFON-MEIRI, A.; VOLCANI, Z. A combined method for detecting *Colletotrichum gossypii* and *Xanthomonas malvacearum* in cotton seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 5, n. 1, p. 129-139, Jan./Mar.1977.

HYDECKER, W.; HIGGINS, J. TURNER, Y.J. Invigoration of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 3, n. 3, p. 881-888, out/nov, 1975.

LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, M.P.; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através da semente do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 99-109, abr. 1985.

LEHMAN, S.G. Seed infestation with *Glomerella* and *Fusarium* in the 1936 cotton crop in North Carolina. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v. 22, n. 1, p. 4-6, jan. 1938.

LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Wargeningen v. 33, p. 343-513, 1968.

LUCCA FILHO, O.A. Testes de sanidade de sementes de milho. In: SOAVE, J. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 331-346.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 106p.

MACHADO, A.Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro**. 2002. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES, M.C. Controle da germinação de sementes de soja em testes de sanidade pelo uso da restrição hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, p. 77-81, jul./dez. 2003.

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

MAGALHÃES, F.H.L.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A.; LEDO, C.A.S. Desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de *Alternaria* após o condicionamento fisiológico com adição de thiram. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.5, p. 1007-1014, set./out. 2004.

MENTEN, J.O.M.; RUGAI, A.; ARAÚJO, A.E. LIMA, L.C.S.F.; ZUPPI, M.; MORAES, M.H.D. Utilização de sementes sadias e/ou adequadamente tratadas no manejo de doenças do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2005, Salvador. Fitopatologia: **Trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 1 CD-ROM

MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D.A. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 1, p. 126-130, Jan/Feb.. 1995.

NAKAMURA, A.M.; SADER, R. Efeito da infecção por fungos na germinação e vigor de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 8, n. 1, p.101-111, jan./jun.1986.

NASCIMENTO, W.M.; CRUZ, E.D.;MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull (Leguminosae, Cesalpinoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 149-153, jan./jun. 2003.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. London: Macmillan Press, 1979. v. 1. 839p.

PIZZINATTO, MA. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. p. 331-346.

REGO, A.M. Análise sanitária na produção de sementes de hortaliças. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV; DFP, 2005, p. 267-294.

REY, M.S.; LIMA, N.B.; SANTOS, J.; FARIAS, C.R.J.; PIEROBOM, C.R. Crescimento micelial de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* sob diferentes potenciais hídricos. **Revista Brasileira de Agrobiologia**, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 309-313, jul-set, 2005.

RONCADORI, R.W.; MCCARTER, S.M.; CRAWFORD, J.L. Influence of fungi on cotton seed deterioration prior to harvest. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, n. 10, p. 1326-1328, Oct. 1971.

RUANO, O. Comparação de métodos para detecção de fungos associados à sementes de algodoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE ALGODÃO, I, 1980, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 1980, p. 120. Resumo.

SANTOS, G.R. **Progresso da ramulose do algodoeiro e transmissão de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa pelas sementes.** 1993. 53p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1993.

SANTOS, G.R., ZAMBOLIN, L.; VALE, F.X.R.; MAFIA, L.A.; VIEIRA, J.M. Progresso e gradiente da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 390-393, set.1994.

SAS Institute. **SAS/STAT Software**. Cary Nc: SAS Institute, 2003. Licensed to Centro de Computação Eletrônica da USP.

SOBREIRA, D.G. **Qualidade fisiológica e detecção de fungos em algumas amostras de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L) produzidas no estado de Minas Gerais, safra 1985/86.** 1988. 70p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1988.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M. Comparação de métodos de inoculação de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 219-226, jul./dez. 1991.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, K.O.M. MACHADO, J.C. Hábito de crescimento de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro **Bragantia**. Campinas, v. 55, n. 1, p. 95-104, 1996.

TEIXEIRA, H.; ARIAS, S.M.S.; CHITARRA, L.G.; MACHADO, J.C. Eficiência comparativa de lâmpadas fluoescntes na detecção e quantificação de fungos em sementes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.2, p. 259-268, mar./abr. 2002.

WATKINS, G.M. **Compendium of cotton diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1981. 87p.

3 EFEITO DE NÍVEIS DE INCIDÊNCIA DE *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa NA SEMENTE E DO CONTROLE QUÍMICO DA PARTE AÉREA SOBRE O PROGRESSO DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO.

Resumo

A ramulose, causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, constitui-se em uma das mais importantes doenças do algodoeiro no Brasil. O agente causal é transmitido pela semente e a doença tem nela sua principal fonte de inóculo inicial. Neste sentido, o estabelecimento de padrões de sanidade do patógeno nas sementes torna-se imperativo. Para tanto, o conhecimento sobre a transmissão semente-plântula no campo e o progresso da doença em função dos níveis de incidência nas sementes, bem como a estratégia de controle visando reduzir a intensidade da doença, é fundamental. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de níveis de incidência do patógeno nas sementes e do controle químico da parte aérea, sobre o progresso da ramulose no campo. Instalaram-se dois experimentos, sendo um no ano agrícola de 2005/2006 e outro em 2006/2007 em Santa Helena de Goiás-GO. Os experimentos foram em blocos casualizados com três repetições e parcelas de seis linhas de cinco metros. Os tratamentos foram de 0%, 2%, 4%, 6%, e 8% de incidência nas sementes, não pulverizados, com uma e duas pulverizações para controle da doença na parte aérea. Os valores das áreas abaixo das curvas de progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS) da doença foram maiores quando os níveis de incidência nas sementes também o foram. Não houve efeito significativo do controle químico sobre a intensidade da doença no ano de 2006, porém esse efeito foi significativo em 2007, com a quantidade de doença sendo reduzida em ordem crescente do número de pulverizações. O controle químico não foi eficiente quando o nível de incidência nas sementes foi zero e 2%. Não foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre o rendimento de algodão em caroço; porém no ano de 2006, esse rendimento foi menor que em 2007, em função da maior intensidade da doença verificada naquele ano.

Palavras-chave: Fungo; Doença; Transmissão; Pulverização; Padrão de sanidade

EFFECT OF INCIDENCE LEVELS OF *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa IN THE SEEDS AND THE CHEMICAL CONTROL OF THE CANOPY ON THE PROGRESS OF RAMULOSIS OF COTTON

Abstract

The ramulosis caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* is one of the most important disease of cotton in Brazil. The pathogen is transmitted by seeds and it is the main inoculum source. Therefore to determine the health patterns in the seeds is very important. In order to this objective it is necessary to know the rate transmission of the pathogen to the seedlings in the field conditions, and the progress of disease under

different levels of incidence in the seeds. And besides it is no less important to define a control strategy to reduce the disease intensity. The purpose of this research was evaluate the effect of different levels of incidence of the pathogen in the cotton seeds and the chemical control of foliage on the progress of ramulosis in the field. The experiments was carried out in Santa Helena of Goiás city in the seasons of 2006 and 2007 in randomized blocks with three repetitions, the plots had five linear meters and six planted lines. The treatments were 0, 2, 4, 6 and 8 percent of incidence in the seeds and not sprayed, one spray and two sprays to control of disease in the canopy. The areas under incidence progress curve (AUIPC) and severity (AUSPC) were higher when the incidence in the seeds was increased. There was not significant effect of chemical control on the disease intensity in 2006 season, but there was significant effect of sprays in the 2007 when the disease intensity was reduced with the increase in the number of sprays. The chemical control was not efficient when the level of incidence in the seeds was zero and 2%. There was not significant effect of the treatments under cottonseed yield, therefore in the 2006 season the cottonseed yield was less than in 2007, because the higher intensity of disease in that season.

Keywords: Fungus; Disease; Transmission; Spray; Health pattern

3.1 Introdução

A semente se constitui em um dos mais importantes veículos de disseminação de inoculo de fitopatógenos a longas distâncias. Sendo o principal meio de propagação da maioria das espécies cultivadas, torna-se responsável pela introdução de agentes causais de inúmeras doenças em áreas onde eles ainda não ocorreram.

A ramulose, causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, destaca-se como uma das mais importantes doenças do algodoeiro no Brasil. Um aspecto que a torna particularmente importante é o fato de seu agente causal ser transportado e transmitido pelas sementes. Nos últimos anos a doença tem avançado para novas áreas produtoras e o controle químico da parte aérea tem sido iniciado mais cedo. Isso reflete o aumento na quantidade de inoculo nessas regiões induzido pela prática do cultivo continuado do algodoeiro em uma mesma área. Por outro lado, o uso de sementes infectadas pelo patógeno, além de contribuir para o aumento do nível de inoculo inicial, tem sido, também, responsável pela introdução da doença em áreas indenens.

A produção de sementes de um modo geral, e especificamente no caso do algodoeiro, envolve um conjunto de práticas que determinam o seu padrão de qualidade. Esse conjunto de práticas é constituído de fatores diversos que, muitas

vezes, fogem à ação do homem. Entre estes destacam-se os relacionados às condições do ambiente tais como pluviosidade, umidade relativa e temperatura. (LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998)

Algumas práticas devem ser consideradas visando obter sementes com boa qualidade sanitária, sobretudo no que se refere à incidência da ramulose. Entre estas se podem destacar: a localização dos campos de produção em áreas não cultivadas com o algodoeiro, ou que sejam mantidas em sistema de rotação com espécies não hospedeiras do agente causal da doença; evitar o plantio em regiões cujas condições climáticas favoreçam a incidência da doença tais como alta pluviosidade, temperaturas amenas e alta umidade relativa, e realizar inspeções nos campos de produção de sementes visando eliminar as plantas com sintomas de ramulose (LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998).

Um dos problemas com os quais se depara o produtor de sementes é o fato de que as regiões produtoras de algodão no Brasil, em sua maioria, apresentam condições de ambiente favoráveis ao desenvolvimento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Neste sentido, os cuidados com os campos de produção de sementes são redobrados, o número de pulverizações visando proteger a lavoura do patógeno é maior e, muitas vezes, tratando-se de cultivares com maior suscetibilidade, os campos podem ser condenados.

Tendo em vista o fato de que a severidade da doença no campo nem sempre apresenta correlação com a percentagem de sementes infectadas pelo patógeno e que mesmo plantas pouco afetadas podem apresentar grande número de sementes infectadas (LIMA et al., 1985) muitas vezes, mesmo a partir de campos onde foi detectada baixa incidência da doença, constata-se sementes com níveis elevados de infecção pelo agente causal da ramulose.

Para evitar que sejam descartadas grandes quantidades de sementes e visando atender aos padrões de sanidade estabelecidos pela legislação, os produtores utilizam o tratamento químico das sementes como alternativa para controle de patógenos a elas associados incluindo o *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e patógenos veiculados pelo solo (GOULART, 2005).

A possibilidade do uso de sementes com algum nível de infecção pelo agente causal da ramulose ou a ocorrência de falhas no tratamento químico em função de fatores diversos, incluindo aqueles relacionados ao ambiente, representa um risco permanente à introdução de inóculo em novas áreas ou ao seu aumento em áreas já cultivadas com o algodoeiro, o que implicaria em epidemias precoces de ramulose, que exigiriam o controle químico na parte aérea.

Assim sendo é importante que se conheça como a doença progride a partir de diferentes níveis de inóculo proveniente das sementes e se o seu progresso poderia ser alterado a partir do controle químico da parte aérea.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o progresso da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de inóculo de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Revisão bibliográfica

Em função da transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* semente-plântula ser elevada, atingindo níveis entre 60 e 70% (TANAKA, 1990; MACHADO et al., 2003) é de se esperar que níveis crescentes de incidência nas sementes possam induzir maior número de focos de ramulose no campo e maior intensidade de doença.

Machado et al. (2003) estudaram o efeito de níveis de inóculo nas sementes em relação à incidência da ramulose no estado de Mato Grosso. Os autores constataram que a partir de 1% de sementes infectadas ocorria 3,37% de plantas com sintomas de ramulose por hectare. Tendo trabalhado com níveis de infecção nos lotes de sementes variando de 1 a 5%, os autores observaram, ainda, um incremento nos níveis de incidência da doença com o aumento dos níveis de incidência nas sementes. Com 5% de sementes infectadas, o nível de incidência aos 28 dias após a semeadura atingiu 13,3%, perfazendo um total de 14.763 plantas/ha.

O efeito de níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes sobre o progresso da ramulose do algodoeiro foi estudado por Araújo (2004) em Minas Gerais. Com níveis de incidência nas sementes variando entre 0 e 16% os

autores verificaram que a intensidade da doença foi diretamente proporcional ao nível de incidência do patógeno nas sementes.

Araújo e Chitarra (2005) observaram aumento na severidade da ramulose com o aumento nos níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes no estado de Mato Grosso. A partir de 1% de incidência do patógeno, houve aumento considerável na severidade da doença.

Com base nestes trabalhos, observa-se que a ramulose pode sofrer grande influência do aumento do nível de inóculo inicial a partir de sementes infectadas e, portanto, o padrão de tolerância do patógeno nas sementes deveria ser baixo. De acordo com Machado (1994), padrão de tolerância de um patógeno em sementes de uma determinada espécie cultivada, é o nível de ocorrência do patógeno em um dado lote de sementes abaixo do qual, danos econômicos, a curto, médio e longo prazos, são considerados aceitáveis.

O padrão de tolerância guarda estreita vinculação com a taxa de transmissão. Esta última corresponde à relação entre o nível de ocorrência do patógeno na semente determinado pelo teste de sanidade e a doença no campo (MACHADO, 1994; TALAMINI et al., 2001). Porém a infecção da semente não assegura a transmissão do patógeno para a planta. A expressão da doença numa área cultivada depende de um conjunto de fatores de natureza infecciosa e não infecciosa que podem exercer influência direta ou indireta na taxa de transmissão (NEERGAARD, 1979; PIZZINATTO et al., 1988; TANAKA, 1990; MACHADO, 1994; GOULART, 2005).

