

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Colletotrichum gossypii* var.
cephalosporioides NAS SEMENTES E SUA
INFLUÊNCIA NA EPIDEMIA DA RAMULOSE DO
ALGODOEIRO**

DEJÂNIA VIEIRA DE ARAÚJO

2004

57586
049283

DEJÂNIA VIEIRA DE ARAÚJO

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*
NAS SEMENTES E SUA INFLUÊNCIA NA EPIDEMIA DA RAMULOSE
DO 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. Dr. Edson Ampélio Pozza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

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

Araújo, Dejánia Vieira de

Níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro / Dejánia Vieira de Araújo. -- Lavras: UFLA, 2004.

87 p. : il.

Orientador: Edson Ampélio Pozza.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Epidemiologia. 2. *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. 3. Semente. 4. Algodão. 5. Ramulose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.5194

DEJÂNIA VIEIRA DE ARAÚJO

**NÍVEIS DE INÓCULO DE *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*
NAS SEMENTES E SUA INFLUÊNCIA NA EPIDEMIA DA RAMULOSE
DO 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”.

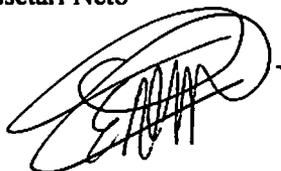
APROVADA em 18 de fevereiro de 2004

Prof. Dr. José da Cruz Machado

UFLA

Prof. Dr. Daniel Cassetari Neto

UFMT



Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza
Departamento de Fitopatologia/UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus,

Por me conceder a vida

OFEREÇO.

Aos meus pais, Cícero e Antonia, pelo amor mais sincero e pelo apoio
incondicional.

Aos meus irmãos, Francisca, Deuzanira, Deurival, Edval, Deurilene, Edmilson,
Edilson e Evanilson, pelo incentivo.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, por meio do Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Fundação de Apoio a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza pela orientação e apoio, muito importantes na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José da Cruz Machado pelo incentivo, confiança e valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. Daniel Cassetari Neto por ser o iniciador do meu trabalho em Fitopatologia.

Ao Dr. Milton Fuzzato do Instituto Agronômico de Campinas pelas sementes cedidas.

Ao Prof. Fabyano Fonseca e Silva pela orientação nas análises estatísticas.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos e experiências, muito importantes na minha formação profissional.

Aos colegas do departamento, em especial do Laboratório de Patologia de Sementes, pela amizade, companheirismo e boa convivência.

Aos amigos, Elisandra, Fabiane, Josimar, Enia Mara, Florisvalda, Paulo, Marcella, Patrícia Trentini, Valquíria, Beatriz e Evando pela amizade e ajuda incondicional na execução e/ou elaboração desse trabalho.

A todos que tive a oportunidade de conhecer e, de alguma forma, me proporcionaram momentos felizes nessa cidade tão acolhedora.

Aos meus pais, pelos ensinamentos valiosos: respeito, dignidade e humildade para com o próximo.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral.....	2
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Ramulose ou superbrotamento do algodoeiro.....	4
2.2 Disseminação de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	4
2.3 Transmissão de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> pela semente e o progresso da ramulose do algodoeiro.....	5
2.4 Influência da temperatura na transmissibilidade de patógenos.....	10
2.5 Inoculação de sementes para obtenção de diferentes potenciais de inóculo.....	11
3 Referências Bibliográficas.....	14
CAPÍTULO 2 Relação entre níveis de inóculo de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> nas sementes e o progresso da ramulose do algodoeiro.....	21
1 Resumo.....	22
2 Abstract.....	23
3. Introdução.....	24
4 Material e métodos.....	26
4.1 Área experimental.....	26
4.2 Preparo da área experimental.....	26
4.3 Delineamento experimental e condução do experimento.....	26
4.4 Análise e inoculação de sementes.....	27
4.5 Emergência em campo, estande final e intensidade da doença.....	28

4.6 Análise do progresso temporal da doença.....	29
4.7 Análise espacial da doença.....	30
4.8 Dados meteorológicos.....	30
4.9 Produção de algodão em caroço.....	30
4.10 Transmissibilidade planta-semente.....	31
4.11 Análise dos dados.....	32
5 Resultados e discussão.....	33
5.1 Emergência e estande final de plântulas de algodoeiro.....	33
5.2 Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS) da ramulose.....	34
5.3 Variáveis climáticas e curva de progresso da ramulose.....	37
5.4 Análise do progresso espacial da doença.....	41
5.5 Transmissibilidade do patógeno da planta para a semente.....	45
5.6 Produção de algodão em caroço.....	48
6 Conclusões.....	49
7 Referências Bibliográficas.....	50
CAPÍTULO 3 Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes na transmissibilidade de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	55
1 Resumo.....	56
2 Abstract.....	57
3 Introdução.....	58
4 Material e métodos.....	60
4.1 Delineamento experimental e condução do experimento.....	60
4.2 Análise de sementes e inoculação do patógeno.....	60
4.3 Teste de sanidade das sementes.....	61
4.4 Porcentagem de germinação e de plântulas sobreviventes.....	61
4.5 Incidência e severidade da doença.....	62

