



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**USO DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM TESTES
DE SANIDADE DE SEMENTES DE
ALGODOEIRO**

ANDRÉIA QUIXABEIRA MACHADO

2002



ANDRÉIA QUIXABEIRA MACHADO

**USO DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM TESTES DE SANIDADE DE
SEMENTES DE ALGODOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. José da Cruz Machado

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2002

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Machado, Andréia Quixabeira

Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro /
Andréia Quixabeira Machado. - Lavras : UFLA, 2002.

55 p. : il.

Orientador: José da Cruz Machado.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Algodão. 2. Semente. 3. Sanidade. 4. Restrição hídrica. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.5121

ANDRÉIA QUIXABEIRA MACHADO


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 8 de março de 2002

Prof.^a. Dr.^a. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira UFLA

Prof. Dr. Daniel Cassetari Neto UFMT

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza UFLA


Prof. Dr. José da Cruz Machado
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

À memória

Do Professor Ivo Pereira Camargo

Pela lição de amor a vida

DEDICO

Aos meus pais, Andiário e Maria José, pelo amor, apoio e dedicação;

Às minhas irmãs, Adriana, Fernanda e Maria Jaciara, pelo carinho e incentivo;

Ao meu noivo Daniel pelo amor, apoio, incentivo e compreensão.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, pela realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Dr. José da Cruz Machado, pela orientação e exemplo profissional.

À Professora Dr^a. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pela co-orientação e incentivo.

Ao Professor Dr. Daniel Cassetari Neto, pela co-orientação e apoio.

Ao Professor Dr. Edson Ampélio Pozza, pelas sugestões.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia e do Setor de Sementes do Departamento de Agricultura pelos ensinamentos adquiridos durante o curso.

À Eng. Agro. Patrícia Maria Coury de Andrade, pelas sementes cedidas.

Ao Pesquisador da EMBRAPA Agropecuária oeste Dr. Augusto César Pereira Goulart, pelos isolados de *Rhizoctonia solani* cedidos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, pela receptividade.

Aos colegas do Departamento de Fitopatologia em especial do Laboratório de Patologia de Sementes pela amizade e companherismo.

Às amigas Mafalda, Vera, Leimi, Luíza, Ênia e Marcella, pelo apoio nos momentos difíceis.

Aos meus familiares, pelo amor, incentivo e ensinamentos de vida.

A Deus pela vitória.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Principais doenças associadas às sementes do algodoeiro.....	3
2.2 Detecção de fungos em sementes de algodoeiro.....	9
2.3 Uso da restrição hídrica em métodos de incubação de sementes visando à detecção de fungos.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de algodoeiro e ocorrência de fungos.....	15
3.1.1 Delineamento experimental.....	17
3.1.2 Análise estatística.....	17
3.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica no desenvolvimento de alguns fungos transmitidos pelas sementes de algodoeiro em meio BDA.....	17
3.2.1 Delineamento experimental.....	19
3.2.2 Análise estatística.....	20
3.3 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 Efeitos da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de algodoeiro e ocorrência de fungos.....	22

4.2 Efeitos da restrição hídrica no desenvolvimento de alguns fungos transmitidos pelas sementes de algodoeiro em meio BDA.....	29
4.3 Efeitos da restrição hídrica na ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas.....	39
5 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página	
1	Quantidades de manitol e NaCl usadas na preparação das soluções osmóticas nos diferentes níveis de potencial osmótico testados. UFLA, Lavras-MG, 2002.....	16
2	Valores médios de porcentagem de germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e em BDA modificados pela adição dos solutos manitol e NaCl em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.....	24
3	Porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e em BDA modificados pela adição dos solutos manitol e NaCl em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.....	28
4	Índice de velocidade de crescimento micelial (cm) de <i>Botryodiplodia theobromae</i> , <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> , <i>Colletotrichum gossypii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em condições de restrição hídrica promovida pela adição de manitol e NaCl ao meio BDA em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras - MG, 2002.....	30
5	Produção de conídios de <i>Botryodiplodia theobromae</i> , <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> , <i>Colletotrichum gossypii</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> , peso de matéria fresca (PF), peso de matéria seca (PS) e número de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em condições de restrição hídrica promovida pela adição de manitol e NaCl ao meio BDA em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras - MG, 2002.....	31
6	Porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro inoculadas e submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro padrão (2,4-D) e papel de filtro com restrição hídrica (manitol e NaCl, -1,0 MPa). UFLA, Lavras – MG, 2002.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Germinação de sementes de algodoeiro submetidas à incubação em papel de filtro com água (A) e 2,4-D (F) e em restrição hídrica com manitol -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D) e -1,2 MPa (E). UFLA, Lavras – MG, 2002.....	23
2 Germinação de sementes de algodoeiro submetidas à incubação em papel de filtro com água (A) e 2,4-D (F) e em restrição hídrica com NaCl -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D) e -1,2 MPa (E). UFLA, Lavras – MG, 2002.....	23
3 Análise de regressão relacionando a porcentagem de germinação de sementes em diferentes níveis de potencial osmótico no teste de incubação em meio BDA. UFLA, Lavras-MG, 2002.....	24
4 Análise de regressão relacionando a porcentagem de germinação de sementes e o comprimento de plântulas em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl no teste de incubação em papel de filtro. UFLA, Lavras-MG, 2002.....	25
5 Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Botryodiplodia theobromae</i> (A) e <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> (B) em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002.....	32
6 Análise de regressão relacionando a produção de conídios (10^5 /mL) de <i>Colletotrichum gossypii</i> (A) e <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> (B) em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002.....	32
7 Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em BDA (A) e BDA modificado por manitol -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D), -1,2 MPa (E) e NaCl -0,6MPa (F), -0,8 MPa (G), -1,0 MPa (H) e -1,2 MPa (I). UFLA, Lavras – MG, 2002.....	33
8 Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gossypii</i> em BDA (A) e BDA modificado por manitol -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D), -1,2 MPa (E) e NaCl -0,6MPa (F), -0,8 MPa (G), -1,0 MPa (H) e -1,2 MPa (I). UFLA, Lavras – MG, 2002.....	33

- 9 Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Rhizoctonia solani* (A) e *Colletotrichum gossypii* (B) em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002..... 34
- 10 Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002..... 34
- 11 Análise de regressão relacionando o número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002..... 36
- 12 Análise de regressão relacionando o peso de matéria fresca (PF) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002..... 36
- 13 Análise de regressão relacionando o peso de matéria seca (PS) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002..... 37

RESUMO

MACHADO, Andréia Quixabeira. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro.** Lavras: UFLA, 2002. 55p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia)*.

Nos testes de sanidade, realizados por meio dos métodos de incubação em papel de filtro e em meio agarizado, a germinação rápida das sementes dificulta a identificação dos fungos e pode comprometer a validade desses métodos. Com este trabalho teve-se como objetivo estudar o uso da restrição hídrica nos testes de sanidade em substituição ao uso do 2,4-D como inibidor da germinação de sementes. Foram avaliados os efeitos da restrição hídrica com os solutos manitol e NaCl nos potenciais -0,6, -0,8, -1,0 e -1,2 MPa, em relação à porcentagem de germinação, comprimento de plântulas e porcentagem de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro submetidas aos métodos de incubação em papel de filtro e em meio BDA. O índice de velocidade de crescimento micelial e a frutificação dos fungos *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia esclerotiorum* foram avaliados em meio BDA com restrição hídrica, utilizando-se os mesmos solutos e níveis de potencial osmótico dos testes de sanidade. O efeito da restrição hídrica no desenvolvimento dos fungos *B. theobromae*, *C. gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* foi avaliado utilizando-se sementes inoculadas e submetidas à incubação em papel de filtro com restrição hídrica induzida por manitol e NaCl no potencial osmótico -1,0 MPa e pelo método padrão com 2,4-D. A restrição hídrica nos solutos e potenciais osmóticos testados reduziu a germinação e o comprimento das plântulas de algodoeiro revelando-se desta forma como um meio eficaz de controlar a germinação em testes de incubação em substituição ao uso do 2,4-D. O crescimento micelial dos fungos foi reduzido nos potenciais osmóticos mais negativos que -0,6 MPa. A frutificação dos fungos não foi influenciada pela restrição hídrica que também não interferiu no desenvolvimento e detecção dos fungos nos testes de sanidade estudados.

*Comitê orientador: Prof. José da Cruz Machado – UFLA (Orientador)
Prof.^a Maria das Graças G. C. Vieira – UFLA
Prof. Daniel Cassetari Neto – UFMT

ABSTRACT

MACHADO, Andréia Quixabeira. Use of the water restriction in health testing for cotton seeds. Lavras: UFLA, 2002. 55p. (Dissertation – Master in Phytopathology) *.

In the conventional health tests, blotter and agar, the fast germination of seeds of cotton may cause serious problems during the microscope examination leading, in many cases, to erratic results. To impede seed germination, incorporation of 2,4-D (salt formulation) to the substrate is recommended. This work aimed to study the use of the water restriction technique in blotter method in substitution to the use of the 2,4-D for toxicological and others reasons. The effects of the water restriction were studied in relation to germination percentage, radicle elongation and percentage of occurrence of pathogenic fungi in cotton seeds submitted to the incubation methods in filter paper and PDA, amended with mannitol and NaCl at osmotic potentials of -0,6, -0,8, -1,0 and -1,2 MPa. The index of mycelial growth and frutifications, in applied cases, of *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia esclerotiorum* were evaluated in PDA with water restriction produced by mannitol and NaCl at different levels of osmotic potentials. The effect of water restriction in the occurrence of *B. theobromae*, *C. gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides* and *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* was evaluated using inoculated seeds and mannitol and NaCl at osmotic potential of -1,0 MPa in comparison with 2,4-D blotter method. The water restriction technique proved to control seed germination at intensities similar to 2,4-D. The index of mycelial growth of the fungi tested was only reduced at osmotic potentials higher than -0,6 MPa. Frutifications were not influenced by water restriction and neither occurrence of pathogenic fungi on seeds incubated by blotter method.

* Advising Committee: Prof. José da Cruz Machado – UFLA (Adviser)
Prof. Maria das Graças G. C. Vieira – UFLA
Prof. Daniel Cassetari Neto – UFMT

1 INTRODUÇÃO

O algodoeiro é uma das culturas anuais mais tradicionais constituindo-se em uma opção das mais importantes do ponto de vista econômico e social para uma expressiva parcela da população brasileira. Trata-se de uma cultura que requer tecnologias de produção cada vez mais eficazes pela sua própria natureza. Para a obtenção de melhores produtividades é necessário considerar inúmeros fatores de maneira integrada.

Entre os fatores limitantes ao avanço da cultura do algodoeiro no Brasil, encontram-se as doenças.

O tombamento de plântulas do algodoeiro (*Rhizoctonia solani* Kuhn, *Colletotrichum gossypii* South, *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* A. S. Costa, *Fusarium* spp. e *Botryodiplodia theobromae* Pat.), a murcha-de-fusarium ou fusariose, (*Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder e Hansen), a antracnose (*Colletotrichum gossypii*) e a ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) têm sido reconhecidas como as doenças mais importantes, sendo responsáveis pela redução da população da cultura no campo, elevando os custos de produção e causando prejuízos consideráveis (Pozza & Juliatti, 1994; Juliatti & Ruano, 1997; Cia & Salgado, 1997; Cassetari Neto & Machado, 2000; Lima et al., 1985; Pizzinato, 1987).

A identificação precoce dos agentes causais das referidas doenças nas sementes por meio do teste de sanidade constitui-se em ferramenta das mais importantes no âmbito de controle integrado de doenças do algodoeiro.

Nos testes de sanidade de sementes de algumas espécies vegetais, realizados por meio dos métodos de incubação, seja em papel de filtro ou em meio agarizado, a germinação rápida das sementes dificulta o seu exame e

possibilita a ocorrência de contaminações secundárias entre as sementes e o exterior do recipiente. Para inibir a germinação das sementes ou reduzir o comprimento de plântula, os métodos são realizados com algumas modificações, como o uso do 2,4-D (sal de diclorofenoxiacetato de sódio) ou do congelamento de sementes incubadas. O uso do 2,4-D apresenta limitações não só por ser tóxico à saúde humana, mas também pode ser fungitóxico, e o congelamento pode favorecer contaminações por bactérias e fungos saprofiticos, além de problemas operacionais (Limonard, 1968).

O uso da técnica de restrição hídrica, em substratos utilizados para inocular fungos em sementes, tem sido eficaz no controle (inibição) da germinação das sementes sem afetar o desenvolvimento de fungos (Amaral & Vieira, 1996; Carvalho, 1999; Costa, 2000). Essa constatação faz com que a técnica de restrição hídrica possa substituir ou tornar-se alternativa ao uso de procedimentos convencionais.