De acordo com Mc Gee (1995), fatores fisiológicos e do ambiente desempenham um papel importante na transmissão de patógenos através das sementes. O autor cita o exemplo de *Peronosclerospora sorghi*, agente causal do míldio do sorgo e do milho que pode ser transmitido imediatamente após as sementes serem colhidas, mas não quando as sementes estão secas, assim como o tombamento de plântulas de repolho causado por *Alternaria brassicicola* que não ocorre sob temperaturas abaixo de 15^oC quando se emprega lotes de sementes altamente infectados.

Sabe-se que a incidência de *C.gossypii* var.*cephalosporioides* nas sementes é maior quando a inoculação ocorre em plantas com maçãs já formadas (LIMA et al., 1985; TANAKA, 1990; SANTOS; ZAMBOLIN; BATISTA, 1993). Neste sentido pode

ocorrer um fenômeno relacionado diretamente ao hospedeiro que NEERGAARD (1979) denominou de suscetibilidade e resistência relacionada à ontogênese do hospedeiro. Por outro lado, nem sempre existe uma correlação entre severidade da doença no campo e incidência do patógeno nas sementes. Mesmo quando ocorre alta severidade da doença nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, o percentual de sementes infectadas é baixo. Muitas vezes quando há baixos índices de incidência e severidade no período em que as maçãs estão formadas, mesmo assim pode ocorrer níveis elevados de infecção nas sementes (LIMA et al., 1985; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO,1991).

De acordo com Tanaka e Menten (1992), a transmissão de *C. gossypii* var *cephalosporioides* da semente para a plântula varia de acordo com o genótipo podendo atingir 73% em genótipos mais suscetíveis. Esse valor é bastante elevado e significa que mais de dois terços das sementes infectadas pelo patógeno podem induzir sintomas da doença no campo representando, assim, uma importante fonte de inóculo inicial. Trabalhando sob condições de campo Pizzinato, Cia e Fuzzato (1991) constataram níveis de transmissão semente-plântula variando entre 21 e 64%, sendo observada a maior taxa de transmissão no genótipo mais suscetível.

Além da semente como inóculo inicial, o agente causal da ramulose tem sua sobrevivência em restos de cultura como um dos fatores que podem ser determinantes na ocorrência de epidemias da doença (ARAÚJO et al., 2003).

Segundo Machado (1994), do ponto de vista da patologia de sementes, os patógenos podem ser agrupados em diferentes categorias dependendo de seu modelo epidemiológico. Assim como existem patógenos que dependem exclusiva ou quase exclusivamente das sementes para serem disseminados, também existem aqueles que se estabelecem e se desenvolvem preferencialmente no solo ou em restos de cultura. Porém também existem aqueles que se reproduzem intensamente e têm altas taxas de dispersão a partir de baixos níveis de inóculo nas sementes.

A abordagem da associação de patógenos com a semente transcende à própria semente, que não deve ser vista apenas como vítima do ataque, mas, também, no papel que representa do ponto de vista epidemiológico (MACHADO, 2000)

Maffia et al. (1988) simularam o número de focos iniciais de infecção de *C. lindemuthianum* em feijoeiro partindo do pressuposto de que a plântula infectada não morre. Os autores consideraram uma área plantada no espaçamento de 0,3 x 0,1 o que daria 330.000 plantas/ha. Se o patógeno fosse transmitido pelas sementes a uma taxa de 1%, poderiam ocorrer 3.300 focos iniciais de antracnose por hectare.

O inóculo inicial para o progresso da ramulose do algodoeiro reveste-se de importância maior em função de que a doença ocorre no campo com maior intensidade em plantas próximas a uma fonte de inóculo. Santos et al. (1994) avaliaram o gradiente da ramulose e constataram que as primeiras plantas com sintoma da doença surgiram aos 32 dias a partir de uma fonte de inóculo inicial e que a maior incidência ocorreu em áreas mais próximas a esta fonte, decrescendo na medida em que as plantas ficavam mais distantes.

Estudos conduzidos por Araújo (2004) constataram um padrão agregado para o progresso da ramulose do algodoeiro. Alves et al. (2006) avaliando o padrão espacial da ramulose por meio de métodos geoestatísticos, também observaram um padrão agregado para o progresso da doença com alcance máximo de 6,82 m, 80 dias após a semeadura. Desta forma, fontes de inóculo oriundas de sementes infectadas tornam-se cada vez mais importantes para o estabelecimento da doença no campo em proporções epidêmicas.

De acordo com Talamini et al. (2001), uma importante característica de espécies do gênero *Colletotrichum* associadas às sementes é a sua habilidade de serem transmitidas para a parte aérea da plântula, onde ocorrem esporulação e lesões características. Sendo assim, quanto maiores forem as fontes de inóculo presentes no campo em um dado momento, maior a probabilidade de a doença ocorrer em maior intensidade. A distribuição ao acaso de sementes infectadas em diferentes pontos da área de plantio, tende a contribuir para ocorrência generalizada da doença de forma precoce.

No caso de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, a disseminação do inóculo a partir de um foco inicial ocorre através de respingos de chuva que são, normalmente, responsáveis pelo transporte de propágulos a curta distância a partir da dissolução da massa gelatinosa dos acérvulos, enquanto para distâncias maiores a disseminação é

proporcionada pela ação do vento a partir dos conídios localizados no ápice das setas(TANAKA; MENTEN; MACHADO, 1996).

Para que a doença se estabeleça é fundamental que as condições de ambiente sejam favoráveis. Santos et al. (1994) verificaram que o maior progresso da ramulose foi alcançado quando a umidade relativa e a temperatura mínima atingiram valores máximos de 90,2% e 18,3^oC respectivamente. Araújo e Farias (2003), avaliando o progresso da ramulose no estado de Mato Grosso, constataram maior severidade da doença com umidade relativa acima de 90% e temperaturas variando entre 18 e 20^oC.

A produção de sementes de algodoeiro isentas de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* representa um desafio para produtores de sementes do cerrado brasileiro. Entre as práticas culturais mais importantes para a condução de um campo de produção de sementes de algodoeiro está o monitoramento minucioso da ocorrência de doenças cujos patógenos podem ser transmitidos pela semente (BRUNETTA; BRUNETTA; FREIRE, 2007). Em função das condições de ambiente favoráveis à ramulose que predominam no cerrado, não raro faz-se necessária a aplicação de fungicidas na parte aérea visando evitar que a doença, uma vez ocorrendo, permaneça restrita aos focos iniciais, que serão eliminados através da prática do “roqing.”.

Apesar dos cuidados dispensados à condução da lavoura, sementes infectadas pelo patógeno ainda são detectadas com variados níveis de incidência. Para esses casos, visando controlar o patógeno na semente, atender às exigências da legislação vigente e evitar a ação de patógenos causadores de tombamento, é prática indispensável o tratamento das sementes com fungicidas. Em geral, o tratamento é eficiente no controle dos patógenos, porém a ocorrência de ramulose em novas áreas levanta a suspeita de que a introdução deu-se por meio de sementes infectadas.

O controle químico da ramulose por meio da aplicação de fungicidas na parte aérea constitui-se prática comum no cerrado brasileiro. Entretanto, nos últimos anos, o número de aplicações aumentou, provavelmente em virtude da prática de cultivo de algodão em sistema contínuo, sem rotação de culturas.

Machado, Andrade e Cassetari Neto (1999) relatam aumento de 19,2% no rendimento da cultura com quatro aplicações de carbendazin na dose de 1,0 L do produto comercial por hectare. Entretanto, Siqueri (2001) avaliou as misturas de trifenil

acetato de estanho+tiofanato metílico nas dose de 0,5 + 0,5 L do produto comercial/ha e carbendazim+trifenil hridóxido de estanho nas doses de 1,0 + 0,5 L do produto comercial por hectare e constatou que duas aplicações, em intervalo de 30 dias, controlaram satisfatoriamente a doença e melhoraram o rendimento da cultura.

Diversos fungicidas vêm sendo avaliados para o controle da ramulose (SIQUERI e ARAÚJO, 2001; IAMAMOTO; GOES; FUJINO, 2003; MACHADO et al., 2007). Apesar disso poucos são os fungicidas registrados para a cultura (SUASSUNA e COUTINHO, 2006). A maioria dos estudos tem buscado equacionar um controle satisfatório com o menor número de aplicações possível. No entanto, para que se alcance tal objetivo, as praticas de manejo da cultura, incluindo o uso de sementes isentas de patógenos, é essencial.

A utilização de sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pode ser responsável pela incidência precoce da doença, obrigando o produtor a iniciar as aplicações de fungicidas na parte aérea, mais cedo, podendo ter como consequência um aumento no número de pulverizações.

3.2.2 Material e métodos

3.2.2.1 Obtenção do inóculo

O inóculo utilizado para a infecção das sementes de algodoeiro foi obtido a partir do isolado 242 de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, coletado no estado de Goiás e pertencente à micoteca da Embrapa Algodão, Campina Grande-PB. O isolado foi repicado para placas de Petri com meio de cultura BDA onde se manteve em crescimento até dez dias.

3.2.2.2 Inoculação das sementes

Sementes de algodoeiro da cultivar BRS Ipê, deslintadas com ácido sulfúrico, foram submetidas à assepsia com hipoclorito de sódio a 2% por um minuto e postas a secar à sombra por 24 horas. A seguir foram submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro umedecido com água destilada (NEERGAARD, 1979) e ao teste de germinação conforme as regras para análises de sementes (BRASIL, 1992). A inoculação foi feita utilizando-se a metodologia descrita por Tanaka e Menten (1991). As

sementes foram colocadas em contato com micélio e conídios do patógeno crescido em meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), em placas de Petri de 9 cm de diâmetro em um total de 50 sementes por placa. Em seguida as placas foram agitadas de modo que as estruturas fúngicas pudessem estabelecer contato, tanto quanto possível, com o máximo de superfície das sementes. Posteriormente as placas foram deixadas em repouso sob condições de temperatura ambiente do laboratório por um período de 24 horas. Decorrido esse período realizou-se um novo teste de sanidade pelo método já descrito, visando assegurar que a infecção das sementes tivesse ocorrido.

Em seguida, as sementes inoculadas foram adicionadas a sub-amostras do lote original de modo que se obtivessem percentuais de infecção nas sub-amostras de 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0%.

3.2.2.3 Tratamento das sementes

Visando evitar o tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani* por ocasião da semeadura no campo, as sementes inoculadas foram submetidas ao tratamento com o fungicida pencycuron, na dose de 300g i.a./100kg. As sementes foram colocadas em um saco plástico apropriado para acondicionamento de alimentos congelados e o fungicida foi colocado em seu interior. Uma vez lacrado, o saco foi agitado durante um minuto de modo a favorecer a cobertura das sementes pelo produto.

3.2.2.4 Área experimental, delineamento, plantio e manejo do experimento

O experimento foi instalado no Campo Experimental da Fundação Goiás/Embrapa, no município de Santa Helena de Goiás, em altitude de 562 m, 17° 48' 49" de latitude Sul e 50° 35' 49" de longitude Oeste. O solo era do tipo Latossolo Amarelo e foi adubado por ocasião da semeadura com 400 kg/ha de 4-30-16 + 0,5% Zn + 0,4% B; em cobertura foi aplicado 400 kg/ha de 20-0-30 + 0,2% de B, dividido em duas vezes nos estádios B1/B2 e depois em F1/F2.

No local do experimento foi instalado um Datalogger portátil, Extech Instruments, modelo 42275 protegido por um abrigo meteorológico e um pluviômetro, visando monitorar a temperatura, umidade relativa e pluviosidade.

O delineamento foi em blocos ao acaso com 15 tratamentos e três repetições, sendo cada parcela constituída de seis linhas de cinco metros, considerando-se como área útil do experimento as quatro linhas centrais. Os tratamentos foram: 0%, 2%, 4%, 6% e 8% de incidência nas sementes, sem pulverização, com uma pulverização e duas pulverizações da parte aérea durante o ciclo.

Sementes da cultivar BRS Ipê, tratadas com o inseticida imidacloprid (270g i.a./100 kg) e os fungicidas tolylfluanida (75 g i.a./100 kg) + pencycuron (75 g i.a./100 kg) foram distribuídas mecanicamente por meio de uma semeadeira modelo John Deere 9211 Vacuumeter acionada por um trator modelo John Deere 6505

.Após a operação, sementes sadias foram retiradas manualmente, ao acaso, e colocadas em seu lugar sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, de modo a se distribuir nas parcelas os diferentes tratamentos. Em cada local onde foi deixada uma semente infectada, foi colocado um estilete de aço pintado na cor amarela, visando evitar que a plântula proveniente de semente infectada fosse removida por ocasião do desbaste. Este foi realizado, decorridos 30 dias após a semeadura visando uniformizar o estande, deixando-o com oito plantas por metro linear. O espaçamento foi de 0,9 m entre linhas sendo distribuídas 10 sementes por metro linear. Visando evitar a entrada de inóculo proveniente de outras áreas, 30 dias antes da instalação do experimento foram semeadas quatro linhas de sorgo (*Sorghum bicolor* L) em volta da área. As parcelas foram distanciadas entre si por dois metros entre tratamentos e blocos. O manejo dispensado ao experimento foi realizado conforme as exigências da cultura.

Após o surgimento dos primeiro sintomas de ramulose nas plantas e identificado o seu progresso, foi feita a primeira aplicação de fungicida nos tratamentos onde estava previsto o controle da doença na parte aérea. O fungicida utilizado na primeira aplicação foi o carbendazin na dose de 0,375 L i.a./ha. Uma Segunda aplicação foi realizada com a mistura de fungicidas trifloxystrobina+propiconazol (125+125g/L) na

dose de 0,75 g i.a/ha quando foi detectado aumento na incidência da doença nos tratamentos já pulverizados.