Com este trabalho, objetivou-se, portanto, estudar a viabilidade de utilização da técnica de restrição hídrica no teste de sanidade para sementes de algodoeiro, com o intuito de substituir o uso de 2,4-D. Para isso, foram lançadas as hipóteses: 1) A restrição hídrica impede ou reduz o crescimento da plântula em níveis similares aos proporcionados pelo 2,4-D, 2) A restrição hídrica não interfere no desenvolvimento dos fungos associados às sementes do algodoeiro por ocasião do teste de incubação em papel de filtro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Principais doenças associadas às sementes do algodoeiro

A exemplo das demais espécies cultivadas, a cultura do algodoeiro é susceptível a um grande número de doenças, sendo o maior grupo causado por patógenos fúngicos, os quais, em sua maioria, podem ser transmitidos ou transportados pelas sementes (Machado, 1988).

De modo geral, os patógenos transportados por sementes são potencialmente capazes de causar doença a partir da semeadura. No entanto, para a transmissão concretizar-se, é necessário ocorrer perfeita interação entre o patógeno, a semente e o ambiente (Neergaard, 1979).

De todas as doenças do algodoeiro, o tombamento de plântulas é considerado uma das principais. Essa doença é de ocorrência generalizada em todas as regiões onde se cultiva o algodoeiro, podendo causar grandes prejuízos caso as condições de ambiente sejam favoráveis ao seu desenvolvimento (Pozza & Juliatti, 1994; Menten & Paradela, 1996; Cia & Salgado, 1997).

A ocorrência de baixas temperaturas no solo durante o período de germinação tem sido apontada como um fator importante para a ocorrência severa do tombamento de plântulas em algodoeiro, por determinar uma velocidade de germinação reduzida, expondo por mais tempo tecidos mais jovens e suscetíveis à ação dos patógenos. Além desse fato, em baixas temperaturas há um aumento de exsudação de açúcares e aminoácidos, favorecendo o aumento do potencial de inóculo patogênico na periferia da semente (Wanjura & Buxton, 1972; Wilkes & Cochran, 1970).

O tombamento de plântulas resulta da ação de vários fungos habitantes naturais do solo. Dentre esses patógenos, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* são considerados os principais agentes etiológicos, seguidos ainda de *Fusarium* spp., *Botryodiplodia theobromae* e *Pythium* sp. Esses patógenos atacam as sementes, por ocasião da germinação, e as plântulas, causando tombamento de pós-emergência (Tanaka & Menten, 1989, 1991; Santos et al., 1992; Cia & Salgado, 1997; Juliatti & Ruano, 1997).

Patógenos associados às sementes de algodoeiro têm sido responsáveis pela ocorrência precoce de doenças nas lavouras do Centro-Oeste, elevando o custo de produção e reduzindo a produtividade (Cassetari Neto & Machado, 2000).

O fungo *Colletotrichum gossypii* pode viver saprofiticamente em restos de cultura por vários meses. Entretanto, as sementes contaminadas constituem a principal fonte de inóculo desse organismo. Por meio das lesões nos capulhos, *Colletotrichum gossypii* pode atingir o embrião da semente, onde permanece viável como micélio dormente por um período médio de 3 anos, sob condições normais de armazenamento, podendo permanecer viável por até 13,5 anos (Neergaard, 1979). As sementes também podem ser contaminadas externamente por conídios durante o beneficiamento; porém, a viabilidade desse propágulo é da ordem de 9 meses (Cia & Salgado, 1997).

O patógeno *Rhizoctonia solani* é um fungo polífago, habitante natural do solo, podendo ser ainda transmitido pelas sementes de algodoeiro. É o mais prejudicial, dentre os componentes do complexo de fungos causadores do tombamento, por causar, em maior intensidade, a morte de plântulas em pós-emergência. Esse patógeno, estando presente no solo ou nas sementes, além de ocasionar perdas significativas na fase de plântulas (falha no estande), pode servir como fonte de inóculo para culturas subseqüentes. Os sintomas de

tombamento causados por esse patógeno caracterizam-se pela presença de plântulas com murchamento das folhas, além da presença de lesões deprimidas, marrom-avermelhadas no colo e nas raízes (Sinclair, 1965; Silva et al., 1996; Passos, 1982).

Por sua vez, o fungo *Botryodiplodia theobromae* mostra-se patogênico ao algodoeiro no início do ciclo, causando morte de plântulas e, ao final, causando seca de ramos e apodrecimento de maçãs. Ao final do ciclo, pode causar, em média, perda de 17% na colheita do algodoeiro, equivalente ao percentual de frutos que apodrecem e não completam a deiscência. Além disso, a taxa de transmissão desse patógeno para as sementes pode corresponder ao mesmo percentual de redução do estande após a semeadura, causando morte em pré-emergência (Oliveira, 1994).

A ramulose do algodoeiro, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, está disseminada em praticamente todas as áreas de cultivo do País. O patógeno é mais severo em condições de alta umidade, temperatura elevada e dias nublados (Tanaka & Menten, 1992).

Colletotrichum gossypii var. *cephalosporioides* pode ser transportado (conídios) ou transmitido (micélio dormente) por sementes de algodoeiro, sendo essa a principal via de disseminação da doença. O patógeno também pode sobreviver em restos de cultura e tem sua disseminação facilitada por ventos associados à precipitação (Lima et al., 1985; Watckins, 1981). A importância da semente na transmissão do patógeno fica evidente, ao se constatar a incidência da doença em áreas antes isentas (Tanaka & Menten, 1989).

Santos et al. (1994) determinaram um gradiente de progresso da doença de 1 metro a cada cinco dias a partir da fonte de inóculo, em condições de alta umidade relativa e alta temperatura (25 a 28°C).

A ramulose manifesta-se em plantas de qualquer idade, preferencialmente em tecidos jovens. Os sintomas diretos ocorrem em folhas novas da haste principal e/ou secundária, na forma de lesões necróticas nos bordos, limbo foliar e nervuras, formando fissuras de forma estrelada. O crescimento desigual do tecido provoca enrugamento da folha e rompimento das lesões. O início do comprometimento do meristema apical manifesta-se pela redução da distância entre os internódios. O meristema apical torna-se necrosado, estimulando o desenvolvimento de brotos laterais que dão à planta um aspecto envassourado, com conseqüente redução no porte da planta. Plantas infectadas antes do florescimento exibem aborto de estruturas florais, pela exaustão provocada pelo superbrotamento. A ramulose tardia (de ocorrência a partir da fase de florescimento) provoca pouca ou nenhuma redução na produtividade; porém, serve como fonte de inóculo para a contaminação das sementes em campos de produção de sementes (Gondim et al., 1999).

Outra doença do algodoeiro que pode acarretar baixa produtividade da cultura, dependendo das condições climáticas e outros fatores, é a antracnose, causada por *Colletotrichum gossypii*. Ela está amplamente distribuída em todas as regiões úmidas onde se cultiva o algodoeiro, afetando a germinação das sementes, e conseqüentemente, reduzindo o número de plantas por área e prejudicando o bom desenvolvimento dos capulhos, fibras e sementes (Cia & Salgado, 1997).

Segundo Marsh et al. (1950), *Colletotrichum gossypii* é conhecido como decompositor de celulose. Ele é capaz de causar uma diminuição na resistência das fibras do algodoeiro, quando os capulhos são afetados. Quantitativamente, os danos nas fibras dependem das condições climáticas que ocorrem após a abertura das maçãs. Nos cotilédones, a antracnose aparece sob a forma de pequenas lesões, que podem progredir se as condições climáticas forem favoráveis, até atacar o caule, podendo matar a plântula. Caso as condições

estejam mais favoráveis para o desenvolvimento da planta, as lesões não se desenvolvem e a planta cresce normalmente. Os cotilédones com o fungo podem ficar aderidos ao caule, servindo mais tarde como fonte de inóculo para outras partes da planta. Nas maçãs, as lesões geralmente começam sob a forma de pequenas manchas de coloração escura e arroxeada. Essas lesões aumentam de tamanho, cobrindo grande parte da superfície da maçã. Se as condições forem favoráveis, as lesões apresentam-se cobertas de uma massa de conídios úmida e de coloração rósea. A fibra e as sementes podem ser totalmente destruídas. Quando a destruição da fibra não é total, a maçã amadurece e abre, revelando a presença de fibra compactada, descolorida e coberta com a massa rósea de conídios (Paiva, 1998).

A murcha de fusarium ou fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, é a principal doença do algodoeiro de ciclo anual, cultivado principalmente nos Estados de São Paulo e Paraná. Conhecida no Nordeste brasileiro desde 1935, e em São Paulo desde 1957/58, sua importância gerou a necessidade de obtenção de variedades resistentes, pois é essa a única medida de controle economicamente viável. Entre as formas especializadas de *Fusarium oxysporum*, existem algumas que mostram alta especificidade de hospedeiro. Outras, entretanto, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, não são altamente especializadas, podendo apresentar hospedeiros alternativos, chamados secundários (Cia & Salgado, 1997).

A murcha de fusarium é mais severa quando associada a nematóides e, principalmente, em solos arenosos e pobres. A doença caracteriza-se pela ação do patógeno nos vasos condutores do algodoeiro, por meio da produção e liberação de toxinas e enzimas hidrolíticas, comprometendo o transporte de seiva na planta (Juliatti & Ruano, 1997).

Os sintomas dessa doença podem aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Em plântulas, os cotilédones e as folhas murcham, amarelecem e caem, e o sistema vascular torna-se descolorido. As plantas de algodoeiro doentes apresentam um quadro sintomatológico variável, dependendo do grau de resistência da variedade e das condições ambientais. Plantas infectadas são menores, com folhas e capulhos reduzidos. No caso das folhas, essas amarelecem, exibem crestamento do limbo e caem. Esses sintomas se iniciam pelas folhas basais. Em secção transversal do caule ou da raiz, pode-se observar escurecimento dos vasos, resultante da oxidação e polimerização de compostos fenólicos. Em função da obstrução dos vasos do xilema por tiloses, micélio, polissacarídeos e géis, o fluxo de água e nutrientes é interrompido e os sintomas de murcha são notados na parte aérea da planta (Goulart, 1995; Cia & Salgado, 1997; Kimati, 1980).

Fusarium oxysporum f. sp. *vasinfectum* é transmitido pelas sementes tanto externamente como internamente. Embora seja predominantemente um fungo de solo, mesmo uma baixa taxa de transmissão pela semente pode ser de grande importância, se essa semente for lançada em solo não contaminado pelo patógeno. Esse patógeno é considerado praga quarentenária A2, porém ainda não foi registrada a ocorrência nos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Goulart, 1998, Cassetari Neto e Machado, 2000).

Segundo relatos em literatura, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* está entre os fitopatógenos mais cosmopolitas, não específicos e onívoros, infectando ampla gama de plantas cultivadas e daninhas, com exceção das gramíneas (Purdy, 1979; Almeida et al., 1997).

É generalizada a idéia de que *Sclerotinia sclerotiorum* ocorre em regiões relativamente frias e úmidas, porém, esse fungo tem sido encontrado em locais quentes e secos em muitos países de todos os continentes (Yorinori & Homechin, 1987b; Purdy, 1979).

A ocorrência, severidade e predominância da doença estão intimamente associadas às condições do meio ambiente e à reação do hospedeiro (Athow, 1973). A duração da umidade sobre a superfície vegetal e a frequência da chuva ou água de irrigação, quando o inóculo está disponível, são muito mais importantes do que a quantidade de água recebida (Schwartz & Steadman, 1978; Abawi & Grogan, 1975). Além da alta umidade, o patógeno é favorecido por temperatura noturna e diurna entre 15 e 28°C e altitudes acima de 800 m (Yorinori & Homechin, 1987a).

2.2 Detecção de fungos em sementes de algodoeiro

Existem vários métodos para detectar patógenos em sementes, os quais diferem entre si em sensibilidade e tipos de equipamentos utilizados para sua execução. Na escolha do método, deve-se levar em consideração o(s) patógeno(s) a ser(em) detectado(s), a infra-estrutura do laboratório, o grau de treinamento de pessoal e o objetivo do teste (ISTA, 1976; Neergaard, 1979).

Especificamente para o algodoeiro, dois métodos são empregados para a detecção de fungos em análises de rotina. O método de incubação em papel de filtro com algumas variações é o mais utilizado. Em casos circunstanciais, é empregado o método de incubação em meio ágar (Brasil, 1992). A metodologia para detecção de *Colletotrichum gossypii* descrita no Manual de Sanidade da ISTA fornece resultados qualitativos e sua condução apresenta problemas operacionais (ISTA, 1981).

O método de incubação em papel de filtro tem como base original a avaliação de sintomas típicos dos fungos desenvolvidos na plântula, por ocasião da sua germinação em condições controladas (Neergaard, 1979; Machado, 1988). No entanto, a concepção atual de uso desse método tem como

fundamento a avaliação das estruturas fúngicas produzidas junto às sementes ao final de um período de incubação em condições controladas. O método consiste em acondicionar as sementes equidistantes em recipientes esterilizadas com tampas transparentes (placas de Petri ou caixas de gerbox), contendo 3 folhas de papel de filtro, previamente esterilizadas e umedecidas em água destilada esterilizada. Os recipientes com as sementes são mantidos em câmara de incubação com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por um período de sete dias, em luz com comprimento de onda próximo ao ultra-violeta. A identificação dos fungos é baseada nas suas características morfológicas visualizadas em microscópio estereoscópico com resolução de até 80 vezes (Neergaard, 1973, 1979).