3.2.2.5 Avaliação da intensidade da doença e análise estatística

As avaliações da intensidade da ramulose foram feitas a intervalos que variaram entre 15 e 30 dias até os 161 dias, por meio da incidência, obtida pela contagem do número de plantas com sintomas da doença nas parcelas, transformado em percentagem e pela severidade. Esta última foi avaliada empregando-se a chave descritiva proposta por Araújo et al. (2003) onde: 1=planta sem sintomas; 2=planta apresentando lesões necróticas nas folhas mais jovens; 3=plantas apresentando lesões necróticas nas folhas, encurtamento de internódios e início de superbrotamento; 4=planta apresentando lesões necróticas nas folhas, encurtamento de internódios, superbrotamento e redução de porte; 5=planta apresentando manchas necróticas nas folhas, encurtamento de internódios intenso superbrotamento com redução de porte. Os dados foram transformados em índice de severidade obtido empregando-se a metodologia proposta por Kzermainski (1999). A partir dos dados foram elaboradas as curvas de progresso da doença em todos os tratamentos e calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para os valores de incidência e severidade com base em método descrito por Campbell e Maden (1990) onde:

$n-1$

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

$i=1$

Em que:

Y = intensidade da doença no tempo i e $i+1$; t =tempo: n =número de avaliações

Visando identificar possível interação entre os níveis de incidência nas sementes e o número de pulverizações, foi feita análise de variância da AACPD para incidência (AACPI) e severidade (AACPS) e produção de algodão em caroço. Para atender os pressupostos da análise de variância, os dados da AACPI nos anos de 2006 e 2007 e

da AACPS de 2007 foram transformados para $\log x$, enquanto os dados da AACPS do ano de 2006 foram transformados para \sqrt{x} .

Uma análise de regressão foi feita visando identificar a relação entre as variáveis estudadas e os níveis de incidência do patógeno nas sementes.

As análises foram feitas empregando-se o software SAS[®] (Statistical Analysis System -SAS Institute, 2003).

3.2.3 Resultados e discussão

A inoculação das sementes pelo método descrito por Tanaka e Menten (1991) garantiu 87% de sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. De acordo com o teste de germinação, as sementes levadas ao campo apresentavam 83% de germinação, com plântulas consideradas normais.

A área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da ramulose, no ano de 2006, diferiu significativamente entre os níveis de incidência na semente a 1% de probabilidade pelo teste F. O tratamento químico da parte aérea do algodoeiro com fungicidas não exerceu efeito significativo, pelo teste F, sobre a AACPI e AACPS em função dos diferentes níveis de incidência nas sementes. Não houve interação entre níveis de incidência nas sementes e a pulverização da parte aérea em relação aos valores da AACPI e AACPS

No ano de 2007 os valores da AACPI obtidos dos tratamentos com diferentes níveis de inoculo na semente, diferiram significativamente, a 1% de probabilidade pelo teste F. No mesmo sentido, houve efeito significativo do tratamento químico da parte aérea sobre os valores da AACPI e efeito da interação entre níveis de incidência e pulverização, a 1% de probabilidade pelo teste F.

Os valores de AACPS em 2007, também foram diferentes entre si para os vários níveis de incidência nas sementes, assim como houve efeito significativo do controle químico da parte aérea sobre o progresso da doença e da interação entre níveis de incidência x pulverização, a 1% de probabilidade pelo teste F.

Não foi observado efeito dos tratamentos sobre o rendimento de algodão em caroço nos dois anos avaliados.

Por meio da análise de regressão foi possível observar que os valores da AACPI e AACPS, no ano de 2006, foram maiores com o aumento do nível de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes, independentemente do número de pulverizações (Figuras 3.1 e 3.2).

Embora não tenha avaliado o efeito do controle químico, os resultados do presente trabalho concordam com aqueles obtidos por Araújo (2004) que, trabalhando com o mesmo patossistema e com níveis de incidência do patógeno nas sementes variando entre zero e 16%, verificou que os valores de AACPI e AACPS foram maiores quanto maior foi a percentagem de sementes inoculadas com o patógeno.

Araújo e Chitarra (2005), avaliando o progresso da ramulose em relação a diferentes níveis de incidência nas sementes de algodoeiro, em Mato Grosso, também observaram aumento no progresso da doença com o aumento no nível de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes.

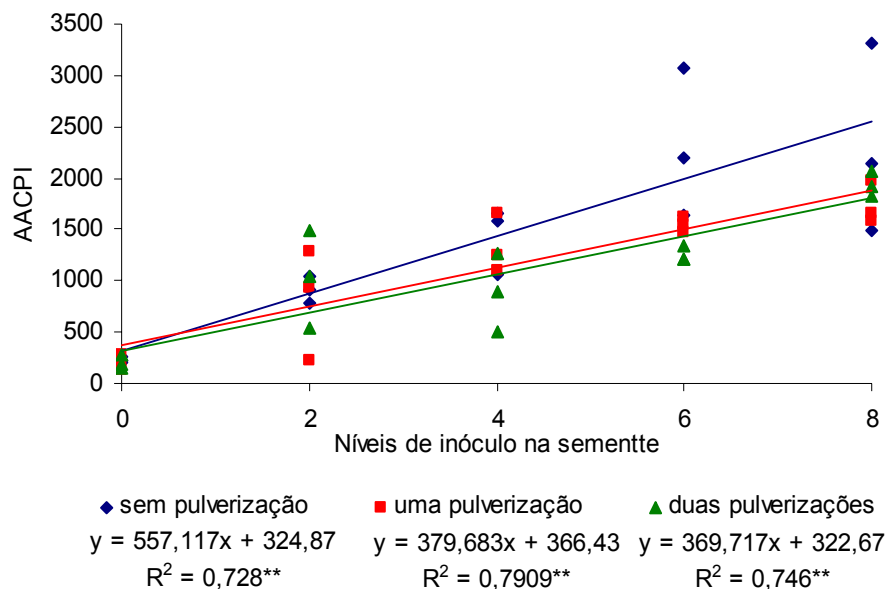


Figura 3.1 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006

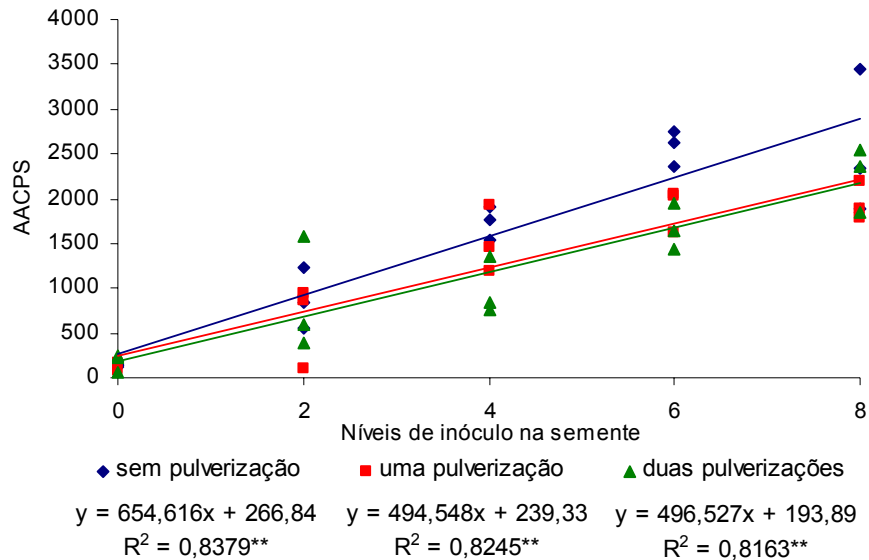


Figura 3.2 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006

Machado e Cassetari Neto (2003), trabalhando também no Mato Grosso, verificaram que a porcentagem de plântulas de algodoeiro com sintomas iniciais de ramulose, aos 28 dias após a semeadura, foi proporcional ao aumento da porcentagem de infecção das sementes pelo patógeno.

É importante ressaltar que a intensidade da ramulose, medida pela incidência e severidade e expressa pela AACPI e AACPS, diferiu muito entre os anos avaliados. No ano de 2006 a doença expressou-se de forma mais intensa, alcançando níveis acima de 70% para a incidência e próximos de 60% para a severidade no tratamento onde havia 8% de incidência nas sementes e não foi feita aplicação de fungicidas na parte aérea, o que pode ser observado nas curvas de progresso da incidência e severidade (Figuras 3.3 e 3.4). Houve uma tendência de estabilização dos valores de incidência e severidade a partir de fevereiro de 2006, quando foi feita a primeira aplicação de fungicidas, até meados de abril, quando houve incremento na intensidade da doença. Uma segunda aplicação, realizada no início de abril, não resultou no efeito desejado, provavelmente em virtude da grande quantidade de inóculo na área, devido aos elevados níveis de incidência e severidade da doença e às condições de ambiente favoráveis (Figura 3.5). Assim sendo, o controle químico, sob elevada pressão de

inóculo e condições de ambiente favoráveis à doença, não se mostrou eficaz em reduzir a incidência da ramulose, mesmo nos tratamentos com menor nível de inóculo inicial.

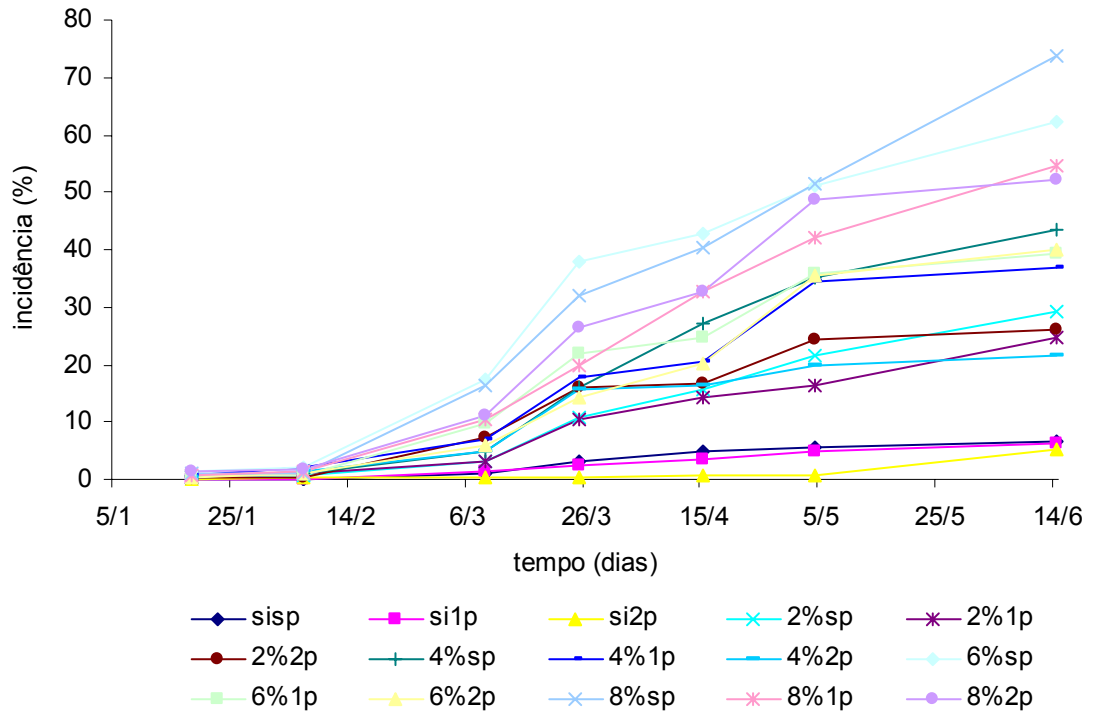


Figura 3.3 - Curvas de progresso da incidência da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006. (s=sem; i=inóculo; p=pulverização)

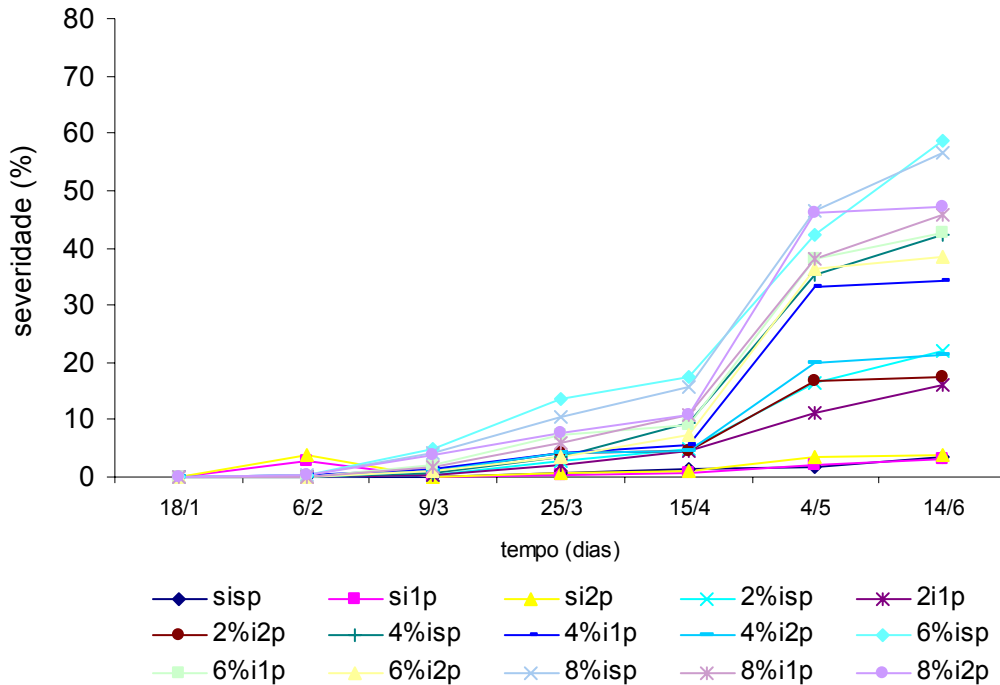


Figura 3.4 - Curvas de progresso da severidade da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2006. (s=sem; i=inóculo; p=pulverização)

Silveira (1965) afirma que, sob condições climáticas favoráveis, consideradas serem temperaturas entre 25 e 30°C e altas precipitações pluviais, as perdas ocasionadas ao algodoeiro podem alcançar 85%.

Santos et al. (1994), estudando o progresso da ramulose do algodoeiro em Minas Gerais, observaram maior aumento da doença quando a temperatura mínima e a umidade relativa do ar atingiram valores máximos de 18,3°C e 90,2%. No mesmo sentido, Araújo e Farias (2003), verificaram que as condições mais favoráveis para o progresso da ramulose do algodoeiro no Mato Grosso foram temperaturas entre 18 e 20°C e umidade relativa acima de 90%, quando a severidade da doença foi máxima.

Assim sendo, os resultados obtidos no presente trabalho concordam com estes autores quanto às condições favoráveis para o progresso da ramulose em Santa Helena de Goiás, no ano de 2006.

Elevadas taxas de transmissão semente-plântula, variando de oito até 70%, já foram identificadas em *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (LIMA et al., 1985; TANAKA, 1990; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO, 1991; SANTOS; ZAMBOLIN; BATISTA, 1993).

Esse fato pode induzir maior crescimento dos níveis de incidência em função da grande quantidade de focos iniciais da doença no campo. Maffia et al. (1988) afirmam que, uma plântula infectada com *C. lindemuthianum* numa lavoura com 330.00 plantas/ha, considerando-se apenas 1% de transmissão do patógeno pelas sementes, pode induzir o surgimento de 3.300 plantas/ha com antracnose, enquanto Bianchini, Maringoni e Carneiro (1997) asseguram que, em regiões favoráveis ao progresso da doença, as perdas podem alcançar 100%, quando se utilizam sementes infectadas.

Trabalhando também com o patossistema *C. lindemuthianum* x feijoeiro, em Lavras-MG, em diferentes épocas de cultivo, Sales et al. (1999) constataram alta taxa de progresso da antracnose no espaço e no tempo, no período compreendido entre abril e julho de 1998, a partir de lotes de sementes com 0,5% de infecção, em virtude das condições de ambiente mais favoráveis nessa época do ano.

Um dos fatores que podem influenciar decisivamente na maior intensidade da ramulose do algodoeiro é a precipitação pluvial. Embora quantitativamente a precipitação pluvial do ano de 2007 tenha sido mais elevada que em 2006, no mês de janeiro o volume de chuvas foi quase a metade do valor desta variável climática, em 2007, sofrendo redução nos meses subsequentes ocorrendo, inclusive, alguns veranicos no período. Em 2006 as chuvas foram melhor distribuídas ao longo da estação de cultivo e apresentaram tendência de elevação no período (Figura 5).

Pizzinatto, Cia e Fuzzato (1991), avaliando a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes no estado de São Paulo, atribuem a presença de plantas com sintomas de ramulose provenientes de sementes isentas do patógeno, à disseminação de inóculo por respingos de chuva,. De acordo com os autores, elevados índices pluviais favoreceram o desenvolvimento da doença. Segundo Talamini et al. (2001), a precipitação torna o ambiente favorável ao progresso da ramulose do algodoeiro, mesmo com baixa transmissão do agente causal através das sementes. Os autores ainda afirmam que a disseminação de inóculo promovida pela chuva, nesse caso a partir de focos iniciais no campo de cultivo, torna sério o problema do emprego de sementes de algodoeiro infectadas.

Altos índices de severidade da doença podem ser alcançados, também, por longos períodos de molhamento foliar. Monteiro, Sentelhas e Chiavegatto (2007)

estudando o efeito do binômio temperatura x molhamento foliar sobre a intensidade da ramulose, observaram que a severidade da doença aumentou com o aumento da duração do período de molhamento, sendo máxima com 34 horas. No presente trabalho, aparentemente, não houve diferença expressiva entre o número de horas com molhamento foliar entre os anos de 2006 e 2007 (Figura 5). Entretanto, apesar dessa variável assegurar o processo de infecção, faz-se necessário que ocorra disseminação de inóculo que, no caso de espécies de *Colletotrichum*, como a aqui estudada, tem nos respingos de chuva uma das formas mais eficientes.

No ano de 2007, os valores da AACPI e AACPS também diferiram significativamente entre os tratamentos com diferentes níveis de incidência do patógeno nas sementes. Porém, neste caso, o efeito do controle químico da parte aérea sobre os tratamentos, bem como o efeito da interação entre níveis de incidência nas sementes e número de pulverizações para controle da doença foram significativos pelo teste F a 1% de probabilidade. Ou seja, o efeito do controle químico da parte aérea foi dependente do nível de incidência nas sementes. O desdobramento desta interação permitiu observar que a aplicação de fungicidas na parte aérea foi eficiente na redução dos valores de AACPI e AACPS nos níveis de incidência nas sementes mais elevados, 4%, 6% e 8%, com valores do teste F significativos, enquanto nos níveis de zero e 2% de incidência não houve efeito significativo.

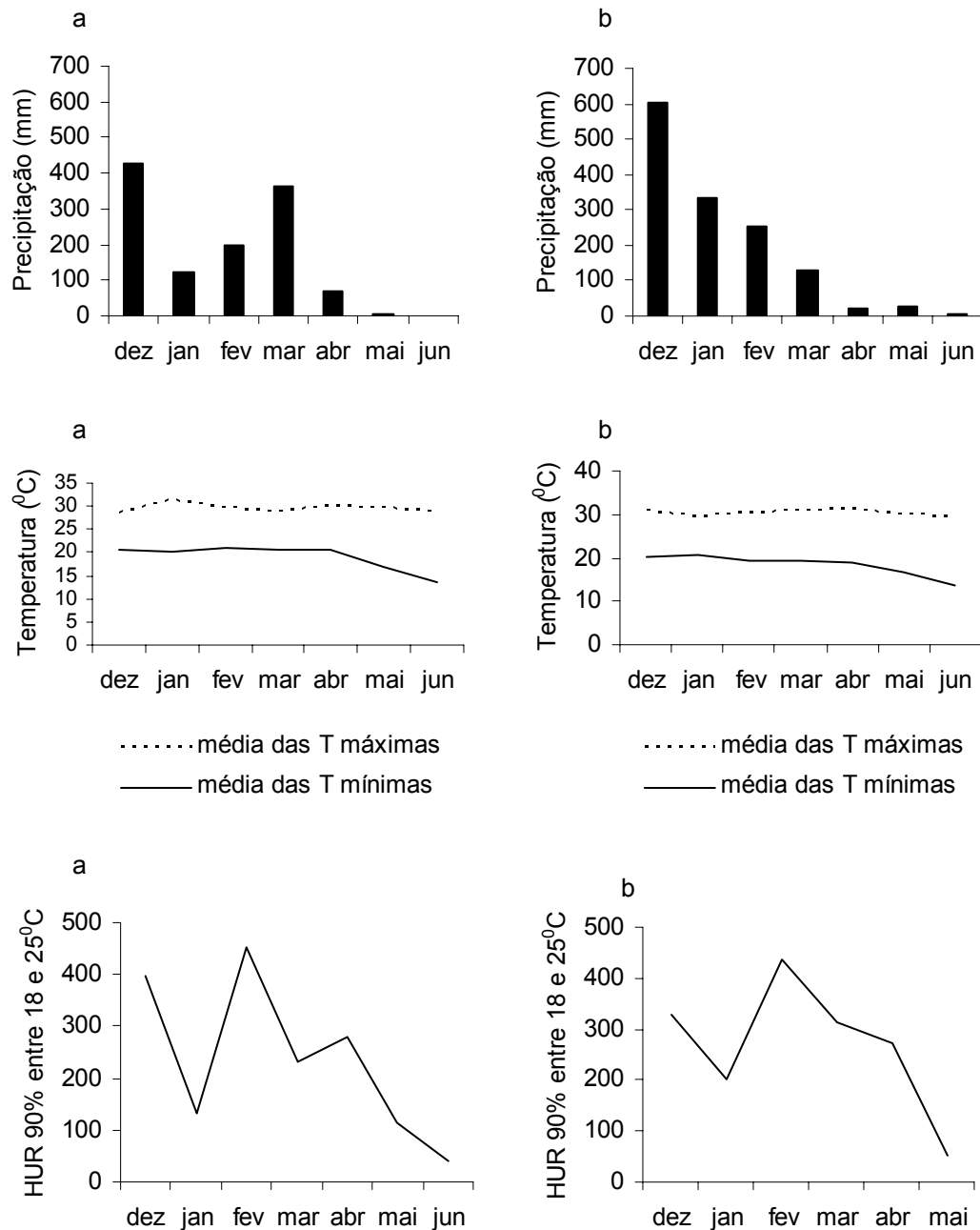


Figura 3.5 - Pluviosidade (mm), médias das temperaturas máximas e mínimas ($^{\circ}\text{C}$), e número de horas com umidade relativa acima de 90% no intervalo entre 18 e 25°C de temperatura nos anos de 2006 (a) e 2007 (b) em Santa Helena de Goiás, GO

Depreende-se, portanto que com baixos níveis de incidência do patógeno na semente, o progresso da doença se manteve estável e o controle químico não resultou em alterações significativa nos valores de AACPI e AACPS, porque nas parcelas

submetidas a esses tratamentos a doença, efetivamente, não progrediu. Por outro lado, com níveis de inóculo mais elevados, de 4% a 8% o controle químico foi eficaz e reduziu significativamente os valores da AACPI e AACPS.

Com base na análise de regressão, foi possível observar efeito significativo para aumento dos valores de AACPI e AACPS em função dos níveis de incidência do patógeno nas sementes, porém, com redução desses valores quando aplicado o controle químico nos níveis mais elevados de incidência nas sementes (Figuras 3.6 e 3.7). O efeito do número de aplicações sobre a redução dos valores médios de AACPI e AACPS pode ser observado na Tabela 3.1.

Com base nesses resultados, verifica-se que houve diferença significativa entre os tratamentos com aplicação de fungicidas para controle químico da parte aérea, em relação aos tratamentos onde não se empregou o controle químico. Portanto, com níveis mais elevados de incidência nas sementes, variando de 4% a 8%, duas aplicações de fungicidas foram mais eficientes na redução da intensidade da doença. Isso quer dizer que, com maiores níveis de inóculo inicial nas sementes há uma tendência à necessidade de se elevar o número de pulverizações.

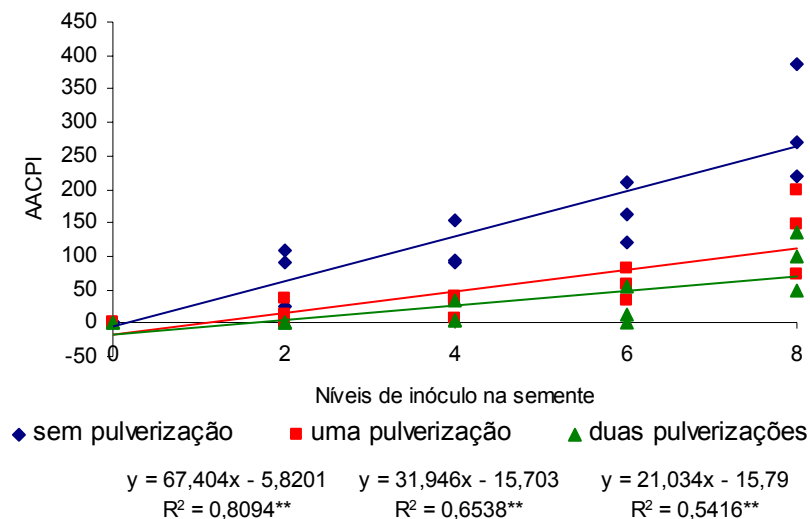


Figura 3.6 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea Santa Helena de Goiás, GO, 2007. **Significativo a 1% de probabilidade

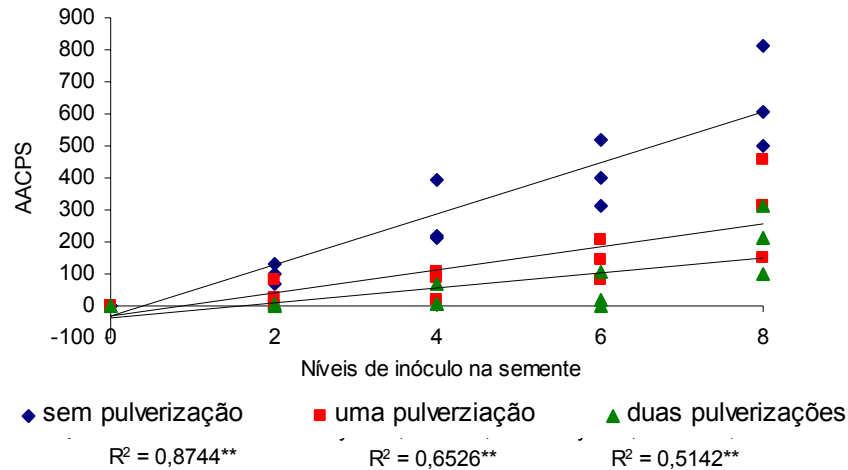


Figura 3.7 - Análise de regressão para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro em função do nível de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e do controle químico da parte aérea Santa Helena de Goiás, GO, 2007. **Significativo a 1% de probabilidade

O efeito da incidência do patógeno nas sementes em relação à intensidade da doença no campo já foi objeto de estudo em outros patossistemas, cujos dados concordam com aqueles aqui obtidos. Ojiambo et al. (2000) constataram que a mancha de alternaria do gergelim, no Quênia, foi mais severa a partir de fontes de inóculo oriundas das sementes onde níveis mais elevados, variando entre zero e 8%, induziram valores maiores de área abaixo da curva de progresso da doença.

Talamini et al. (2001), estudando o progresso da antracnose da soja causada por *C. truncatum*, em parcelas com diferentes níveis de inóculo, observaram que não houve diferença na intensidade da doença nas folhas e caules, porém houve aumento linear na intensidade da doença nas vagens, em pré-colheita, em função da porcentagem de sementes infectadas pelo patógeno.

Miguel et al. (2003) também avaliando o efeito de níveis de inóculo de *C. truncatum* em sementes de soja, variando de 0,25% a 16%, constataram aumento linear da incidência da doença nas vagens e nas sementes colhidas, em função do nível de inóculo inicial nas sementes. Com relação à incidência da doença nas vagens, no tratamento sem inóculo, esta foi de 30%, com 8% de inóculo foi de 53% e com 16% foi de 60%.