Em algumas espécies vegetais, a germinação rápida das sementes dificulta a identificação dos fungos e pode comprometer a validade dos resultados desses testes pela possibilidade de contaminações secundárias entre sementes e o exterior do recipiente (Machado, 1988). Para inibir a germinação ou reduzir o comprimento das plântulas de algodoeiro, tem sido utilizado o 2,4-D na concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Machado & Langerak, 1993), no entanto em estudos realizados por Sobreira (1988) verificou-se que o 2,4-D nessa concentração inibiu o crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

O método de incubação em meio agarizado consiste em distribuir as sementes, em placas de Petri contendo um substrato agarizado apropriado. Os substratos mais utilizados nesse método são os meios BDA (extrato de batata-dextrose-ágar), MA (extrato de malte-ágar) e AA (ágar-água). A incubação das sementes nesses meios tem como base o favorecimento da formação de colônias típicas dos fungos a partir das sementes, e exigem uma rigorosa assepsia, pois a preparação e manipulação incorretas desses meios podem comprometer o resultado do teste pela interferência de agentes contaminantes (Machado, 1988).

As condições de incubação do método de ágar são semelhantes aos descritos para o método do papel de filtro. A identificação dos fungos sobre as sementes baseia-se nas características morfológicas dos fungos, visualizadas em microscópio estereoscópico, igualmente ao método do papel de filtro, ao passo que para os testes realizados com os substratos BDA e MA, a identificação baseia-se no exame macroscópico das colônias fúngicas desenvolvidas no meio de cultura. Para inibir a germinação de sementes durante o teste em meio agarizado, utiliza-se, em alguns casos, o 2,4-D na concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$. O uso do congelamento não é recomendado, por promover rachaduras no meio de cultura e favorecer contaminações por bactérias e outros microrganismos de crescimento rápido (Machado, 1988).

2.3 Uso da restrição hídrica em métodos de incubação de sementes visando à detecção de fungos

A germinação de sementes é caracterizada pela retomada do desenvolvimento do eixo embrionário interrompido por ocasião da maturidade fisiológica. O processo de germinação é influenciado por uma série de fatores, intrínsecos e extrínsecos à semente, tendo início com entrada de água na semente por embebição, e a velocidade de reidratação da semente depende da espécie, da permeabilidade do tegumento à água, da composição química da semente, da disponibilidade hídrica no estado líquido ou gasoso, da temperatura, da pressão hidrostática, do grau de umidade inicial da semente e da qualidade fisiológica da semente (Popinigis, 1977; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Em condições normais de germinação, as sementes apresentam um padrão trifásico de embebição. Na fase I, ocorre absorção rápida de água e o início da degradação das reservas das sementes. A fase II é caracterizada pelo transporte de substâncias desdobradas na fase anterior para o tecido meristemático e por pequenas mudanças no conteúdo de água das sementes. Na fase III, alcançada apenas por sementes viáveis e não-dormentes, as substâncias desdobradas na fase I e transportadas na fase II são organizadas em substâncias complexas para formar o citoplasma, o protoplasma e a parede celular, permitindo o crescimento do eixo embrionário (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Com base na seqüência dos eventos do processo de germinativo, vários estudos foram desenvolvidos envolvendo técnicas de controle de hidratação e germinação. Dentre essas técnicas, o condicionamento osmótico de sementes, também referido como “priming”, e o condicionamento fisiológico merecem destaque (Eira, 1988; Guimarães, 1991; Vasquez, 1995; Braccini, 1996; Camargo, 1998).

A técnica de “priming” objetiva o controle da velocidade de embebição de água pelas sementes, pelo uso de soluções osmóticas ajustadas a potenciais hídricos para permitir a ocorrência dos processos fisiológicos nas fases I e II de embebição, sem atingir umidade suficiente para que ocorra o alongamento celular e, conseqüentemente, a emergência da radícula na fase III (Heydecker & Higgins, 1975; Bradford, 1986).

Para o ajuste do potencial hídrico de substratos usados no controle da hidratação e da germinação de sementes de diversas espécies vegetais, vários solutos iônicos, como NaCl, KCl, KNO₃ e não iônicos como manitol e polietileno glicol têm sido usados (Eira, 1988; Guimarães, 1991; Pill, 1994; Braccini, 1996; Camargo, 1998).

As condições favoráveis ao condicionamento osmótico variam em função das características das sementes de cada espécie e cultivar, e possivelmente, entre lotes de uma mesma cultivar, em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos (Heydecker & Higgins, 1975; Bradford, 1986).

Em estudos de estresse hídrico com sementes de feijoeiro, Prisco e O'Leary (1970) constataram que o potencial hídrico de -0,8 MPa, induzido por polietileno glicol, inibiu mais a absorção de água pelas sementes do que o NaCl utilizado na mesma concentração. Nesse estudo, o potencial hídrico de -0,4 MPa reduziu igualmente a germinação em ambos os solutos testados.

As diferenças observadas no desenvolvimento de fungos em diferentes condições hídricas e interesses específicos de pesquisadores têm contribuído para o desenvolvimento de trabalhos que relacionam respostas fúngicas ao estresse hídrico induzido em diferentes substratos (Cook & Papendick, 1972, 1978; Morley & Williams, 1993; Gao & Shain, 1995; Alam & Joyce, 1996).

Em estudos com crescimento micelial de fungos em meios de cultura osmoticamente modificados com a adição de solutos iônicos e não-iônicos, vários pesquisadores constataram diferenças nesses organismos na habilidade de absorver água do ambiente, e existência de uma faixa de potencial hídrico adequada ao crescimento de cada espécie (Woods & Duniway, 1986; Kackley & Grybauskas, 1990).

Geralmente, os fungos têm seu crescimento máximo em potenciais hídricos em torno de -0,3 a -0,5 MPa, havendo reduções do crescimento na faixa de -4,0 a -5,0 MPa. O crescimento de *Pythium* spp é comprometido em potenciais mais negativos que -3,0 a -4,0 MPa. Fungos do gênero *Fusarium* crescem em potenciais hídricos mais negativos que -10,0 a -12,0 MPa e algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* podem crescer em potenciais hídricos mais negativos que -22,0 a -25,0 MPa (Cook & Papendick, 1978).

Vários trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar os efeitos da restrição hídrica em relação ao crescimento micelial de fungos em diferentes substratos (Gao & Shain, 1995; Alam & Joyce, 1996; Carvalho, 1999; Coutinho, 2000; Costa, 2000).

Meios de cultura com potenciais osmóticos entre -0,3 MPa e -1,0 MPa estimularam o crescimento micelial dos fungos *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. e *Alternaria alternata* (Fr.: Fr.) Keissl Nesse estudo, potenciais mais negativos que -1,0 MPa reduziram progressivamente o diâmetro das colônias. Os autores atribuíram o efeito estimulador do crescimento micelial dos fungos à absorção de solutos e a um melhor ajuste osmótico das células fúngicas, os quais proporcionaram maior turgor para extensão celular, e a redução do crescimento micelial aos efeitos diretos da restrição hídrica induzida pelos solutos utilizados (Alam & Joyce, 1996).

Em outros estudos, potenciais osmóticos entre -0,3 MPa e -2,0 MPa estimularam o crescimento micelial dos fungos *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* Thiegh., *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr, *Fusarium moniliforme* Sheld, *Fusarium graminearum* Schwabe e *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav.), enquanto meios de cultura com potenciais osmóticos mais negativos que -2,0 MPa reduziram o crescimento micelial desses fungos (Adebayo & Harris, 1971; Wearing & Burgess, 1979; Subbarao & Michailides, 1993; Gao & Shain, 1995; Carvalho, 1999).

Em estudos realizados por Coutinho (2000), o crescimento micelial dos principais fungos associados às sementes de arroz e feijoeiro não foi afetado em condições de restrição hídrica do meio BDA pela adição dos solutos NaCl, KCl e manitol em potenciais osmóticos entre -0,4 MPa e -0,9 MPa.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi conduzida no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras – MG.

3.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de algodoeiro e ocorrência de fungos

Os efeitos da restrição hídrica foram avaliados nas condições dos testes de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e em meio BDA.

Foram utilizadas sementes da cultivar Coodetec 404, produzidas na safra 1999/2000 no município de Campo Verde - MT, deslintadas com ácido sulfúrico (PA), e submetidas à assepsia superficial com hipoclorito de sódio 1% durante três minutos.

No método de incubação em papel de filtro, as sementes foram distribuídas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro (25 sementes/placa), contendo três folhas de papel de filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada esterilizada e com soluções osmóticas esterilizadas. No método de incubação em meio BDA, as sementes foram distribuídas em placas de Petri contendo 40 mL de meio BDA. O meio foi preparado utilizando-se 20g de ágar, 20g de dextrose e 200g de batata em 1000 mL de solução osmótica. Para os dois métodos, foram utilizadas soluções osmóticas preparadas com os solutos manitol e NaCl nos potenciais de -0,6 MPa, -0,8 MPa, -1,0 MPa e -1,2 MPa, além das testemunhas água e BDA (-0,35 MPa). Para fins de comparação, a inibição da germinação foi avaliada também na presença de 2,4-D na concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Para calcular as quantidades de NaCl e manitol utilizadas no preparo das soluções, nos diferentes níveis de potencial osmótico testados, foi utilizado o software SPPM (Michel e Radcliffe, 1995). A temperatura utilizada para os cálculos dos potenciais osmóticos foi de 20°C. As quantidades dos solutos utilizadas para o preparo das soluções encontram-se na tabela 1.

As placas contendo as sementes foram mantidas em câmara de incubação com temperatura de 20°C ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias. Ao final desse período, foram avaliados a porcentagem de germinação das sementes, o comprimento das plântulas (cm) e a porcentagem de ocorrência dos fungos.

As plântulas foram medidas com uma régua (precisão de 0,1 cm), da extremidade da radícula até a inserção dos cotilédones. A porcentagem de ocorrência dos fungos foi avaliada com auxílio de microscópio estereoscópico.

TABELA 1. Quantidades de manitol e NaCl usadas na preparação das soluções osmóticas nos diferentes níveis de potencial osmótico testados. UFLA, Lavras – MG, 2002.

Potencial osmótico (MPa)	Solução (1000 mL)	
	NaCl (g)	manitol (g)
- 0,6	7,70	43,60
- 0,8	10,30	57,50
- 1,0	12,90	71,30
- 1,2	15,60	84,70

3.1.1 Delineamento experimental

Os ensaios constaram de 10 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 50 sementes (2 placas de Petri de 15 cm de diâmetro). O esquema da análise de variância foi fatorial 2 x 4 + 2 (dois solutos, quatro potenciais osmóticos e dois tratamentos adicionais). Os tratamentos adicionais no teste de incubação em papel de filtro foram água e 2,4-D e no teste em meio agar foram BDA e 2,4-D.

3.1.2 Análise estatística

As análises estatísticas dos experimentos foram realizadas utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000). O contraste de médias para comparar tratamentos nos parâmetros avaliados foi realizado pelo teste de F.

As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) ou regressão, de acordo com a natureza dos dados, qualitativos ou quantitativos.

3.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica no desenvolvimento de alguns fungos transmitidos pelas sementes de algodoeiro em meio BDA

Os efeitos da restrição hídrica em relação ao desenvolvimento dos fungos foram avaliados por meio do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de todos os isolados, produção de conídios de *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Botryodiplodia theobromae*, peso de matéria fresca, peso de matéria seca e número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Os isolados de *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var *cephalosporioides* e *Botryodiplodia theobromae* foram obtidos de sementes de algodoeiro, naturalmente infectadas, pertencentes a lotes de sementes submetidos ao Laboratório de Patologia de Sementes, para análise sanitária. O isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* foi obtido de planta de algodoeiro, coletada na região do Alto Paranaíba. *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi obtido da coleção do Laboratório de Patologia de Sementes e o fungo *Rhizoctonia solani* foi obtido junto à EMBRAPA Agropecuária Oeste.

O meio BDA foi preparado utilizando-se 20g de ágar, 20g de dextrose e 200g de batata em 1000 mL de água destilada, os potenciais osmóticos foram ajustados para -0,6 MPa, -0,8 MPa, -1,0 MPa e -1,2 MPa, pela adição dos solutos NaCl e manitol.

O meio BDA modificado osmoticamente foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. No centro de cada placa, foi colocado um disco de micélio de 4 mm de diâmetro. Após a transferência dos discos, as placas foram mantidas em incubadora BOD com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias para os fungos *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, e durante três dias para os fungos *Botryodiplodia theobromae*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*.

Durante o período de incubação, foi feita a medição diária do diâmetro médio da colônia para determinar o IVCN (índice de velocidade de crescimento micelial), segundo fórmula utilizada por Oliveira, (1991).

$$\text{IVCM} = C_1/N_1 + C_2/N_2 + \dots + C_n/N_n$$

Em que:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial (cm);

C_1 , C_2 e C_n = crescimento micelial na primeira, segunda e n-ésima avaliação;

N_1 , N_2 e N_n = número de dias de avaliação.

Após o período de incubação, avaliou-se a produção de conídios de *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. De cada 3 placas contendo os fungos, obteve-se a suspensão de conídios por meio de lavagem e raspagem das colônias com água esterilizada e utilizando-se alça de Drigalsky. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer.

Após a avaliação do IVCN de *Sclerotinia sclerotiorum*, as placas foram mantidas em câmara BOD por 10 dias adicionais para produção de escleródios. Após a contagem, os escleródios foram retirados das placas e pesados em balança de precisão, sendo, em seguida, mantidos em estufa de secagem com circulação forçada de ar por três dias para verificar o peso seco.

Para *Botryodiplodia theobromae*, após a avaliação do IVCN, as placas foram mantidas em BOD por mais 21 dias para produzir picnídios. Após esse período, foi feita a determinação do número médio de conídios por meio da lavagem e maceração de picnídios contidos em 3 placas de Petri/repetição em 50 mL de água. A partir da suspensão obtida, fez-se a contagem dos esporos em câmara de Neubauer.

3.2.1 Delineamento experimental

O ensaio constou de 9 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições (5 placas de Petri de 9 cm de diâmetro). O esquema da análise de variância foi fatorial $2 \times 4 + 1$ (dois solutos, quatro potenciais osmóticos e um tratamento adicional). O tratamento adicional utilizado foi BDA sem adição de manitol e NaCl.

3.2.2 Análise estatística

As análises estatísticas dos experimentos foram realizadas utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000). O contraste de médias para comparar tratamentos nos parâmetros avaliados foi realizado pelo teste de F.

As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) ou regressão, de acordo com a natureza dos dados, qualitativos ou quantitativos.

Quando necessário, os dados foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$.

3.3 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas

Para este ensaio, as sementes foram submetidas inicialmente à assepsia superficial com hipoclorito de sódio 1% por três minutos e secas em temperatura ambiente durante 24 horas. Após a secagem, as sementes foram inoculadas separadamente com os fungos *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Botryodiplodia theobromae*.

O cultivo dos fungos foi realizado em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo BDA com potencial osmótico modificado por $-1,0$ MPa com o soluto manitol, segundo metodologia sugerida por (Machado et al., 2002), mantida em incubadora BOD à temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias.

Em cada placa contendo o fungo, foram colocadas 150 sementes em contato com a superfície das colônias. As placas foram agitadas inicialmente para que toda a superfície das sementes entrasse em contato com a colônia dos fungos. As placas foram mantidas em BOD à temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e

fotoperíodo de 12 horas pelos períodos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas, para obtenção de sementes com diferentes potenciais de inóculo. Após a inoculação, as sementes foram secas em temperatura ambiente por 24 horas.

Tanto as sementes inoculadas quanto as sementes livres dos patógenos foram distribuídas em caixas de gerbox (25 sementes/caixa) contendo três folhas de papel de filtro. Foram utilizados 25% de sementes inoculadas com cada fungo em relação às sementes não inoculadas. As folhas de papel foram esterilizadas e umedecidas com soluções de NaCl ou manitol no potencial osmótico de $-1,0$ MPa (Machado et al., 2002), ou ainda 2,4-D na concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Na preparação das soluções de manitol, NaCl e 2,4-D, foram adicionados 2g de ágar/litro de solução para melhor fixação das sementes ao papel de filtro durante o período de incubação. As sementes foram mantidas em câmara de incubação com temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias. Em decorrência do rápido crescimento micelial de *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, a avaliação da porcentagem de ocorrência dos patógenos nas sementes foi feita diariamente com auxílio de microscópio estereoscópico.

Os ensaios constaram de 3 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 50 sementes (2 placas de Petri de 15 cm de diâmetro), para cada fungo estudado.

As análises estatísticas dos experimentos foram realizadas utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000). O contraste de médias para comparar tratamentos com testemunha foi realizado pelo teste de F. As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeitos da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de algodoeiro e ocorrência de fungos

A análise estatística (Tabela 1A) revelou significância ($P \leq 0,05$) dos tratamentos para a porcentagem de germinação e comprimento de plântulas de algodoeiro nos testes de incubação em papel de filtro e meio BDA. Observou-se também o efeito significativo ($P \leq 0,05$) das interações entre soluto x potencial osmótico e fatorial x adicional no teste de incubação em papel de filtro; porém, no teste em meio BDA, foi detectado efeito significativo ($P \leq 0,05$) somente da interação entre fatorial x adicional.

Nos tratamentos com restrição hídrica, houve redução da porcentagem de germinação e do comprimento de plântulas em relação à utilização de água ou 2,4-D no substrato do teste em papel de filtro, evidenciando os efeitos da restrição hídrica. Pelos resultados, verifica-se a igualdade entre os solutos na redução da germinação das sementes e uma maior redução do comprimento das plântulas na presença do soluto NaCl no teste de incubação em papel de filtro (Tabela 2, Figuras 1 e 2).

Pelos resultados das equações de regressão linear e quadrática, verifica-se que a maior redução da porcentagem de germinação e do comprimento de plântulas no teste de incubação em papel de filtro foi obtida no potencial osmótico de $-1,2$ MPa para os dois solutos avaliados. No teste de incubação em BDA, observa-se que a maior redução da porcentagem de germinação foi verificada no potencial osmótico $-1,04$ MPa (Figuras 3 e 4).

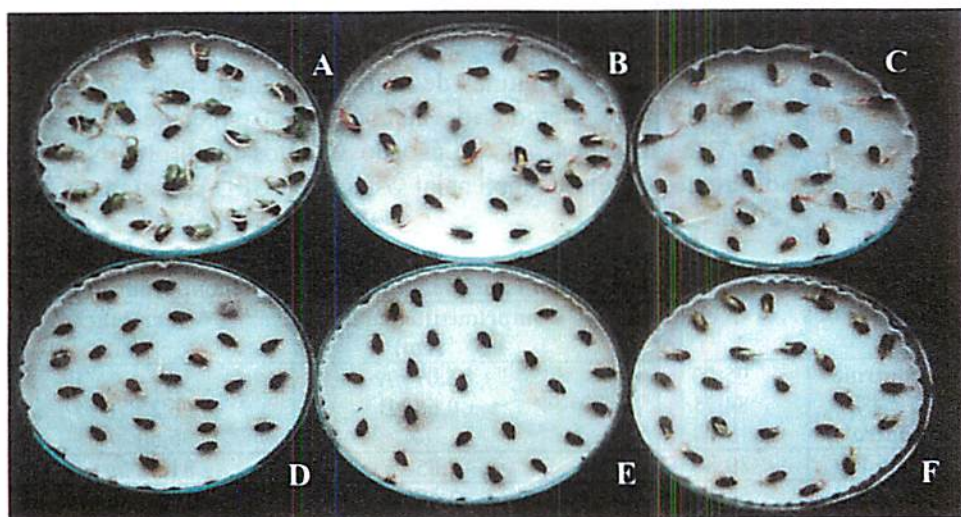


Figura 1. Germinação de sementes de algodoeiro submetidas à incubação em papel de filtro com água (A) e 2,4-D (F) e em restrição hídrica com manitol $-0,6$ MPa (B), $-0,8$ MPa (C), $-1,0$ MPa (D) e $-1,2$ MPa (E). UFLA, Lavras – MG, 2002.

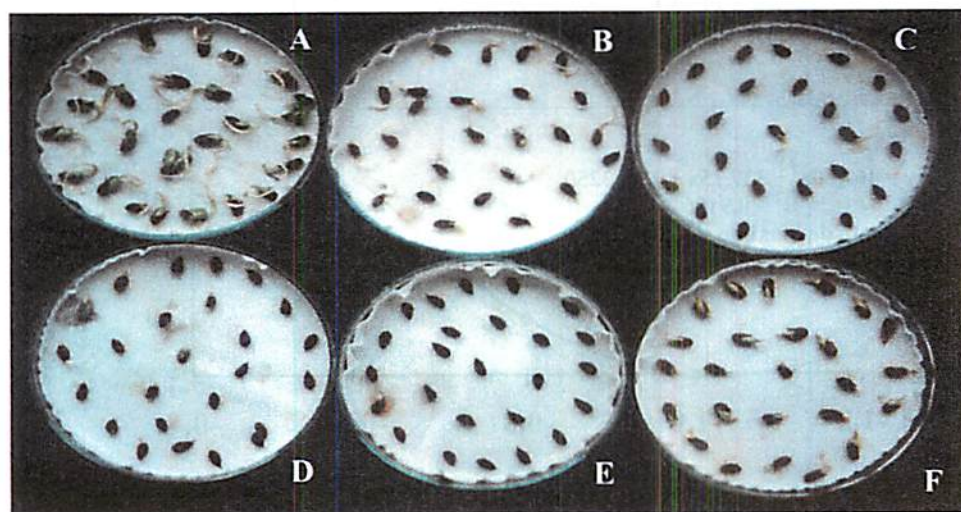


Figura 2. Germinação de sementes de algodoeiro submetidas à incubação em papel de filtro com água (A) e 2,4-D (F) e em restrição hídrica com NaCl $-0,6$ MPa (B), $-0,8$ MPa (C), $-1,0$ MPa (D) e $-1,2$ MPa (E). UFLA, Lavras – MG, 2002.

TABELA 2. Valores médios de porcentagem de germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e em BDA modificados pela adição dos solutos manitol e NaCl em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.

Tratamentos	Incubação em Papel de Filtro*		Incubação em BDA*
	Germinação (%)	Comprimento de plântulas (cm)	Germinação (%)
controle ¹	95,00 a	5,01 A	-
2,4-D	84,75 a	0,68 B	66,25 B
controle ²	-	-	96,50 A
média	89,86 a	2,85 a	81,38 a
manitol	63,13 a	2,48 a	10,75 a
NaCl	64,50 a	1,74 b	10,75 a
média	63,82 b	2,11 b	10,75 b

* = comparação dos tratamentos nas colunas

A, B = Teste de F significativo a 5% de probabilidade para tratamentos adicionais

a, b = Teste de F significativo a 5% de probabilidade para os solutos

a, *b* = Teste de F significativo a 5% de probabilidade para a interação fatorial x adicional

1 = água

2 = BDA

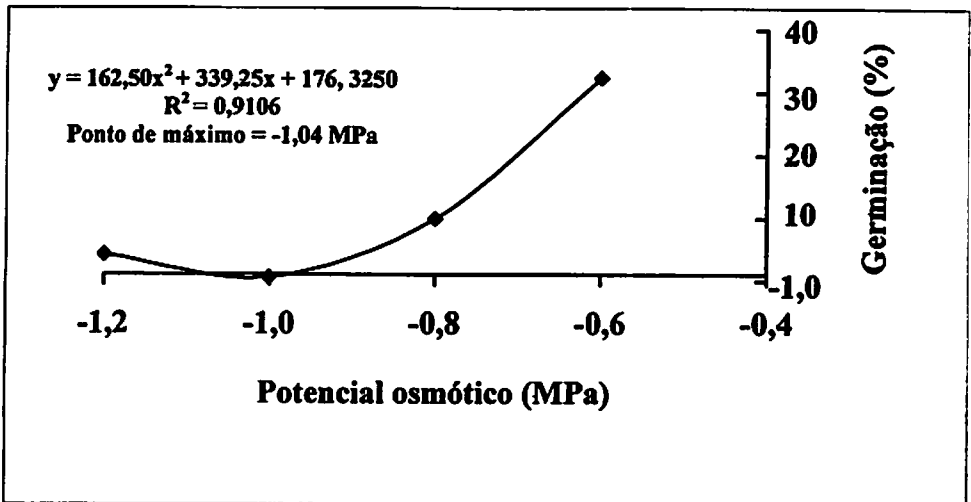


Figura 3. Análise de regressão relacionando a porcentagem de germinação de sementes em diferentes níveis de potencial osmótico no teste de incubação em meio BDA. UFLA, Lavras-MG, 2002.