Pizzinatto et al. (1988) avaliaram a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, utilizando sementes de quatro cultivares artificialmente inoculadas e observaram que houve disseminação eficiente do patógeno, mesmo para a cultivar mais resistente, a partir de inóculo inicial transportado pelas sementes.

Tabela 3.1 - Efeito do controle químico da parte aérea sobre os valores da área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro a partir de 4, 6 e 8% de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes. Santa Helena de Goiás, GO, 2007

Número de pulverizações	AACPI	AACPS
0	128,99 ^a	285,46 a *
1	48,19b	111,22 b
2	26,28c	55,73 c

*Teste de Tukey a 1% de probabilidade

É importante ressaltar que, nem sempre, a quantidade de doença no campo relaciona-se diretamente com o nível de inóculo nas sementes. Segundo Machado (1994), a interferência de uma série de fatores de natureza infecciosa e não infecciosa podem interferir na intensidade da doença. No presente trabalho, em que pese as condições de ambiente terem sido, aparentemente, menos favoráveis ao desenvolvimento da doença no ano de 2007, o nível elevado de transmissão semente-plântula de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pode ter contribuído de forma decisiva para a formação de focos iniciais de ramulose no campo, que exerceram efeito sobre os tratamentos com diferentes níveis de inóculo inicial. Além dessas condições terem exercido um papel importante na disseminação de inóculo a partir de plantas doentes, elas podem também ter sido favoráveis à transmissão semente-plântula do patógeno. Teixeira, Machado e Vieira (1997) observaram que temperaturas mais baixas e maior umidade do solo favoreceram o desenvolvimento de *C. gossypii* presente nas sementes, contribuindo para aumentar a incidência de plântulas com sintomas de antracnose até os 14 dias após a semeadura.

Apesar da intensidade da doença ter sido menor em 2007, como se pode observar nas curvas de progresso da incidência e severidade (Figuras 3.8 e 3.9), foi

possível observar que ela foi mais intensa nos tratamentos onde havia maiores níveis de incidência do patógeno nas sementes, com as curvas de 6% e 8% de inóculo, sem pulverização, tendendo a se aproximar na última avaliação.

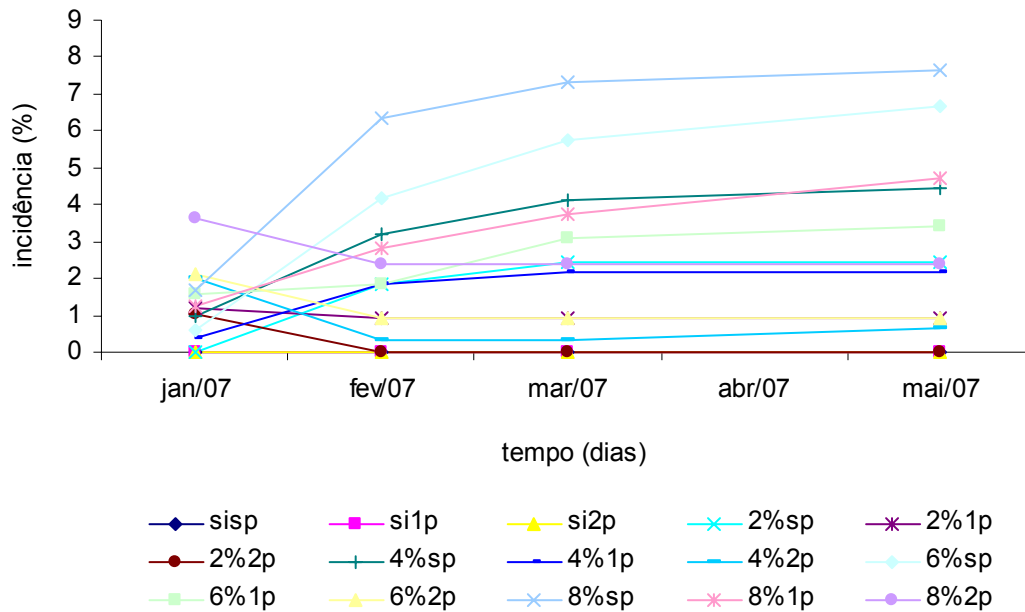


Figura 3.8 - Curvas de progresso da incidência da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2007. (s=sem; i=inóculo; p=pulverização)

Entre os meses de janeiro e fevereiro foi registrada, inclusive, em alguns tratamentos, uma redução nos níveis de incidência. Isso se deveu, provavelmente, ao desenvolvimento das plantas sem as condições ideais para desenvolvimento da doença, o que permitiu a sua recuperação e o desaparecimento dos sintomas iniciais de ramulose registrados na primeira avaliação. Entretanto, nos tratamentos onde os níveis de incidência eram mais elevados, ou seja, acima de 4%, a incidência da doença permaneceu crescente, exceto para aqueles tratamentos onde foi empregado o controle químico. Nestes, observou-se estabilização ou redução nos níveis de incidência.

As curvas de progresso da severidade, de um modo geral, acompanharam a evolução das curvas de incidência como se pode ver na figura 3.9. A severidade tendeu a se estabilizar na maioria dos tratamentos, a partir da primeira aplicação de fungicidas realizada no início do mês de fevereiro,

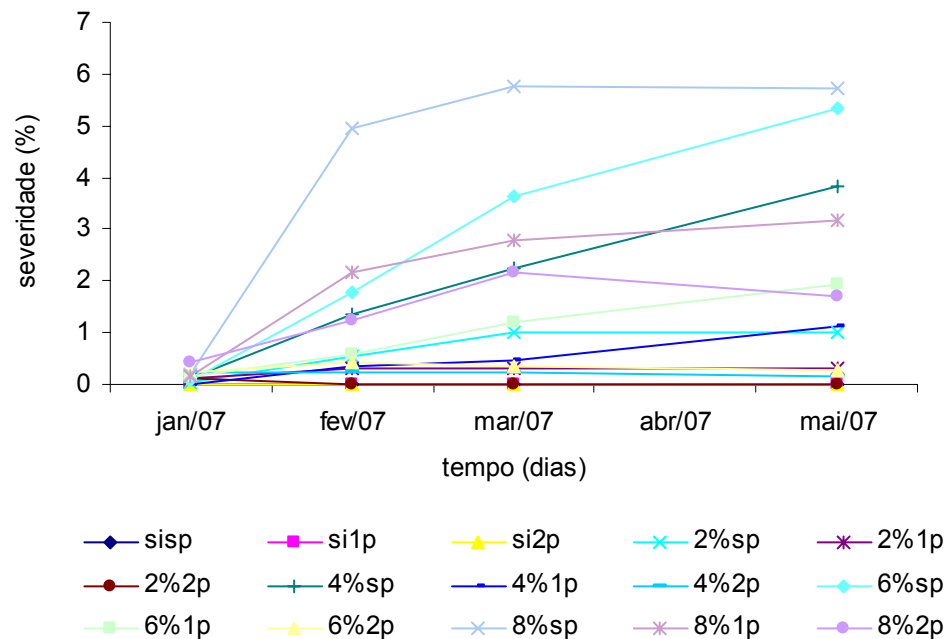


Figura 3.9 - Curvas de progresso da severidade da ramulose do algodoeiro em função de diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e do controle químico da parte aérea. Santa Helena de Goiás, GO, 2007. (s=sem; i=inóculo; p=pulverização)

Do mesmo modo que no caso da incidência, as curvas de progresso da doença geradas a partir de tratamentos com maiores níveis de incidência do patógeno nas sementes e não pulverizados, tenderam a se aproximar na última avaliação, demonstrando o efeito do inóculo inicial em apenas retardar a epidemia. Novamente no caso da severidade, nos tratamentos com níveis de incidência nas sementes mais elevados, onde foi empregado o controle químico, observou-se redução ou estabilização no progresso da doença.

Araújo e Chitarra (2005) observaram uma tendência à aproximação dos valores de incidência e severidade da ramulose no final do ciclo do algodoeiro, no Mato Grosso, a partir de diferentes níveis de inóculo inicial proveniente de sementes infectadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Mesmo a partir do menor nível de incidência nas sementes, que foi de 1%, a severidade da doença chegou próxima àquela alcançada com o maior nível, que foi de 5%.

Vechiato et al. (1997) obtiveram elevada correlação entre a incidência de *C. lindemuthianum* em sementes de feijoeiro e o número de plântulas com sintomas de

antracnose em casa-de-vegetação. Os autores alertam para o uso de sementes infectadas, mesmo com baixos níveis de incidência, uma vez que, quando semeadas no campo, constituem fontes de inóculo primário.

Não foi observada diferença significativa no rendimento do algodoeiro entre os tratamentos com níveis de incidência nas sementes e os valores da AACPI e AACPS nos dois anos estudados. (Tabela 3.2). Esses dados concordam com aqueles obtidos por Araújo (2004), avaliando o progresso da ramulose em Minas Gerais, a partir de diferentes níveis de inóculo inicial nas sementes.

De acordo com Bergamin Filho (2005) as estimativas de redução do rendimento causadas por patógenos constituem-se pré-requisito para o desenvolvimento de programas de manejo de doença bem sucedidos, apontando para a necessidade de quantificação de danos. Entretanto o autor faz uma ressalva quanto aos patógenos veiculados por sementes, uma vez que, deve-se considerar, neste caso, o padrão de tolerância dos patógenos a elas associados. Conceitos epidemiológicos quantitativos devem ser considerados.

No presente trabalho, encontrou-se grande dificuldade para manutenção de outros fatores associados à cultura, sem variações. No ano de 2006 houve sucessivas infestações de lagartas como curuquerê (*Alabama argilaceae*) e lagarta militar (*Spodoptera frugiperda*) na área experimental, que podem ter interferido no rendimento das parcelas, enquanto no ano de 2007 houve uma infestação inicial severa de percevejo castanho (*Scaptocoris castanea*) além de alguns veranicos que também podem ter exercido influência no rendimento.

Por outro lado, foi observada uma diferença entre o rendimento de algodão em caroço obtido em 2007, quando houve baixa intensidade de ramulose, e aquele obtido em 2006, sob elevados níveis de intensidade da doença, revelando o efeito expressivo da doença na redução de rendimento da cultura do algodoeiro, quando severamente afetada (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Rendimento de algodão em caroço (arrobas/ha) em relação aos tratamentos com diferentes níveis de incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e ao número de pulverizações com fungicidas na parte aérea do algodoeiro, nos anos de 2006 e 2007 em Santa Helena de Goiás, GO

Nível de incidência nas sementes (%)	Número de pulverizações	Ano	
		2006	2007
		Rendimento	
0	0	148,81	245,68
0	1	152,59	225,06
0	2	178,68	253,95
2	0	162,30	240,62
2	1	166,34	222,22
2	2	157,78	218,02
4	0	164,44	239,14
4	1	160,17	259,38
4	2	149,22	253,70
6	0	154,57	237,65
6	1	146,91	234,82
6	2	153,09	225,06
8	0	148,06	232,59
8	1	163,21	228,27
8	2	157,10	254,81

Considerando-se o tratamento com maior nível de incidência nas sementes, que foi de 8%, observou-se uma diferença de 63,57% a menos, no rendimento de algodão em caroço no ano de 2006, quando a doença foi mais severa, em relação ao ano de 2007, quando houve menor intensidade da doença e efeito do controle químico.

Como já foi dito, as condições de ambiente desfavoráveis ao desenvolvimento da doença, podem ter se constituído em fator determinante para a eficiência do controle químico no ano de 2007. Assim sendo, é muito provável que, sob condições de ambiente desfavoráveis à ramulose e com o uso de sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, contribuindo para a elevação dos níveis de inóculo inicial, o incremento da intensidade da doença possa ser estabilizado pelo uso do controle químico da parte aérea, no sistema de manejo proposto no presente trabalho. Contrariamente, caso as condições de ambiente sejam favoráveis à ramulose, como em

geral ocorre na maioria das regiões produtoras de algodão do Brasil, a doença poderá tomar proporções epidêmicas que dificilmente serão controladas dentro do sistema de manejo aqui proposto.

3.3 Conclusões

Os níveis de incidência e severidade da ramulose do algodoeiro, medidos através das áreas abaixo das curvas de progresso da incidência (AACPI) e severidade (AACPS) foram maiores quanto maior foram os níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes, nos anos de 2006 e 2007, em Santa Helena de Goiás, GO. No ano de 2006, o controle químico não teve efeito significativo sobre redução intensidade da doença, porém, no ano de 2007, os valores de AACPI e AACPS dos tratamentos com diferentes níveis de incidência inicial nas sementes, foram dependentes do número de pulverizações para controle químico da parte aérea, sendo menores com o maior número de pulverizações.

O controle químico da parte aérea não exerceu efeito significativo nos valores mais baixos de incidência nas sementes, representados pelos tratamentos sem inóculo e com 2% de incidência do patógeno nas sementes, mas foi eficiente nos tratamento com incidência mais elevada, ou seja, 4%, 6% e 8%. Isso revelou que, sob elevados níveis de incidência nas sementes, o controle químico foi mais eficiente quanto maior o número de pulverizações. Os valores de AACPI e AACPS foram maiores no ano de 2006, quando as condições de ambiente foram mais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Nos dois anos avaliados não houve efeito dos tratamentos sobre o rendimento de algodão em caroço, entretanto o rendimento nos diferentes tratamentos foi maior no ano de 2007, quando a intensidade da doença foi menor.

Referências

ALVES, M.C.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; ARAÚJO, D.V.; TALAMINI, V.; OLIVEIRA, M.S. Geoestatística como metodologia para estudar a dinâmica espaço-temporal de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 6, nov./dez. 2006.

ARAÚJO, A.E.; FARIAS, F.J.C. Progress of witches broom disease of cotton in Mato Grosso state Brazil. In: WORLD COTTON RESEARCH CONFERENCE, 3., 2003, Cape Town, **Anais...**Cape Town, ICAC, p. 1428-1430.

ARAÚJO, A.E.; CHITARRA, L.G. Efeito de níveis de inóculo nas sementes sobre o progresso da ramulose do algodoeiro no Mato Grosso. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v. 30, p. S193, 2005. Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27, 2005, Brasília.