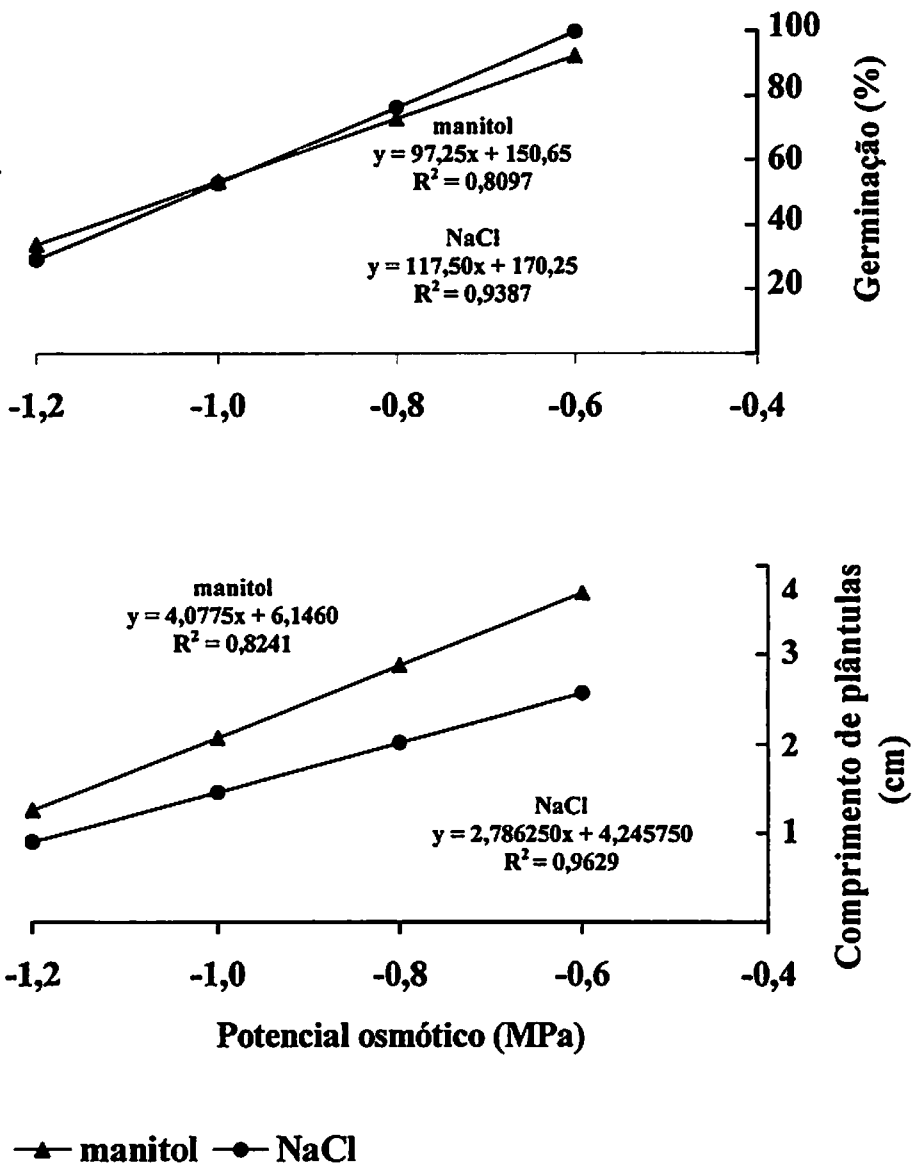


Figura 4. Análise de regressão relacionando a porcentagem de germinação de sementes e o comprimento de plântulas em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl pelo teste de incubação em papel de filtro. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Em relação à porcentagem de germinação e comprimento de plântulas no teste de incubação em papel de filtro, verificou-se uma relação negativa entre os potenciais osmóticos e essas variáveis, ou seja, ocorreu uma queda na porcentagem de germinação e no comprimento de plântulas em função dos potenciais osmóticos. No entanto, essa redução apresenta-se favorável à obtenção de resultados precisos no teste de incubação em papel de filtro, pois dificulta a ocorrência de contaminações secundárias entre as sementes durante o período de incubação, além de favorecer o exame das sementes e a detecção dos fungos desenvolvidos sobre essas.

Pelos resultados obtidos neste ensaio, verifica-se que a técnica de restrição hídrica induzida pela adição dos solutos manitol e NaCl ao substrato apresenta-se como uma alternativa convincente ao uso do 2,4-D na inibição e/ou retardamento da germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro, nos testes de incubação em papel de filtro e em BDA.

A redução acentuada da germinação de sementes em maiores concentrações de soluções osmóticas tem sido atribuída à redução da quantidade de água absorvida pelas sementes em meio salino, em decorrência da redução do potencial osmótico das soluções (Braccini et al., 1996). Segundo Van Der Moezel & Bell (1987), o soluto NaCl pode afetar a germinação, tanto pelo efeito osmótico, dificultando a absorção de água pelas sementes, como pelo efeito iônico, por facilitar a penetração de solutos nas células, em níveis tóxicos, ou então, pela combinação de ambos. Entretanto, Campos & Assunção (1990) atribuem o fato a uma aparente inibição da síntese e /ou atividade de enzimas hidrolíticas necessárias à germinação das sementes, provocada pelos sais em altas concentrações. De acordo com Braccini et al. (1996), existem evidências sugerindo que alguns agentes osmóticos de baixo peso molecular, como o manitol, podem penetrar nas sementes em germinação e induzir a fitotoxidez.

As condições para o condicionamento osmótico variam amplamente em função das características das sementes de cada espécie e cultivar, e possivelmente, entre lotes de um mesmo cultivar, em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos. Por causa desses fatores, são verificadas diferenças entre os solutos quanto à eficiência em reduzir e/ou retardar a germinação e o comprimento de plântulas (Heydecker & Higgins, 1975).

Pelos resultados referentes à porcentagem de ocorrência dos principais fungos detectados em sementes de algodoeiro nos testes de incubação em papel de filtro e BDA, observa-se que a restrição hídrica nos níveis testados não afetou a detecção dos fungos *Fusarium* spp, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* associados a amostra em estudo (Tabela 3).

Em trabalho conduzido por Coutinho (2000) para feijão e arroz, foi observado que a restrição hídrica induzida por manitol, NaCl e KCl nos potenciais osmóticos entre $-0,4$ a $-0,9$ MPa não interfere nos resultados do teste de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e ágar-água relativo aos principais fungos transmitidos pelas sementes dessas espécies.

TABELA 3. Porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em papel de filtro e em BDA modificados pela adição dos solutos manitol e NaCl em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.

Fungos	Tratamentos	Incubação em Papel de filtro					
		Potencial osmótico (MPa)					
		0,0	-0,6	-0,8	-1,0	-1,2	
<i>Fusarium</i> spp	controle ¹	14,0	-	-	-	-	
	2,4-D	14,0	-	-	-	-	
	manitol	-	28,0	26,0	16,0	19,0	
	NaCl	-	12,0	8,0	11,0	16,0	
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	controle	8,0	-	-	-	-	
	2,4-D	10,0	-	-	-	-	
	manitol	-	4,0	2,0	2,0	5,0	
	NaCl	-	3,0	4,0	2,0	4,0	
<i>Colletotrichum gossypii</i>	controle	3,0	-	-	-	-	
	2,4-D	0,0	-	-	-	-	
	manitol	-	0,0	4,0	5,0	2,0	
	NaCl	-	1,0	4,0	1,0	2,0	
<i>Colletotrichum gossypii</i> var <i>cephalosporioides</i>	controle	7,0	-	-	-	-	
	2,4-D	6,0	-	-	-	-	
	manitol	-	0,0	0,0	1,0	0,0	
	NaCl	-	3,0	0,0	0,0	1,0	
Incubação em BDA							
Fungos	Tratamentos	Potencial osmótico (MPa)					
		0,0	-0,35	-0,6	-0,8	-1,0	-1,2
<i>Fusarium</i> spp	controle ²	-	7,0	-	-	-	-
	2,4-D	0,0	-	-	-	-	-
	manitol	-	-	6,5	0,0	0,0	0,0
	NaCl	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	controle	-	0,0	-	-	-	-
	2,4-D	3,0	-	-	-	-	-
	manitol	-	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	NaCl	-	-	1,0	0,0	5,0	0,0
<i>Colletotrichum gossypii</i>	controle	-	0,0	-	-	-	-
	2,4-D	0,0	-	-	-	-	-
	manitol	-	-	0,0	0,0	0,0	1,0
	NaCl	-	-	0,0	0,0	1,0	0,0
<i>Colletotrichum gossypii</i> var <i>cephalosporioides</i>	controle	-	1,0	-	-	-	-
	2,4-D	1,0	-	-	-	-	-
	manitol	-	-	3,0	3,0	6,0	1,0
	NaCl	-	-	6,0	4,0	6,0	4,0

1 = água; 2 = BDA.

4.2 Efeitos da restrição hídrica no desenvolvimento de alguns fungos transmitidos pelas sementes de algodoeiro em meio BDA

Em relação a *Botryodiplodia theobromae*, observa-se que para produção de conídios houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) somente para a interação fatorial x adicional, em que o tratamento BDA proporcionou maior produção de conídios. Para o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) em todas as fontes de variação, sendo observado maior IVCM no uso do soluto manitol. Pela análise de regressão linear, verifica-se que o maior valor do IVCM foi obtido no potencial osmótico $-0,6$ MPa (Tabelas 4, 5 e 2A, Figura 5).

Para *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, verifica-se que todas as fontes de variação foram significativas ($P \leq 0,05$), com exceção de solutos para o IVCM e da interação soluto x potencial para a produção de conídios. Pelos resultados da análise de regressão linear e quadrática, observa-se que o maior valor de IVCM foi obtido no potencial osmótico $-0,6$ MPa na presença dos solutos manitol e NaCl, e a maior redução ocorreu no potencial osmótico $-0,95$ MPa para o soluto NaCl. O uso do soluto manitol proporcionou uma maior produção de conídios. Pelos resultados da análise de regressão quadrática, verifica-se que a máxima produção de conídios ocorreu no potencial osmótico $-0,86$ MPa (Tabelas 4, 5 e 2A, Figuras 5, 6 e 7).

Pelos resultados da análise de variância, observa-se que houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) de todas as fontes de variação para o IVCM de *Colletotrichum gossypii*. Para a produção de conídios, somente foram significativos os efeitos de tratamentos, potencial e da interação fatorial x adicional (Tabela 2A). Os maiores valores de IVCM foram observados na presença do soluto NaCl no potencial osmótico $-0,6$ MPa. Pelos resultados da análise de regressão quadrática, verifica-se que a máxima produção de conídios foi obtida no potencial osmótico $-0,9$ MPa (Tabelas 4 e 5, Figuras 6, 8 e 9).

TABELA 4. Índice de velocidade de crescimento micelial (cm) de *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Colletotrichum gossypii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em condições de restrição hídrica promovida pela adição de manitol e NaCl ao meio BDA em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.

Fungos	Tratamentos	Médias*	
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	controle ¹	6,06	A
	manitol	5,82 a	B
	NaCl	5,67 b	B
<i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	controle	3,09	A
	manitol	2,97 a	B
	NaCl	2,89 a	B
<i>Colletotrichum gossypii</i>	controle	2,71	A
	manitol	2,69 b	B
	NaCl	2,85 a	B
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	controle	2,94	A
	manitol	3,08 a	B
	NaCl	3,00 b	B
<i>Rhizoctonia solani</i>	controle	6,08	A
	manitol	4,24 a	B
	NaCl	4,24 a	B
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	controle	6,67	A
	manitol	6,11 a	B
	NaCl	4,84 b	B

* = comparação dos tratamentos nas colunas

a, b = Teste de F, significativo a 5% de probabilidade para os solutos.

A, B = Teste de F, significativo a 5% de probabilidade para a interação fatorial x adicional.

1 = BDA

TABELA 5. Produção de conídios de *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Colletotrichum gossypii* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, peso de matéria fresca (PF), peso de matéria seca (PS) e número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em condições de restrição hídrica promovida pela adição de manitol e NaCl ao meio BDA em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras – MG, 2002.

Fungos	Variáveis	Tratamentos	Médias*	
<i>B. theobromae</i>	Conídios x 10 ⁵ /mL	controle ¹	1,49	A
		manitol	0,38	a B
		NaCl	0,54	a B
<i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	Conídios x 10 ⁵ /mL	controle	26,67	A
		manitol	44,69	a B
		NaCl	39,39	b B
<i>C. gossypii</i>	Conídios x 10 ⁵ /mL	controle	44,08	A
		manitol	49,29	a B
		NaCl	51,12	a B
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	Macroconídios x 10 ⁵ /mL	controle	1,09	A
		manitol	0,64	b A
		NaCl	1,44	a A
	Microconídios x 10 ⁵ /mL	controle	65,01	A
		manitol	23,48	b B
		NaCl	33,39	a B
<i>S. sclerotiorum</i>	PF (g)	controle	1,38	A
		manitol	1,68	b B
		NaCl	2,08	a B
	PS (g)	controle	0,90	A
		manitol	1,10	b B
		NaCl	1,25	a B
	Nº escleródios	controle	37,13	A
		manitol	53,52	a B
		NaCl	41,62	b B

* = comparação dos tratamentos nas colunas

a, b = Teste de F, significativo a 5% de probabilidade para os solutos.

A, B = Teste de F, significativo a 5% de probabilidade para a interação fatorial x adicional.