ARAÚJO, A.E.; FREITAS, J.S.; SUASSUNA, N.D.; FARIAS, F.J.C. Sobrevivência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em restos de cultura no solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. Fitopatologia: **Trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM

ARAÚJO, A.E.; SUASSUNA, N.D.; FARIAS, F.J.C.; FREIRE, E.C. Escalas de notas para avaliação de doenças foliares do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. Fitopatologia: **Trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM

ARAÚJO, D.V. **Níveis de Inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro.** 2004. 87p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

BAKER, K; SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul, v. 3. p. 311-344, 1966.

BERGAMIN FILHO, A. Função de dano e epidemiologia de patógenos veiculados por sementes. In: ZAMBOLIN, L. (ed.) **Sementes: qualidade fitossanitária.** Viçosa, MG: UFV- DFP, 2005, cap 2, p 35-74.

BIANCHINI, A; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G Doenças do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Kimati, H; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (ed.). **Manual de Fitopatologia.** Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 1997. p. 376-379.

BRASIL, **Regras para análise de sementes.** Brasília, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365p.

BRUNETTA, E.; BRUNETTA, P.S.F.; FREIRE, E.C. Produção de sementes de Algodão. In: FREIRE, E.C. (Ed.). **Algodão no cerrado do Brasil.** Brasília, EMBRAPA, 2007. cap 9, p. 319-343.

CAMPBELL, C.L; MADEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology.** New York: John Willey, 1990. 532p.

CZERMAINSKI, A.B.C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em experimentos de avaliação de doenças em plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 34, n. 9, p. 1545-1555, set. 1999.

GOULART, A C. Doenças iniciais do algodoeiro-identificação e controle. In: ZAMBOLIN, L. ed. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV; DFP, 2005. p. 425-449.

IAMAMOTO, M.M. GOES, A. FUJINO, M.T. Efeito do trifloxystrobin no controle da ramulose do algodoeiro causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. Fitopatologia: **trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM

LIMA, E.F.; ARAÚJO, A.E.; CARVALHO, L.P. Produção de sementes de algodoeiro com controle da qualidade sanitária. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DO ALGODÃO, 4., ENCONTRO MATO GROSSO 2000, 1, 1998, Cuiabá. **Anais...**Rondonópolis: Embrapa/Fundação MT/Empaer-MT, p. 91-101.

LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P.; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 99-109, abr. 1985.

MACHADO, A.Q.; CASSETARI NETO, D. Nível de tolerância de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão no Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. Fitopatologia: **trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 1 CD-ROM

MACHADO, A.Q., ANDRADE, P.M.C.; CASSETARI NETO, D. Controle químico de doenças da parte aérea do algodão em Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2., 1999, Ribeirão Preto. O algodão no século XX, perspectivas para o século XXI. **Anais...**Campina Grande, Embrapa Algodão, 1999. p. 483-484.

MACHADO, A.Q.; CASSETARI NETO, D.; ANDRADE JÚNIOR, E.R. Avaliação da eficiência de fungicidas no controle de ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro no Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6, 2007, Uberlândia. Fitopatologia: **trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 1 CD-ROM

MACHADO, J.C. Padrões de tolerância de patógenos associados às sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 2, p. 229-264. 1994.

MACHADO, J.C. Patologia de sementes: significado e atribuições. In: Carvalho, N.M; Nakagawa, J. (Ed.) **Sementes. Ciência, Tecnologia e Produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 566p.

MAFFIA, LA.; MUCHOVEJ, J.J.; MAFFIA, A.M.C. Fundamentos epidemiológicos no estudo da transmissão de patógenos por sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 3, **Anais...**Lavras, UFLA, 1988. p. 41-47.

McGEE, D.C. Epidemiological approach to disease management through seed technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 445-466. 1995.

MIGUEL, C.E.J. POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; TALAMINI, V. Progresso da antracnose da soja (*Colletotrichum truncatum*) a partir de diferentes níveis de inóculo inicial nas sementes. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 16, 2003 **Resumos...**Lavras: UFLA, 2003. p. 210.

MONTEIRO, J.E.B.A.; SENTELHAS, P.C.; CHIAVEGATTO, E.J. Modelo de infecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em função da temperatura e do molhamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6, 2007, Uberlândia. Fitopatologia: **trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 1 CD-ROM

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2 ed. London: McMillan, 1979. v. 2. 1191p.

OJAMBO, P. S; AIYECHO, P.O.; NARLA, R.D.; MIBEY, R.K. Tolerance level of *Alternaria sesame* and the effect of seed infection on yield of sesame in Kenya. **International Journal of Pest Management**, London, v. 46, n. 2 p. 335-342, Feb. 2000.

PIZZINATTO, M.A. Estudos preliminares sobre a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodão e sua disseminação no campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 111, jul. 1988. Apresentado no Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 21, Salvador, 1988.

PIZZINATTO, M.A.; CIA, E.; FUZZATTO, M.G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 17, n. 2 p. 207-217, jul-dez, 1991.

SALES, N.L.P.; TALAMINI, V.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; SOUZA, P.E. Análise do padrão espacial da antracnose do feijoeiro no cultivo das secas em Lavras-MG. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 97, jan. 1999. Apresentado no Congresso Paulista de Fitopatologia, 22, Jaboticabal, 1999.

SAS Institute. **SAS /STAT Software 9.1**. Cary Nc: SAS Institute, 2003. Licensed to Centro de Computação Eletrônica da USP

SANTOS, G.R.; ZAMBOLIN, L.; BATISTA, U.G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro em função do período de inoculação das plantas. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 19, n. 3/4, p. 177-180, jun./dez.1993.

SANTOS, G.R.; ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO DO VALE, F.X.; MAFFIA, LA., VIEIRA, J.M. Progresso e gradiente da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 390-393, set. 1994.

SILVEIRA, A.P. Moléstias. In: _____ . **Cultura e adubação do algodoeiro**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1965. p.417-459.

SIQUERI, F.V. **Influência do número de aplicações de fungicidas no controle da ramulose**. 2001. Disponível em: <http://www.facual.org.br>. Acesso em 12 dez. 2007.

SIQUERI, F.V.; ARAÚJO, A.E. Controle químico de ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) no algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 3., 2001, Campo Grande. Produzir sempre, o grande desafio. **Anais...**Campina Grande: Embrapa Algodão/Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p. 549-551.

SUASSUNA, N; COUTINHO, W.M. Fungicidas auxiliam o manejo de doenças. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 3, n. 6, p. 44-46, jul./dez. 2006.

TALAMINI, V.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, F.A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2001.

TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. 1990. 111p. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 17, n. 2, p. 219-226, jul-dez, 1991.

TANAKA, M.A.S., MENTEN, J.O.M. Relação entre a resistência do algodoeiro à ramulose e a transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 19, n. 3/4, p. 227-234, jul./dez. 1992.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M.; MACHADO, J.C. Hábito de crescimento de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 55, p. 95-104, 1996.

TEIXEIRA, H.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.G.G.C. Transmissibilidade e efeitos de *Colletotrichum gossypii* associado a sementes deslindadas de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 465-471, dez. 1997.

VECHIATO, M.H.; CASTRO, J.L.; ISHIMURA, I; SABINO, J.C.; MENTEN, J.O.M. Antracnose do feijoeiro: correlação entre severidade em vagens e a incidência do patógeno nas sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 159-163, 1997.

4 TRANSMISSÃO PLANTA-SEMENTE DE *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa AGENTE CAUSAL DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO

Resumo

A transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, da planta para a semente do algodoeiro, não tem sido correlacionada com a severidade da doença no campo. Entretanto, baixos níveis de incidência têm, muitas vezes, resultado em altos índices de infecção das sementes pelo patógeno. Esse fato induz o cancelamento de campos de produção de sementes em algumas regiões produtoras. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de níveis de inóculo inicial, constituído de plantas com sintomas da doença, em relação à incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas, período considerado como de maior suscetibilidade à infecção, bem como a transmissão planta-semente em relação aos níveis de incidência da doença no campo. O experimento foi conduzido durante os anos agrícolas de 2006 e 2007, com níveis de inóculo inicial de 0,0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6% de plantas com sintomas aos 40 dias após a emergência, em blocos casualizados com quatro repetições e parcelas com oito linhas de 15 m. A incidência da ramulose foi avaliada quando 70% das maçãs estavam formadas, em 200 plantas localizadas nas quatro fileiras centrais. Após a colheita, as sementes foram submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro. Observou-se correlação positiva e significativa entre os níveis de inóculo inicial e a incidência da doença quando 70% das maçãs estavam formadas, bem como entre os níveis de incidência no campo e a incidência do patógeno nas sementes, sendo esta correlação altamente significativa no ano de 2006. Campos de produção com incidência de ramulose acima de 5% podem induzir níveis elevados de infecção nas sementes.

Palavras-chave: Ramulose; Doença; Incidência; Inóculo; Infecção

TRANSMISSION PLANT TO SEEDS OF *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa THE CAUSAL AGENT OF RAMULOSIS OF COTTON

Abstract

The transmission of *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* from plant to cotton seeds, normally, does not have correlation with disease severity in the field. However, low incidence of disease sometimes is associated with high infection of the pathogen in the seeds. It is cause the elimination of seeds field production in some regions of Brazil. The present research had the objective to evaluate the effect of source of inoculum from diseased plants in relation to incidence of ramulosis when 70% of bolls were completely developed and he relation between the incidence of disease in the field and the infection of cotton seeds. The experiments were carried out during two seasons in 2006 and 2007 with 0,0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 and 1,6% of plants with symptoms of disease, 40 days after emergence, in randomized blocks with four repetitions and parcels of eight planted lines of 15 m of length. The incidence of disease was evaluated

when 70% of bolls were completely developed in 200 plants in the four central lines. After the harvest, the seeds were submitted to health test through the blotter method. It was verified high and positive correlation between initial inoculum and incidence of disease when 70% of bolls were developed and incidence of disease in the field and infection of cotton seeds by the pathogen. The correlation was higher in 2006 than in 2007. Seed production fields with incidence of disease higher than 5% can cause high incidence of the pathogen in the cotton seeds.

Keywords: Ramulosis; Disease; Incidence, Inoculum, Infection

4.1 Introdução

A ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* é umas das principais doenças do algodoeiro no Brasil. É restrita à América Latina, tendo sido registrada além de no Brasil, no Paraguai e na Venezuela (MATHIESON; MANGANO, 1985; MALAGUTI, 1955).

O agente causal da ramulose é transportado e transmitido principalmente pela semente, que é responsável pela introdução do patógeno em áreas isentas e pode dar origem a grande número de focos de infecção (BAKER; SMITH, 1966). O transporte se dá externamente, como esporo aderido à superfície, e internamente, como micélio dormente no interior da semente (LIMA et al., 1985).

O uso de sementes portadoras é a melhor maneira de distribuição aleatória do inoculo inicial de um patógeno na lavoura (DHINGRA, 2005). De acordo com Machado (1994), o significado econômico da associação do patógeno com a semente pode ser estimado com base na expressão de cada doença e na forma como ela se manifesta na natureza. Os danos decorrentes dessa associação não se limitam apenas às perdas diretas de população de plantas hospedeiras no campo, mas alcançam uma série de outras implicações que podem levar a danos irreparáveis a todo o sistema agrícola.

O Brasil plantou, em 2007, 1.093.000 ha de algodão distribuídos em 353.000 ha no Nordeste, 659.900 mil ha no Centro Oeste e 67.600 no Sudeste e Sul (CONAB, 2007). O volume de sementes no mercado atingiu 650 a 700 mil sacas de 20 kg, sendo 50 a 55% desse total com certificação. Não raro, as inspeções para garantia de qualidade sanitária das sementes são negligenciadas e não são rigorosas nos campos de multiplicação (OISHI, 2007). Esse fato pode resultar na produção de sementes portadoras de diferentes patógenos, entre eles o agente causal da ramulose.

Uma lavoura de algodão bem estabelecida, com a população de plantas uniformemente distribuída e adequada, é o primeiro passo para se obter sucesso na produção. A obtenção de uma população de plantas adequada está intimamente relacionada à utilização de sementes de alta qualidade (BRUNETTA, BRUNETTA; FREIRE, 2007).

Por sementes de alta qualidade entendem-se aquelas que possuem pureza física, boa germinação e vigor, sejam livres de patógenos e apresentem controle de gerações que seja adequado ao conceito de rastreabilidade (OISHI, 2007).

A obtenção de sementes de algodoeiro com boa qualidade sanitária requer o conhecimento a respeito da disseminação e transmissão dos patógenos que a ela podem se associar, da propagação das doenças, dos padrões de sanidade e dos procedimentos para a produção de sementes sadias (LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998).

Entre as práticas mais importantes para a produção de sementes com boa qualidade sanitária, destacam-se a localização dos campos de produção em áreas apropriadas, o isolamento dos campos, adubação equilibrada, rotação de culturas e inspeções fitossanitárias periódicas (LIMA; ARAÚJO; CARVALHO, 1998; ZAMBOLIN; SOUZA; BARBOSA, 2005; BRUNETTA, BRUNETTA; FREIRE, 2007).

No caso da ramulose, o conhecimento do processo de transmissão do patógeno planta-semente é fundamental para se evitar problemas de infecção das sementes nos campos de produção e a conseqüente obtenção de sementes com níveis de incidência de patógenos acima daqueles recomendados pela legislação.

Diversos autores já mencionaram o período de formação das maçãs como o mais suscetível à infecção de sementes de algodoeiro por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (LIMA et al. 1985; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO, 1991; TANAKA, 1990; SANTOS et al. 1994). Entretanto, quando se realizam inspeções fitossanitárias nesse período, persistem dúvidas sobre que nível de incidência de ramulose determina o cancelamento de um campo de produção de sementes. Assim, campos em diferentes regiões produtoras do Brasil são sistematicamente eliminados em virtude do registro de níveis de incidência de ramulose considerados elevados.