1 = BDA

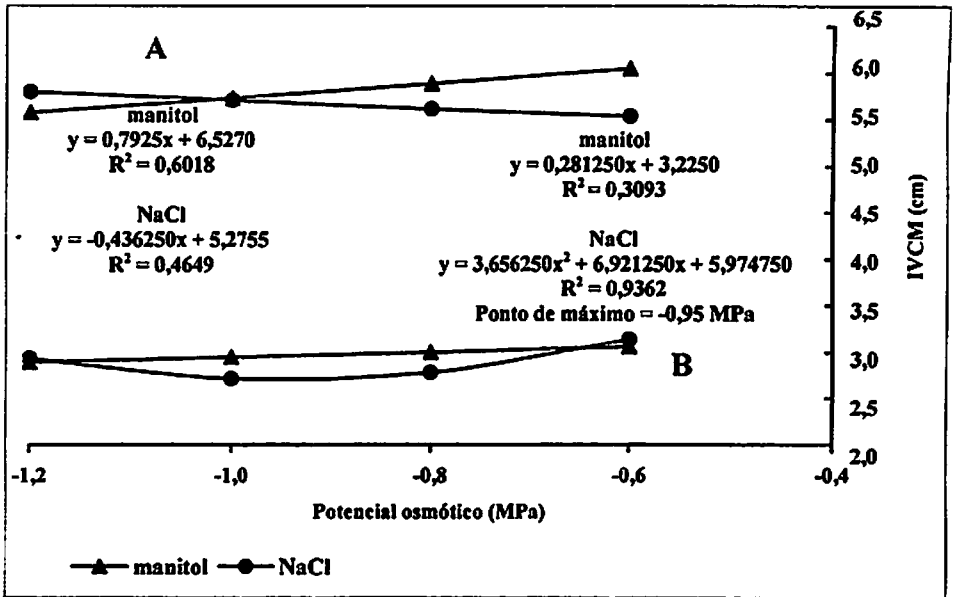


Figura 5. Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Botryodiplodia theobromae* (A) e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* (B) em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002.

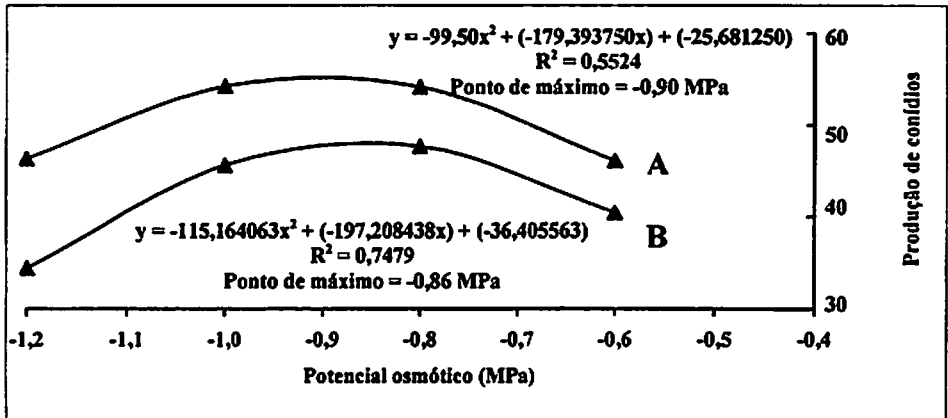


Figura 6. Análise de regressão relacionando a produção de conídios ($10^5/\text{mL}$) de *Colletotrichum gossypii* (A) e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* (B) em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002.

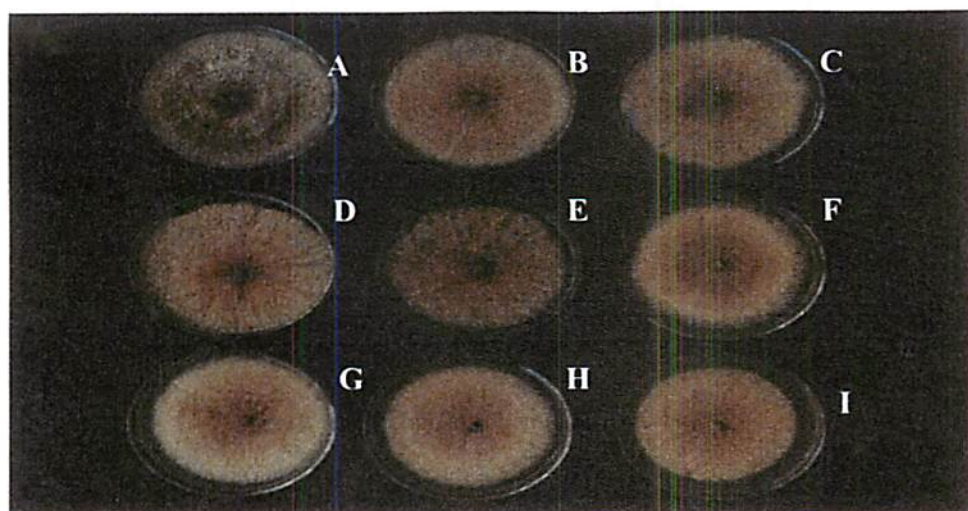


Figura 7. Crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em BDA (A) e BDA modificado por manitol -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D), -1,2 MPa (E) e NaCl -0,6MPa (F), -0,8 MPa (G), -1,0 MPa (H) e -1,2 MPa (I). UFLA, Lavras – MG, 2002.

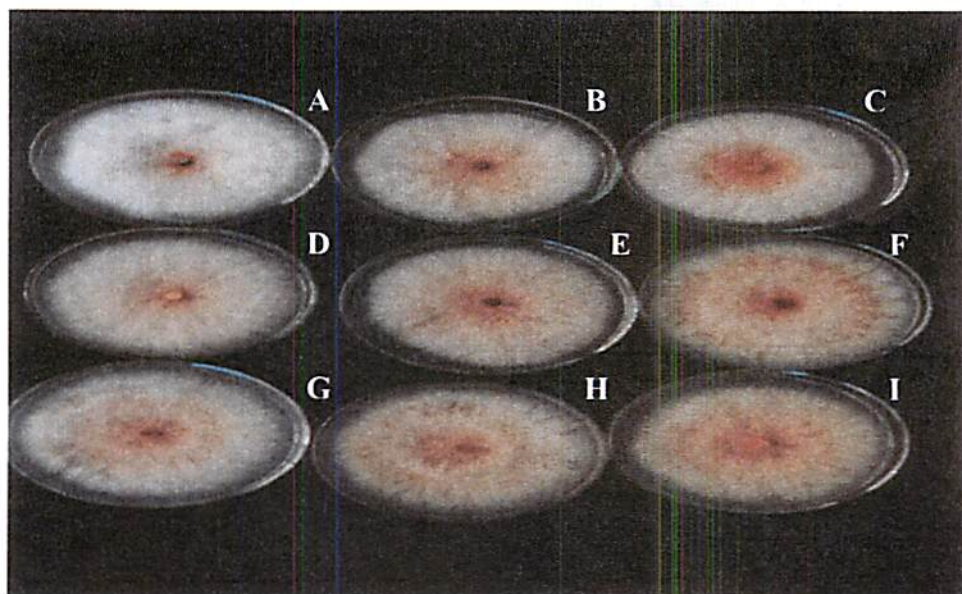


Figura 8. Crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii* em BDA (A) e BDA modificado por manitol -0,6 MPa (B), -0,8 MPa (C), -1,0 MPa (D), -1,2 MPa (E) e NaCl -0,6MPa (F), -0,8 MPa (G), -1,0 MPa (H) e -1,2 MPa (I). UFLA, Lavras – MG, 2002.

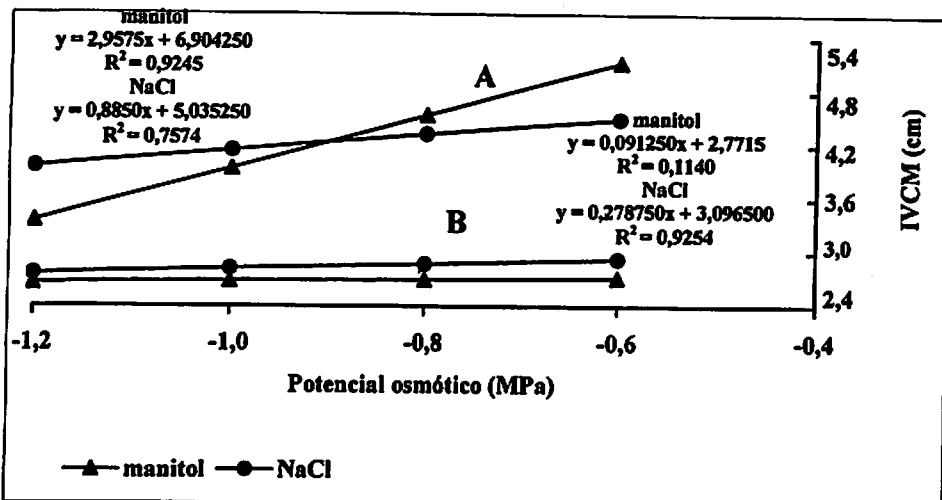


Figura 9. Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Rhizoctonia solani* (A) e *Colletotrichum gossypii* (B) em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002.

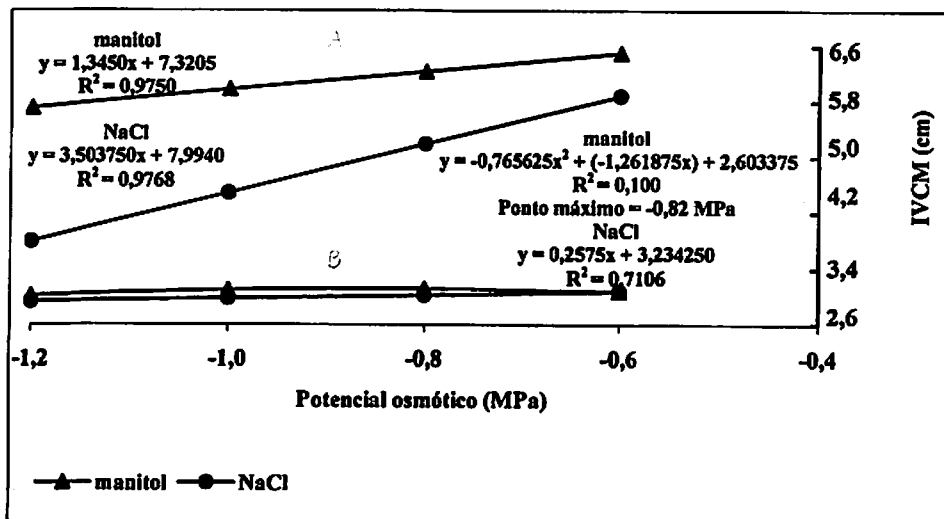


Figura 10. Análise de regressão relacionando o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Pelos resultados relativos a *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, verifica-se que houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) de todas as fontes de variação para o IVCM e das fontes tratamento e soluto para a produção de macroconídios e microconídios (Tabela 3A). O IVCM foi maior na restrição hídrica promovida pelo soluto manitol. Pela análise de regressão linear, verifica-se que no potencial osmótico de $-0,82$ MPa ocorreu o máximo aumento do IVCM. A maior produção de macroconídios e microconídios ocorreu na restrição hídrica induzida pela adição do soluto NaCl (Tabelas 4 e5, Figura 10).

Para *Rhizoctonia solani*, verificou-se efeito não significativo ($P \leq 0,05$) somente para a fonte de variação soluto no IVCM (Tabela 3A). Pelos resultados da análise de regressão linear, verifica-se um maior valor do IVCM no potencial osmótico $-0,6$ MPa (Tabela 4, Figura 9).

Para *Sclerotinia sclerotiorum*, observa-se que não houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) somente do potencial para o peso de matéria fresca de escleródios (PF) e da interação soluto x potencial para o peso de matéria seca (PS) e número de escleródios (Tabela 4A). O maior valor do IVCM foi obtido pela restrição hídrica com o soluto manitol. Os resultados da análise de regressão linear demonstram um maior IVCM no potencial osmótico $-0,6$ MPa. Os resultados do PF e PS de escleródios foram semelhantes, ocorrendo maiores valores na restrição hídrica induzida pelo soluto NaCl, sendo verificado pelos resultados da análise de regressão linear que o maior valor de PF e PS ocorreu no potencial osmótico $-0,6$ MPa. O maior número de escleródios foi observado na restrição hídrica com manitol, sendo verificado pelos resultados da análise de regressão linear um maior número de escleródios no potencial osmótico $-0,6$ MPa (Tabelas 4 e 5, Figuras 10 a 13).

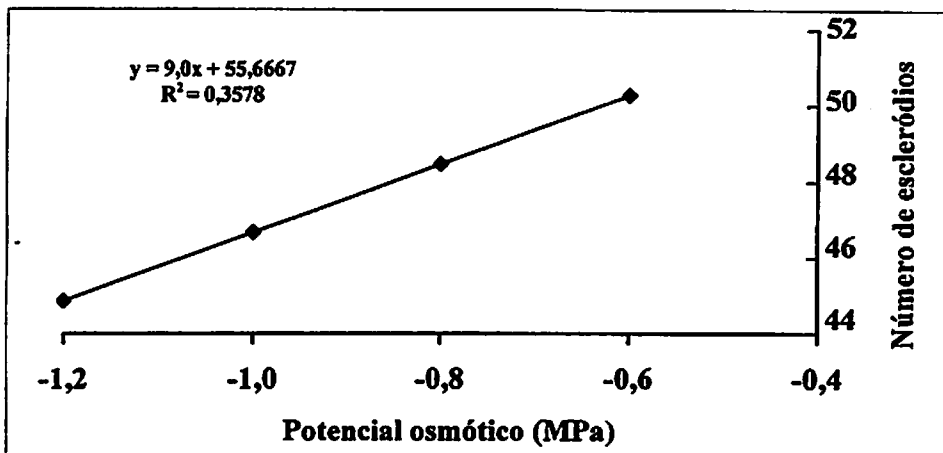


Figura 11. Análise de regressão relacionando o número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002.

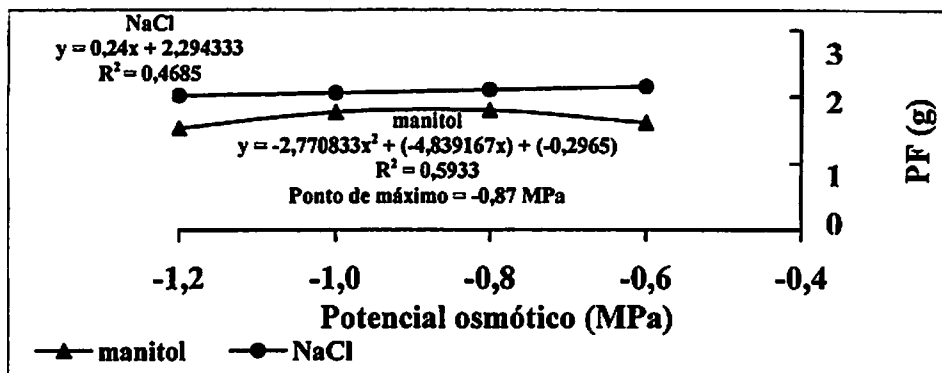


Figura 12. Análise de regressão relacionando o peso de matéria fresca (PF) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos manitol e NaCl. UFLA, Lavras-MG, 2002.

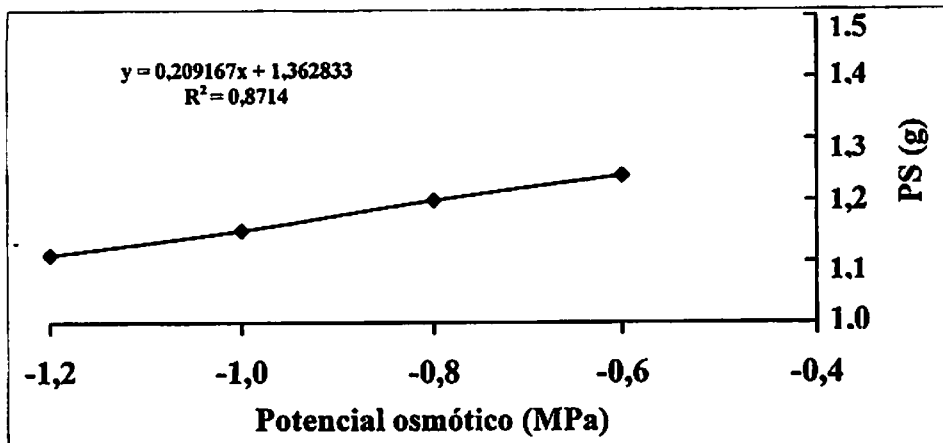


Figura 13. Análise de regressão relacionando o peso de matéria seca (PS) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Em estudos sobre crescimento micelial de fungos em meios de cultura osmoticamente modificados com a adição de solutos iônicos e não-iônicos vários pesquisadores têm constatado que esses organismos diferem na habilidade de absorver água do ambiente, e que existe uma faixa de potencial hídrico adequada ao crescimento de cada espécie (Woods & Duniway, 1986; Kackley & Grybauskas, 1990; Gao & Shain, 1995; Alam & Joyce, 1996; Carvalho, 1999; Coutinho, 2000; Costa, 2000).

Em estudo realizado por Gao & Shain (1995) com *Cryphonectria parasítica*, os autores observaram um maior crescimento micelial desse fungo em meio de cultura modificado osmoticamente com sacarose do que em meios de cultura modificados com NaCl, KCl e a mistura dos sais NaCl, KCl e NaSO₄ (5:3:2) em potenciais osmóticos semelhantes. Os autores atribuíram a utilização da sacarose como fonte adicional de energia pelo fungo e os efeitos tóxicos dos sais utilizados, principalmente em potenciais osmóticos mais negativos, como sendo os fatores responsáveis pelo crescimento diferenciado do fungo.

Os resultados observados neste trabalho com estudos realizados por Coutinho (2000), envolvendo avaliações de crescimento micelial dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* em meio BDA com restrição hídrica induzida pelos solutos manitol, NaCl e KCl nos potenciais osmóticos -0,4 MPa, -0,5 MPa, -0,6 MPa e -0,7 MPa. Nesses estudos, o IVCm dos fungos não foi afetado pela restrição hídrica.

Segundo observações feitas por Costa (2000), em trabalhos com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, a adição de sacarose, KCl e manitol até o potencial osmótico -0,92 MPa ao substrato BSA (batata-sacarose-ágar), provocou um aumento do crescimento micelial do fungo; porém, a partir desses potencial, o crescimento micelial do fungo passou a ser decrescente.

No presente estudo, o crescimento micelial dos fungos *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Sclerotinia sclerotiorum* foi reduzido pela utilização de NaCl em comparação ao uso de manitol, indicando um possível efeito tóxico desse sal no crescimento dos fungos. Porém, segundo Coutinho (2000), o maior crescimento micelial dos fungos em meio com manitol pode estar relacionado à utilização desse soluto como fonte adicional de energia pelos fungos ou a um melhor ajuste osmótico da célula fúngica pela absorção dos solutos, permitindo maior turgor para a extensão celular.

4.3 Efeitos da restrição hídrica na ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas

Para todos os fungos considerados, não houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) de tratamentos (Tabela 5A) sobre a porcentagem de ocorrência desses em sementes de algodoeiro, indicando que a restrição hídrica não apresenta efeito negativo no desenvolvimento e detecção de *Colletotrichum gossypi*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Botryodiplodia theobromae* no teste de incubação em papel de filtro (Tabela 6).

Apesar de não ter sido observada diferença significativa entre os tratamentos, a porcentagem de ocorrência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi reduzida em até 40% com o uso do 2,4-D (método padrão) quando comparada aos tratamentos com restrição hídrica induzida pelos solutos manitol e NaCl. Esses resultados indicam a ocorrência de efeito fungitóxico do 2,4-D em relação a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, nas condições do teste de incubação em papel de filtro.

Conforme já referido no item 4.1 deste trabalho, é oportuno registrar que a restrição hídrica induzida pela adição de manitol, NaCl e KCl nos potenciais de $-0,4$ a $-0,9$ MPa. Não afetou o desenvolvimento e detecção de fungos associados às sementes de arroz e feijão submetidas à incubação em papel de filtro (Coutinho, 2000).

Os resultados deste estudo reforçam estudos conduzidos anteriormente por Carvalho (1999) e Costa (2000). Nesses trabalhos, os quais trataram do estabelecimento de metodologias de inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro, verificou-se que a exposição das sementes a níveis crescentes de potencial hídrico levou a taxas crescentes de ocorrência dos fungos nas sementes analisadas pelo teste de incubação utilizado.

TABELA 6. Porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro inoculadas e submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro padrão (2,4-D) e papel de filtro com restrição hídrica (manitol e NaCl, -1,0 MPa). UFLA, Lavras – MG, 2002.

Tratamentos	Ocorrência (%)			
	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	<i>Botryodiplodia</i> <i>theobromae</i>	<i>Colletotrichum</i> <i>gossypii</i>	<i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>
2,4-D	6,25 a	24,48 a	24,45 a	24,44 a
manitol	15,64 a	25,00 a	24,48 a	24,44 a
NaCl	13,02 a	24,48 a	24,96 a	23,96 a
CV (%)	60,76	3,43	22,05	29,19

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em função do rápido crescimento micelial de *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Botryodiplodia theobromae* no substrato do teste de incubação em papel de filtro, algumas dificuldades foram percebidas no exame de sementes portadoras destes fungos ao final do período de incubação. A adição de uma baixa quantidade de agar na solução utilizada para umedecer o papel de filtro pode ter contribuído para o referido crescimento mais rápido.

Para contornar esse tipo de problema, torna-se necessária a adição ao substrato do teste de sanidade de algum(s) composto(s) fungicida(s). A adição, por exemplo, de doses baixas de iprodione e de dicloram ao papel de filtro para redução do crescimento de *Botryodiplodia theobromae* e *Rhizopus stolonifer* é uma alternativa bem sucedida utilizada por Machado e Langerak (1993). Embora a adição de baixas doses dos fungicidas nestes casos não deva afetar os potenciais hídricos do substrato, é prudente realizar, no entanto, estudos adicionais nesta direção.

5 CONCLUSÕES

- O uso da restrição hídrica induzida por manitol e NaCl, nos potenciais osmóticos -0,6 MPa, -0,8 MPa, -1,0 MPa e -1,2 MPa, reduz e/ou retarda a porcentagem de germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro nos testes de incubação de sementes em níveis similares ao 2,4D (sal de diclorofenoxiacetato de sódio).
- A restrição hídrica em meio BDA reduz o crescimento micelial dos fungos estudados em potenciais osmóticos mais negativos que -0,6 MPa.
- A restrição hídrica em meio BDA, induzida pelos solutos manitol e NaCl, reduz de modo geral, a frutificação dos fungos estudados nos potenciais osmóticos mais negativos que -0,8 MPa.
- A restrição hídrica induzida pelos solutos manitol e NaCl no potencial osmótico -1,0 MPa não interfere no desenvolvimento e detecção dos fungos *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 65, n. 3, p. 300-309, Jan/June. 1975.

ADEBAYO, A.A.; HARRIS, R.F. Fungal growth responses to osmotic as compared to matric water potential. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v. 85, n. 3, p. 465-469, May/June. 1971.

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.

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.F.V.; HENNING, A.A. Doenças da soja (*Glycine Max* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, cap 61, p. 642-664.

AMARAL, E.A.S. da; VIEIRA, M.G.G.C.; SANTOS, C.D. Avaliação da influência de diferentes potenciais osmóticos no índice de crescimento de *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. em meio de cultura. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15., 1996, Gramado, RS, e WORKSHOP SOBRE MARKETING EM SEMENTES E MUDAS, 3., 1996, Gramado, RS. *Anais...* Gramado: CESM/FELAS, 1996. p. 93.

ATHOW, K.L. *Soybeans - Improvement. Production and Uses*. Madison, American Society of Agronomy, 1973. p. 459-489.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2. Ed., New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRACCINI, A. de L. *Relação entre potencial hídrico, condicionamento osmótico e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine Max* (L) Merrill)*. 1996. 135 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BRACCINI, A. de L.; RUIZ, H.A.; BRACCINI, M. do C.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**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 10-16, 1996.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **Hortscience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, Oct. 1986.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: LANARV/SNAD/MA, 1992. 360p

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

CAMPOS, I.S.; ASSUNÇÃO, M.V. Efeitos do cloreto de sódio na germinação e vigor de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 25, n. 6, p. 837-43. jun. 1990.

CARVALHO, J.C.B. de. **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1999. 98 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência tecnologia e produção**. 4ªed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q. **Doenças do algodoeiro: Diagnose e Controle**. 1ªed. Cuiabá. 2000. 47p.

CIA, E.; SALGADO, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M., ed. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 33-48.

COOK, J.R.; PAPENDICK, R.I. Influence of Water potencial of soils and 3555 plants on roost disease. In: BAKER, K.F.; ZENTMYER, G.A.; COULING, E.B. (ed.). **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 10, p. 349-374, 1972.

COOK, J.R.; PAPENDICK, R.I. Role of water potential in microbial growth and development of plant disease, with special reference to postharvest pathology, *Hort Science*, Alexandria, v. 13, n. 5, p. 559-564, Oct. 1978.

COSTA, M.L.N. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro por meio da restrição hídrica. 2000. 70p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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 Agronomia / Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

EIRA, M.T.S. da. Condicionamento osmótico de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.): efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresses hídrico, salino e térmico. 1988. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. Programa e Resumos... São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

GAO, S.; SHAIN, L. Effect of osmotic potential on virulent and hypovirulent strains of the chestnut blight fungus. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v. 25, n. 6, p. 1024-1029, June. 1995.

GONDIM, D.M.C.; BELOT, J.L.; SILVIE, P. et al. Manual de identificação das pragas, doenças, deficiências minerais e injúrias do algodoeiro no Brasil. 3ª ed. Cascavel, PR, COODETEC/CIRAD-CA. 1999. 120 p. (Boletim Técnico, 33).