O uso de sementes portadoras de patógenos contribui decisivamente para o aumento do inóculo inicial e, como consequência, para que a doença aumente de forma mais rápida. Neste sentido, os danos ocasionados à cultura poderão ser maiores. No algodoeiro, os danos causados pela ramulose são ainda pouco estudados, embora haja consenso entre técnicos e produtores quanto à importância econômica da doença para a cotonicultura. Quando as condições de ambiente são favoráveis ao desenvolvimento da doença, ou seja, temperaturas entre 25 e 30°C com precipitações elevadas podem ocorrer reduções de 30 a 70% no rendimento (SILVEIRA,1965).

Pizzinatto (1987) afirma que, em patologia de sementes de algodoeiro *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* são considerados os fungos mais importantes, porém Tanaka (1990) afirma ser *C. gossypii* var. *cephalosporioides* mais importante em virtude dos danos causados à produção do algodoeiro pela ramulose.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de níveis de inóculo inicial em campos de produção de sementes de algodoeiro, sobre a incidência da ramulose no período em que 70% das maçãs estavam formadas e o efeito da incidência da doença nesse período sobre a transmissão do patógeno para as sementes.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Revisão bibliográfica

C. gossypii var. *cephalosporioides* é transportado principalmente através das sementes (COSTA, 1941) o que pode ocorrer tanto aderido à superfície externa da semente, como esporo, ou internamente como micélio quiescente (LIMA et al. 1985).

O transporte do patógeno, através das sementes, nem sempre resulta em transmissão para a plântula. Entretanto, a transmissão do agente causal da ramulose, tem sido comprovada através de diversos estudos (LIMA et al. 1985; TANAKA, 1990; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO, 1991; SANTOS et al. 1994).

Um dos aspectos importantes para a transmissão do patógeno é o processo de infecção das sementes. Este processo pode assegurar a transferência de inóculo para novas áreas e a perpetuação do patógeno por sucessivas estações de cultivo.

O estágio de desenvolvimento da cultura e a severidade da doença podem exercer papel importante na transmissão de patógenos pelas sementes (NEERGAARD,

1979). Para o agente causal da ramulose do algodoeiro esse primeiro fator é de fundamental importância. Lima et al. (1985) avaliaram o transporte e a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* por meio das sementes de algodoeiro e constataram que a percentagem de sementes infectadas variou de acordo com o estágio de desenvolvimento da cultura, no período de infecção pelo patógeno. Quando a infecção ocorreu nas plantas com maçãs completamente desenvolvidas a quantidade de sementes infectadas foi significativamente maior que quando a infecção ocorreu nos demais estágios de desenvolvimento.

Tanaka (1990) inoculou plantas de algodoeiro aos 30 dias e quando a maioria das maçãs estava formada e constatou percentagens significativamente maiores do patógeno nas sementes oriundas de plantas inoculadas quando a maioria das maçãs estava formada, em relação às inoculadas aos 30 dias.

Do mesmo modo, Araújo et al. (1994), trabalhando com feijoeiro, observaram correlação positiva e significativa entre a severidade da antracnose em plantas inoculadas no estágio de formação das vagens e a incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes, enquanto Oliveira (1991) constatou que a transmissão desse fungo a partir de plantas inoculadas para as sementes foi maior aos 45 dias após a semeadura.

Não existem padrões de incidência em campo definidos para a maioria das regiões produtoras de algodão. Entretanto Cia e Fuzzato (1986) recomendam que não sejam utilizados como sementes, materiais oriundos de campos de produção onde possa ter ocorrido mais de 5% de incidência de ramulose. Essa prática foi adotada pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo desde 1949 (CIA; SALGADO, 1997). Para a manutenção dos campos isentos do agente causal da ramulose são necessárias práticas de manejo rigorosas (BRUNETTA, BRUNETTA; FREIRE, 2007). Porém, nem sempre existe uma correlação positiva entre o nível de severidade da doença e o transporte e transmissão do patógeno através das mesmas, sendo esta, associada, de forma mais consistente, com o estágio de desenvolvimento da cultura.

Araújo (1988) não encontrou correlação entre a incidência da antracnose em feijoeiro e a infecção das sementes por *C. lindemuthianum*. Mesmo resultado foi obtido por Vechiato et al. (2001), que não encontraram correlação significativa entre a

percentagem de plantas de feijoeiro com sintomas de antracnose no campo e a infecção das sementes por *C. lindemuthianum*. Índices de 32,75 a 48,75% de plantas com sintomas de antracnose em uma localidade e 17,00 a 33,50% em outra, resultaram em incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes de zero a 1,00% e zero a 5,50%, respectivamente. Também Dhingra e Kushalappa (1980) observaram que a infecção de sementes de feijoeiro por *Isariopsis griseola* não dependeram da severidade da doença, mesmo resultado obtido por Lasca et al. (1980).

Em vista do exposto, acredita-se que o efeito da intensidade da ramulose sobre a transmissão semente-plântula de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* ainda seja objeto de controvérsia, sobretudo no que se refere à incidência. Esse fato dificulta o estabelecimento de padrões de sanidade para os campos de produção de sementes e contribui para a eliminação de campos sem critério seguro, bem como para a colheita de campos com sementes cuja incidência do patógeno pode ser elevada.

4.2.2 Material e Métodos

4.2.2.1 Cultivar e sementes utilizadas

Foram utilizadas sementes da cultivar BRS Ipê, previamente deslintadas com ácido sulfúrico e tratadas com o inseticida imidacloprid (270g i.a./100 kg) e os fungicidas tolylfluanida (75 g i.a./100 kg) + pencycuron (75 g i.a./100 kg). Antes da semeadura, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). O percentual de germinação do lote era de 87%. As sementes foram semeadas mecanicamente por meio de uma semeadeira modelo John Deere 9211 Vacuumer acionada por um trator modelo John Deere 6505.

4.2.2.2 Área experimental, plantio, delineamento e manejo do experimento

O experimento foi instalado no Campo Experimental da Fundação Goiás/Embrapa, no município de Santa Helena de Goiás, em altitude de 562m, 17° 48' 49" de latitude Sul e 50° 35' 49" de longitude Oeste. O solo era do tipo Latossolo Amarelo e foi adubado por ocasião da semeadura com 400 kg/ha de 4-30-16 + 0,5% Zn + 0,4% B; em cobertura foi aplicado 400 kg/ha de 20-0-30 + 0,2% de B, dividido em duas vezes nos estádios B1/B2 e depois em F1/F2.

Os tratamentos foram 0,1; 0,2, 0,4; 0,8 e 1,6% de plantas com sintomas e um tratamento com plantas sem sintomas de ramulose. Para obter as plantas sintomáticas, as mesmas foram inoculadas 40 dias após a emergência, com uma suspensão de 10^5 conídios/ml de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, provenientes de cultura de um isolado do patógeno, classificado com o número 242, oriundo do estado de Goiás, pertencente à micoteca da Embrapa Algodão, Campina Grande, e crescido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), durante 12 dias. As inoculações foram realizadas a partir do pôr-do-sol até o início da noite, utilizando-se um pulverizador costal, com capacidade para cinco litros, modelo Guarany 0425.25, com pressão de 690 KPa e vazão de 1,1 L/min. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos de polietileno preto, presos com fita adesiva ao caule e retirados após 12 horas.

O delineamento foi em blocos ao acaso com quatro repetições e a parcela constituída de oito linhas de 15 metros, totalizando 1.080 plantas, aproximadamente. Para reduzir a possibilidade da entrada de inóculo oriundo de áreas adjacentes, 30 dias antes da semeadura do algodão foram semeadas quatro linhas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) em volta da área experimental.

4.2.2.3 Avaliação da intensidade da doença, da infecção das sementes e análise estatística

A avaliação da intensidade da ramulose foi feita quando 70% das maçãs encontravam-se formadas, com base na incidência, contando-se o número de plantas com sintomas da doença em uma amostra de 200 plantas nas quatro fileiras centrais.

A colheita foi feita manualmente, nas quatro fileiras avaliadas e o algodão beneficiado em um descaroador de rolos. As sementes foram deslintadas com ácido sulfúrico 95% PA, na proporção de 100 ml/kg de sementes. 300 g de sementes, com líter, foram colocadas em um Balde plástico com capacidade para 10 L, o ácido colocado sobre as sementes e misturado com um bastão de vidro durante três minutos. Decorrido esse período, foi adicionada uma solução de CaO na concentração de 0,5 kg/100 L, deixando-se em repouso por três minutos para neutralização do ácido. Após esse período, a mistura da solução de CaO e ácido sulfúrico foi desprezada e as

sementes lavadas por três vezes em água corrente e deixadas para secar à sombra durante 24 horas sobre um papel absorvente.

As sementes deslintadas passaram por assepsia superficial com uma solução de hipoclorito de sódio a 2% durante um minuto e submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro em água destilada (NEERGAARD, 1979). Para o teste de sanidade foram utilizadas 400 sementes de cada repetição do experimento de campo, divididas em quatro repetições de 100 sementes.

Uma análise de regressão e correlação foi feita visando associar os níveis de incidência no campo em relação ao inóculo inicial e os níveis de incidência *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes aos níveis de incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas

As análises estatísticas foram feitas empregando-se o procedimento proc GLM, proc REG e proc CORR do software SAS[®] (Statistical Analysis System - SAS Institute, 2003).

4.2.3 Resultados e discussão

Os níveis de inóculo inicial, de incidência quando 70% das maçãs estavam formadas e de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes encontram-se na Tabela 1. Com base na análise de regressão, houve efeito linear entre os níveis de inóculo inicial, expressos pela percentagem de plantas com sintomas de ramulose e os níveis de incidência da doença, quando 70% das maçãs estavam formadas, no ano de 2006, com valor de R^2 de 0,85, significativo a 1% de probabilidade (Figura 4.1a). Assim sendo, quanto maior foi a percentagem de plantas com sintomas iniciais de ramulose aos 40 dias após a emergência, maior foi a incidência da doença quando 70% das maçãs estavam formadas. No ano de 2007 também houve efeito linear da incidência em relação ao inóculo inicial, porém com R^2 baixo, de 0,36, embora significativo a 5% de probabilidade (Figura 4.1b). Neste sentido, pode-se afirmar, ainda, que houve uma tendência a maiores níveis de inóculo inicial, resultarem em maior incidência da doença, quando 70% das maçãs estavam formadas.

No ano de 2006, houve correlação positiva e altamente significativa entre a incidência da doença quando 70% das maçãs estavam formadas e a incidência de *C.*

gossypii var. *cephalosporioides* nas sementes. No ano de 2007, entretanto, essa correlação existiu, porém foi baixa, resultando significativa a 5% de probabilidade com R^2 de 0,40, porém mantendo a tendência (Tabela 4.1).

No ano de 2006, provavelmente em função das condições mais favoráveis do ambiente à disseminação do patógeno, a incidência foi mais elevada e os focos iniciais da doença atuaram rapidamente como fonte de dispersão de inóculo. Já no ano de 2007, com as condições de ambiente menos favoráveis, a dispersão de inóculo, quando ocorreu, deu-se apenas a curtas distâncias, reduzindo os níveis de incidência da doença.

Tabela 4.1 – Inóculo inicial constituído da percentagem de plantas sintomáticas no campo, incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas e infecção das sementes colhidas por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Santa Helena de Goiás, 2007

Inóculo inicial plantas sintomáticas(%)	Incidência de ramulose em campo (%)	Incidência do patógeno nas sementes (%)
2006		
0,0	2,2	2,0
0,1	4,5	3,0
0,2	6,7	2,0
0,4	10,8	4,0
0,8	15,5	6,0
1,6	23,5	9,0
2007		
0,0	0,35	0,25
0,1	0,25	0,0
0,2	0,57	1,0
0,4	0,72	2,0
0,8	1,8	1,0
1,6	3,8	2,0

As condições de ambiente mencionadas, são aquelas relacionadas, principalmente, à pluviosidade e sua distribuição. No ano de 2006, as chuvas foram aumentando a partir de janeiro e, embora o volume tenha sido menor que no ano de 2007, nos meses de janeiro e fevereiro, em março e abril, período em que as maçãs estão se formando, a pluviosidade foi mais intensa. Outro fator importante é que, as

chuvas em 2007 ocorreram mais concentradas, com alguns veranicos longos, o que pode ter dificultado a dispersão do inóculo a partir das fontes iniciais.

Santos et al. (1994) afirmam que a disseminação da ramulose a partir de plantas infectadas pode ser rápida, dependendo das condições de ambiente. Os autores verificaram que, aos 32 dias após a emergência, a ramulose se disseminou a uma distância de seis metros da fonte de inóculo e a incidência da doença foi maior nas plantas mais próximas à fonte de inóculo inicial.

O efeito da pluviosidade sobre a disseminação de *C. gossypi* var. *cephalosporioides* também foi observado por Lima et al. (1985), que relatam a sua importância para dispersão de inóculo e infecção das sementes pelo patógeno.

Talamini et al. (2001) consideram como aspecto importante em espécies do gênero *Colletotrichum*, associadas às sementes, a habilidade que estas possuem de serem transmitidas para a parte aérea das plantas. Os autores afirmam que a partir de lesões características, os esporos são disseminados e infectam tecidos da mesma planta ou de plantas vizinhas.