GOULART, A.C.P. Principais fungos transmitidos pelas sementes de soja, feijão, milho e algodão. *Correio Agrícola*, São Paulo, n. 2, p. 18-21, 1995.

GOULART, A.C.P. Tratamento de sementes de algodão com fungicidas para o controle do tombamento causado por *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 23, Suplemento, p. 247. 1998.

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

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y.J. Invigoration of seeds? *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 3, n. 3, p. 881-888, 1975.

ISTA (International Seed Testing Association), Seed Health Testing, *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 4, n. 1, p. 152-155, 1976.

ISTA (International Seed Testing Association). **Handbook on seed health testing**. Zürich, 1981. n.p. (Working Sheets. Section 42).

JULIATTI, F.C.; RUANO, O. Algodão (*Gossypium hirsutum* L.): Controle de doenças. In: VALE, F. X.R.; ZAMBOLIM, L. (ed.) **Controle de Doenças de Plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. v. 2, p. 555-558. 1997.

KACKLEY, K.E.; GRYBAUSCAS, A.P.; DERNOEDEN, P.H. Growth of *Magnaporthe poae* and *Gaeumannomyces incrustans* as affected by temperature-osmotic potential interactions. *Phytopathology*, St. Paul, v. 80, n. 7, p. 646-650, July. 1990.

KIMATI, H. Doenças do algodoeiro. In: **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 2ed. São Paulo: Ceres, 1980. v. 2, p. 29-48.

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

LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. *Proceedings of International Seed Testing Association*, Wagenigen, v. 33, n. 3, p. 343-513, 1968.

MACHADO, J da C.; LANGERAK, C.J. Improvement of a blotter method to detect economically important fungi associated with seeds of cotton, In: **ISTA PLANT DISEASE COMMITTEE SYMPOSIUM ON SEED HEALTH TESTING**, 1., 1993, Ottawa: ISTA, 1993. p. 48-58.

MACHADO, J da C.; OLIVEIRA, J.A.de.; VIEIRA, M.G.G.C.; ALVES, M de C. Uso de manitol como restritor hídrico em meio de cultura visando a infecção por fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*).2002. no prelo.

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

MARSH, P.B.; GHITHRIE, L.R.; BOLLENBACHER, K.; HARRELL, D.C. Observations on microbiological deterioration of cotton fiber during the period of boll opening in 1949. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 34, n. 2, p.165-175. Feb. 1950.

MENTEN, J.O.M.; PARADELA, A.L. Tratamento químico de sementes de algodão para controle de *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 60, jan./mar. 1996.

MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D. 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.

MORLEY, T.B.; WILLIAMS, B.L.; PRICE, T.V. The effects of water stress on the incidence and severity of paspalum leaf blight and on *Ascochyta paspali*. **Australian Plant Pathology**, Melbourne, v. 22, n. 3, p. 105-110, 1993.

NEERGAARD, P. Detection of seed-borne pathogens by culture tests. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 1, p. 217-254, 1973.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Macmillan Press, 1979. v. 2, 839 p.

OLIVEIRA, E. Aspectos patológicos de *Botryodiplodia theobromae* Pat. Em relação a sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). 1994. 127 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitossanidade) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). 1991. 111 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PAIVA, F. de A. **Algodão: informações técnicas**. Dourados: EMBRAPA – CPAO; Campina Grande: EMBRAPA – CNPA, 1998. 267 p. (EMBRAPA – CPAO. Circular Técnica, 7).

PASSOS, S.M. de G. **Algodão**. Campinas: [s.n.], 1982. 424 p.

PILL, W.G. Low Water potential and pressing germination treatments to improve seed quality. In: BARSA, A.S. (ed.) **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products Press, 1994. p. 319-359.

PIZZINATO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 331-346.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289 p.

POZZA, E.A.; JULIATTI, F.C. Tratamento de sementes com fungicidas no controle de doenças iniciais do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 384-389, set. 1994.

PRISCO, J.T.; O'LEARY, J.W. Osmotic and "toxic:" effects of salinity on germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. **Turrialba**, San José, v. 20, n. 2, p. 177-184, Abr-Jun. 1970.

PURDY, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 8, p. 875-880, Aug. 1979.

SANTOS, C.M. dos; ALVARENGA, A. de P.; SILVA, R.F. da; ZAMBOLIM, L. Influência do substrato e do tratamento fungicida, na germinação e na incidência de fungos em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 151-154, 1992.

SANTOS, G.R.; ZAMBOLIM, 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.

SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R. Factors affecting sclerotium populations of, and apothecium production by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 68, n. 3, p. 383-388, Mar. 1978.

SILVA, J.B.; MATOS, J.A.R.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Efeito da bacterização de sementes de algodoeiro no controle de *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 3, p. 342-348, set. 1996.

SINCLAIR, J.B. *Cotton seedling diseases and their control*. Baton Rouge: Louisiana State University, 1965. 35 p.

SÖBREIRA, D.G. Qualidade fisiológica e detecção de fungos em alguns lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidas no Estado de Minas Gerais, Safra 1985/86. 1988. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SUBBARAO, K.V.; MICHAILIDES, T.J.; MORGAN, D.P. Effects of osmotic potential and temperature on growth of two pathogens of figs and a biocontrol agent. *Phytopathology*, St. Paul, v. 83, n. 12, p. 1454-1459, Dec.1993.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Colletotrichum gossypii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 17, n. 2, p. 218-226. abr./jun. 1991.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M. Variação patogênica e fisiológica de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro. *Summa Phytopathologica*. Piracicaba, v. 18, p. 139-145. 1992.

TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M.; MARIANNO, M.I.A. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno. *Summa Phytopathologica*. Jaguariúna, v. 15, n. 3/4, p. 232-237, jul./dez. 1989.

VAN DER MOEZEL, P.G.; BELL, D.T. The effect of salinity on the germination of some Western Australian *Eucalyptus* and *Melaleuca* species. *Seed Science & Technology*, Zürich. v. 15, n. 1, p. 239-46. 1987.

VASQUES, G.H. Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento. 1995. 138 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

WANJURA, D.F.; BUXTON, D.R. Hypocotyl and racicle elongation of cotton as affected by soil environment. *Agronomy Journal*, v. 64, n. 4, p. 431-434. July/Aug. 1972.

WATCKINS, G.M. (ed) **Compendium of cotton diseases**. St. Paul: APS Press, 1981. 87 p.

WEARING, A.H.; BURGESS, L.W. Water potential and the saprophytic growth of *Fusarium roseum* 'Graminearum'. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 11, n. 6, p. 661-667, 1979.

WILKES, L.H.; COCHRAN, B.J.; NILES, G.A. Effects of soil temperature on emergence and development of cotton. *Transactions of the ASAE*, St. Joseph, v. 15, n. 4, p. 511-516. Aug. 1970.

WOODS, D.M.; DUNIWAY, J.M. Some effects of water potential on growth, turgor, and respiration of *Phytophthora cryptogea* and *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, n. 11, p. 1248-1254, Nov. 1986.

YORINORI, J.T.; HOMECHIN, M.; JASTER, F. Avaliação da reação de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Resultados de Pesquisa de Soja – 1985/86**. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, 1987a. p. 242.

YORINORI, J.T.; HOMECHIN, M.; PAVEI, J.N. Determinação dos efeitos de sistemas de rotação/sucessão de culturas na incidência de *sclerotinia sclerotiorum* em soja. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Resultados de Pesquisa de Soja – 1985/86**. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, 1987b. p. 212-219. (Documentos, 20).

ANEXOS

ANEXO A

Página

- TABELA 1A Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem de germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro nos testes de incubação em papel de filtro e BDA. UFLA, Lavras - MG, 2002..... 51
- TABELA 2A Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e produção de esporos de *Botryodiplodia theobromae* *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Colletotrichum gossypii*. UFLA, Lavras - MG, 2002..... 52
- TABELA 3A Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e produção de conídios de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Rhizoctonia solani*. UFLA, Lavras - MG, 2002..... 53
- TABELA 4A Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), peso de matéria fresca (PF), peso de matéria seca (PS) e número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFLA, Lavras - MG, 2002..... 54
- TABELA 5A Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro inoculadas e submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro padrão (2,4D) e papel de filtro com restrição hídrica. UFLA, Lavras - MG, 2002..... 55

TABELA 1A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem de germinação de sementes e comprimento de plântulas de algodoeiro nos testes de incubação em papel de filtro e BDA. UFLA, Lavras - MG, 2002.

FV	GL	Quadrado Médio		
		Papel de filtro		BDA
		Comprimento de plântulas (cm)	Germinação (%)	Germinação (%)
Tratamento	9	7,55 *	3467,07 *	4729,38 *
Soluto	1	4,36 *	15,13 ns	0,00 ns
Potencial	3	6,55 *	6732,46 *	1775,00 *
Soluto x Potencial	3	0,98 *	304,46 *	39,00 ns
Adicional	1	37,50 *	210,13 *	1830,13 *
Fatorial x Adicional	1	3,51 *	9867,58 *	35292,27 *
Resíduo	30	0,11	73,80	32,33
CV (%)		14,80	12,38	22,04

* = Teste de F significativo a 5% de probabilidade

ns = Teste de F não-significativo

TABELA 2A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e produção de conídios de *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Colletotrichum gossypii*. UFLA, Lavras - MG, 2002.

FV	GL	Quadrado Médio					
		<i>Botryodiplodia theobromae</i>		<i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>		<i>Colletotrichum gossypii</i>	
		IVCM (cm)	Conídios ¹ 10 ⁵ /mL	IVCM (cm)	Conídios 10 ⁵ /mL	IVCM (cm)	Conídios 10 ⁵ /mL
Tratamento	8	0,21 *	0,05 ns	0,10 *	472,50 *	0,04 *	347,61 *
Soluto	1	0,17 *	0,05 ns	0,05 ns	225,09 *	0,19 *	26,64 ns
Potencial	3	0,18 *	0,04 ns	0,15 *	375,20 *	0,03 *	305,97 *
Soluto x Potencial	3	0,21 *	0,03 ns	0,07 *	46,60 ns	0,01 *	4,05 ns
Fatorial x Adicional	1	0,35 *	0,15 *	0,08 *	2289,56 *	0,01 *	1824,19 *
Resíduo	27	0,02	0,03	0,02	51,57	0,005	97,10
CV (%)		2,16	17,40	4,34	18,31	2,50	20,66

* = Teste de F significativo a 5% de probabilidade

ns = Teste de F não-significativo

1 = dados transformados para $(x + 0,5)^{1/2}$

TABELA 3A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e produção de conídios de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Rhizoctonia solani*. UFLA, Lavras - MG, 2002.

FV	GL	Quadrado Médio			
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>	
		IVCM (cm)	Macroconídios ¹ 10 ⁵ /mL	Microconídios ¹ 10 ⁵ /mL	IVCM (cm)
Tratamento	8	0,02 *	0,14 *	1,73 *	2,55 *
Soluto	1	0,05 *	0,80 *	6,27 *	0,0001 ns
Potencial	3	0,02 *	0,006 ns	0,49 ns	2,01 *
Soluto x Potencial	3	0,01 *	0,09 ns	0,64 ns	0,79 *
Fatorial x Adicional	1	0,04 *	0,07 ns	4,15 *	1,99 *
Resíduo	27	0,002	0,04	0,72	0,02
CV (%)		1,36	16,58	15,63	2,90

* = Teste de F significativo a 5% de probabilidade

ns = Teste de F não-significativo

1 = dados transformados para $(x + 0,5)^{1/2}$

TABELA 4A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), peso de matéria fresca (PF), peso de matéria seca (PS) e número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. UFLA, Lavras - MG, 2002.

FV	GL	Quadrado Médio			
		IVCM (cm)	Nº escleródios	PF (g)	PS (g)
Tratamento	8	3,68 *	201,47 *	0,25 *	0,05 *
Soluto	1	12,89 *	849,66 *	0,97 *	0,12 *
Potencial	3	3,19 *	90,55 *	0,04 ns	0,02 *
Soluto x Potencial	3	0,66 *	66,73 ns	0,08 *	0,02 ns
Fatorial x Adicional	1	5,05 *	290,28 *	0,65 *	0,20 *
Resíduo	27	0,04	33,50	0,02	0,007
CV (%)		3,39	12,47	8,57	7,56

* = Teste de F significativo a 5% de probabilidade

ns = Teste de F não-significativo

TABELA 5A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem média de ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro inoculadas e submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro padrão (2,4D) e papel de filtro com restrição hídrica. UFLA, Lavras - MG, 2002.

FV	GL	Quadrado Médio			
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	<i>Botryodiplodia</i> <i>theobromae</i>	<i>Colletotrichum</i> <i>gossypii</i>	<i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>
Tratamento	2	93,89 ns	0,36 ns	0,33 ns	0,31 ns
Resíduo	9	49,99	0,71	2,47	4,88
CV (%)		60,76	3,43	6,38	9,09

ns = Teste de F não-significativo