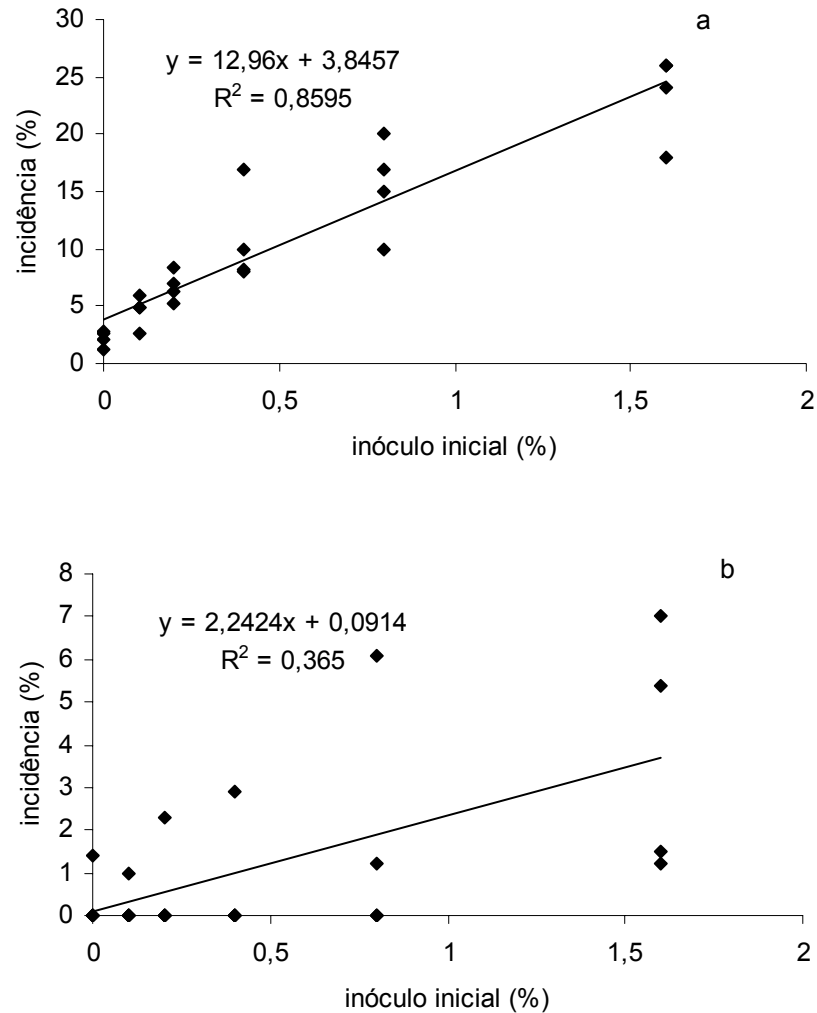


Figura 4.1 - Análise de regressão para a relação entre níveis de inóculo inicial constituído pela percentagem de incidência de plantas com ramulose 40 dias após a emergência e a incidência da doença quando 70% das maçãs encontravam-se formadas. 2006 (a); 2007 (b). Santa Helena de Goiás, 2007

Tabela 4.2 Coeficientes de correlação entre incidência da ramulose no algodoeiro, quando 70% das maçãs estavam formadas e a incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes. Santa Helena de Goiás, 2007

Variável	Incidência na semente	
	2006	2007
Incidência em campo	0,81**	0,40*

*Significativo a 5% de probabilidade

**Significativo a 1% de probabilidade

Admite-se, portanto, que, no presente trabalho, tenha havido efeito da distribuição de chuvas sobre a disseminação de inóculo de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, contribuindo para a baixa incidência da doença quando 70% das maçãs estavam formadas, no ano de 2007.

Estudos sobre a transmissão planta-semente de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* têm se baseado em dados de severidade. Normalmente, não tem sido encontrada correlação entre a severidade da ramulose e a infecção das sementes pelo patógeno (LIMA et al., 1985; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO, 1991). Contrariamente, Araújo et al. (2006) encontraram correlação positiva e significativa entre a área abaixo da curva de progresso da severidade da ramulose e a severidade do patógeno nas sementes.

Vários autores têm relatado a importância do estágio de desenvolvimento do algodoeiro para a infecção das sementes pelo agente causal da ramulose. Inoculações do patógeno realizadas no período de formação das maçãs ou quando as mesmas já se encontravam completamente formadas, resultaram em maiores índices de doença (LIMA et al., 1985; PIZZINATTO; CIA; FUZZATO, 1991; TANAKA, 1990; SANTOS et al., 1994). No presente trabalho foi observada correlação positiva e significativa entre incidência da doença no campo e incidência do patógeno nas sementes. Esses resultados não estão de acordo com aqueles obtidos por Araújo et al. (2006) que não encontraram correlação entre a área abaixo da curva de progresso da incidência e a incidência e severidade nas sementes.

O fato de, no presente trabalho, a variação na incidência ter ocorrido quando 70% das maçãs encontravam-se formadas, pode justificar a correlação entre esta e a incidência do fungo nas sementes, provavelmente em função de variações na quantidade de inóculo nos diferentes tratamentos, nesse estágio, e das condições de clima favoráveis à infecção no ano de 2006.

É possível, portanto, que, mais importante que a severidade da doença para a infecção das sementes, seja sua incidência, que denuncia o processo de infecção o qual pode ocorrer, mesmo com baixos níveis de severidade. A esse respeito Lima et al. (1985) levantam a possibilidade de penetração direta do patógeno através das maçãs, atingindo as sementes. Os autores chegaram a essa hipótese, tomando como base o

fato de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* ter sido isolado, a partir de pequenas lesões encontradas na superfície das maçãs.

A baixa correlação entre incidência no campo e infecção das sementes pelo patógeno no ano de 2007 ($R^2 = 0,40$), pode estar relacionada às condições de ambiente menos favoráveis à infecção. A esse respeito, Lima et al. (1985) atribuem a maior percentagem de sementes infectadas por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em um ano de estudo em relação ao outro, à maior precipitação e umidade relativa no período.

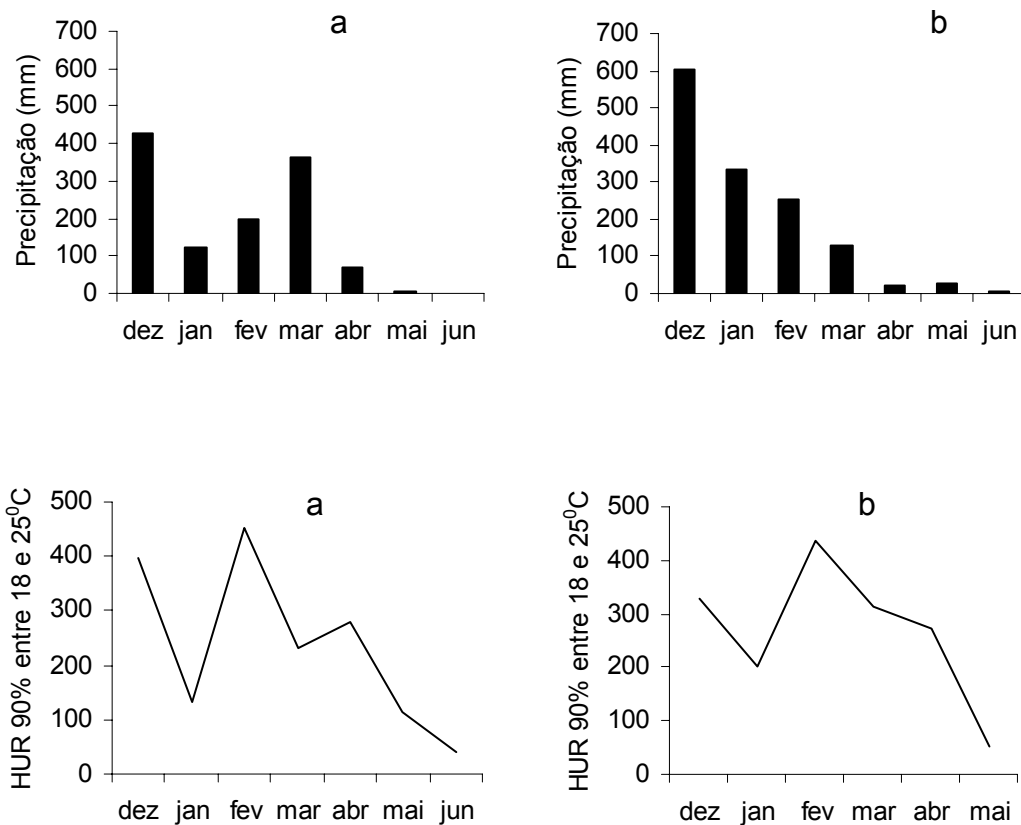


Figura 4.2 – Precipitação (mm) e número de horas com umidade relativa acima de 90% no intervalo entre 18 e 25°C nos anos de 2006 (a) e 2007 (b)

No mesmo sentido, Vechiato et al. (1997) também consideraram a precipitação e a umidade relativa como alguns dos fatores que interferiram na transmissão planta-semente de *C. lindemuthianum* em feijoeiro.

Os resultados aqui obtidos em relação à transmissão planta-semente de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, conduzem à observação de que a prática do “rouing”

em campos de produção de sementes de algodoeiro deve ser rigorosa visando evitar níveis elevados de incidência quando as maçãs estiverem em desenvolvimento ou completamente desenvolvidas. Também reforçam as recomendações feitas por Cia e Fuzzato (1986), de não se utilizarem como sementes, materiais oriundos de campos de produção com mais de 5% de incidência de ramulose. Neste trabalho, incidências abaixo de 5% resultaram em baixos níveis de infecção das sementes, passíveis de serem controlados por meio do tratamento químico das mesmas. Entretanto, com o aumento da incidência da doença, houve aumento da incidência do patógeno nas sementes, tornando de maior risco o uso de sementes provenientes de campos de produção onde a incidência da ramulose tenha sido acima de 5%.

4.3 Conclusões

A incidência da ramulose quando 70% das maçãs estavam formadas foi correlacionada com o nível de inóculo inicial constituído de plantas sintomáticas, nos dois anos avaliados. A incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes de algodoeiro também foi correlacionada com a incidência da doença quando 70% das maçãs estavam formadas. A prática do “roguing” e do controle químico da parte aérea em campos de produção de sementes devem ser encorajados visando evitar que ocorra incidência de ramulose no período de formação das maçãs e, desta forma, favoreça a transmissão do patógeno para as sementes. Campos de produção com níveis de incidência acima de 5% podem resultar em níveis elevados de incidência do patógeno nas sementes

Referências

ARAÚJO, D.V.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; ZAMBENEDETTI, E.B.; CARVALHO, E.M.; CELANO, F.A.O. Relação entre níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e o progresso da ramulose do algodoeiro.

Fitopatologia Brasileira, Lavras, v. 31, n. 2; p. 147-151, mar./abr. 2006.

ARAÚJO, E. Resistência do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à infecção causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Mogn) Sreib. e à sua transmissão pelas sementes. 82p. 1988. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.

ARAÚJO, E; ZAMBOLIN, L.; VALE, F.X.R.; VIEIRA, C. Correlação entre a severidade da antracnose em vagens de feijoeiro e a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* pelas sementes. **Turrialba**, San José, v. 44, n. 4, p. 255-260, 1994.

BAKER, K; SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul, v. 3. p. 311-344, 1966.

BRASIL, **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365p.

BRUNETTA, E.; BRUNETTA, P.S.F.; FREIRE, E.C. Produção de sementes de Algodão. In: FREIRE, E.C. (ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**. Brasília: Abrapa, 2007. cap 9, p. 319-343.

CIA, E; FUZZATO, M.G. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de algodão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Campinas, Fundação Cargill, 1986. p. 49-56.

CIA, E.; SALGADO, C.L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**, 3 ed. Piracicaba: Ceres, 1997, v. 2. p. 33-48.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 10 jun. 2007.

COSTA, A.S. **Investigações sobre a ramulose**. Campinas: Instituto agrônomo de Campinas, Seção de Algodão, 1941. 42 p. (Relatório. 1012.)

DHINGRA, O.D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.) **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. p. 75-112.

DHINGRA, O.D.; KUSHALAPA, A.C. No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in bean by *Isariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 2, p. 149-152, jun. 1980.

LASCA, C.C.; ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; ROSTON, A.C. Estudos preliminares sobre a relação entre a ocorrência de antracnose em cultura de feijão e infecção de sementes por *Colletotrichum lindemuthianum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 412, 1980. Apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 13, 1980, Rio de Janeiro.

LIMA, E.F.; ARAÚJO, A.E.; CARVALHO, L.P. Produção de sementes de algodoeiro com controle da qualidade sanitária. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DO ALGODÃO, 4. ENCONTRO MATO GROSSO 2000, 1. 1998, Cuiabá. **Anais....Rondonópolis: Embrapa/Fundação MT/Emapaer-MT**, 1998. p. 91-101.

- LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P.; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 99-109, abr. 1985.
- MACHADO, J.C. Padrões de tolerância de patógenos associados às sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, 1994. v. 2, p. 229-264
- MALAGUTI, G. La escobilla del algodón en Venezuela. **Agronomia Tropical**. Maracay, v. 5, n. 2, p. 73-86, jul./sep. 1955.
- MATHIESON, J.T.; MANGANO, V. Ramulose, a new cotton disease in Paraguay caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 11, n. 1/2, p. 115-118, jan./jun. 1985.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2. ed. London: McMillan, 1979. v.2. 1191p.
- OISHI, W K. **Sanidade das sementes brasileiras de algodão**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6, 2007, Uberlândia. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. **Palestra...**, 1 CD-ROM
- OLIVEIRA, S.M.A. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scriber por sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seu controle através de tratamento químico e biológico. 67p. 1991. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1991.
- PIZZINATTO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J. (Ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas, Fundação Cargill. 1987. p. 331-346.
- PIZZINATTO, M.A.; CIA, E; FUZZATO, M.G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n.3/4, p. 207-217, jul./dez. 1991.
- SANTOS, G.R., ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., MAFFIA, L.A.: VIEIRA, J.M. Progresso e gradiente da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 390-393, set. 1994.
- SAS Institute. **SAS/STAT Software**. Cary Nc: SAS Institute, 2003. Licensed to Centro de Computação Eletrônica da USP
- SILVEIRA, A.P. Moléstias. In:_____. **Cultura e adubação do algodoeiro**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1965. p.417-459.

TALAMINI, V.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, F.A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2001.

TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. 1990. 111p. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

ZAMBOLIN, L.; SOUZA, A.F.; BARBOSA, J.C. Controle integrado de doenças fúngicas da parte aérea de plantas, visando à redução na transmissão por sementes. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.) **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. p. 215-266.

VECHIATO, M.H.; LASCA, C.C.; KOHARA, E.Y.; CHIBA, S. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 83-87; jan./jun. 2001.