4.6 Análise dos dados.....	62
5 Resultados e discussão.....	63
5.1 Sanidade das sementes.....	63
5.2 Incidência e severidade de <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em sementes inoculadas com diferentes tempos de exposição ao patógeno.....	64
5.3 Avaliação da germinação e porcentagem de plântulas sobreviventes em diferentes temperaturas.....	66
5.4 Incidência e severidade da ramulose em ambiente controlado.....	71
6 Conclusões.....	77
7 Referências bibliográficas.....	78
Considerações finais.....	82
Anexos.....	84

RESUMO

ARAÚJO, Dejânia Vieira. Níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro. Lavras: UFLA, 2004. 87p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia).*

As sementes desempenham papel fundamental na disseminação de fitopatógenos. Quando associados às sementes, os patógenos sobrevivem muito mais tempo, mantendo-se viáveis e com suas características originais. *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* é um patógeno de grande importância para a cultura do algodoeiro. Dependendo da resistência genética do hospedeiro e das condições ambientais, focos iniciais podem causar epidemia com progresso da doença no tempo e no espaço. Sendo assim, conduziram-se estudos para avaliar o efeitos de diferentes níveis de infecção das sementes (0, 2, 4, 8 e 16%) com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* no progresso temporal e espacial da ramulose do algodoeiro. A emergência em campo, o estande final e a produção não foram influenciados pelo nível de inóculo inicial das sementes. Houve influência dos níveis no progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS). Obteve-se correlação positiva e significativa entre a AACPS com os níveis de inóculo e com a intensidade do patógeno nas sementes colhidas, e negativa entre a intensidade da doença no campo e a temperatura mínima. Observou-se um padrão espacial da doença agregado com aumento da incidência da doença dos 51 aos 65 dias. Em outro experimento, conduzido em ambiente controlado, estudou-se o efeito da temperatura (15, 20, 25 e 30°C) e do tempo de inoculação das sementes (36, 72 e 108h) na transmissibilidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Houve diferença entre os tempos de inoculação na incidência e severidade do patógeno nas sementes, germinação e porcentagem de plântulas sobreviventes, no entanto, não houve diferença na incidência e severidade da doença observada em solo. Observou-se influência da temperatura em todas as variáveis analisadas. Estas apresentaram valores maiores quanto maior foi a temperatura. O condicionamento osmótico proporcionou o aumento da incidência de fungos nos tratamentos testemunhas (36, 72 e 108h sem inoculação). Analisando a incidência e a severidade da doença nesses tratamentos, o tempo de 108h apresentou maiores valores.

* Comitê de orientação: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Professor Orientador); José da Cruz Machado – UFLA.

ABSTRACT

ARAÚJO, Dejânia Vieira. Inoculum levels of *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* in seeds and its influence in epidemic of cotton ramulose. Lavras: UFLA, 2004. 87p. Dissertation (Master in Phytopatology).*

Seeds are of fundamental importance in the dissemination of plant diseases. Pathogens associated with seeds survive much longer and there they maintain their original characteristics. Depending on the genetic resistance of the host and environmental conditions, initial inoculum may be responsible by wide-spreading of disease with progress in time and space. This study was conducted to evaluate the effects of *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* on the temporal and spatial progress of ramulose disease in cotton. Under the trial conditions, initial inoculum of seeds did not influence field emergence, field performance and production. The pathogen was able to it had influence the incidence progress (AUDPCI) and the severity (AUDPCS) of the disease. Significant and positive correlations were found between AUDPCS with inoculum levels and pathogen intensity in collected seeds, and negative correlations between intensity of disease in field and minimum temperature. It was noticed that a spatial pattern of the disease with an increase of the incidence of disease was from 51 to 65 days. In another experiment, conducted under controlled conditions, the effect of the temperature (15, 20, 25 and 30°C) and time of inoculation of seeds (36, 72 and 108h) on transmissibility of *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* were analysed. Statistical differences were observed between inoculation times on incidence and severity of pathogen in seeds, germination and percentage of surviving plant, and no difference was noted on incidence and severity of disease under these conditions. Temperature influenced on all analysed variables. Higher rates were found at higher temperatures. Osmotic preconditioning of seeds provided an increase of incidence of fungi in the control treatment (36, 72 and 108h without inoculation). Higher rates of incidence and severity of the disease were found when seeds were exposed to fungal colonies for 108h.

* Advising Committee: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Major Professor); José da Cruz Machado – UFLA.

CAPÍTULO 1

Introducción

Este capítulo tiene como objetivo principal presentar el contexto general del estudio y justificar la importancia de la investigación. Se describe el problema de estudio, se definen los objetivos de la investigación y se justifican los métodos utilizados. Se describe el alcance del estudio y se indican las limitaciones de la investigación.

El estudio se centra en el análisis de los factores que influyen en el comportamiento de los consumidores en el mercado de productos de consumo masivo. Se exploran las variables que afectan a la decisión de compra, como el nivel de ingresos, el nivel de educación, el nivel de urbanización, etc.

El estudio se realiza en un área geográfica específica, donde se selecciona una muestra representativa de la población objetivo. Se describen los procedimientos utilizados para la selección de la muestra y se justifican los métodos estadísticos utilizados para el análisis de los datos.

El estudio se realiza en un período de tiempo determinado, donde se recolectan datos de primera mano. Se describen los procedimientos utilizados para la recolección de datos y se justifican los métodos estadísticos utilizados para el análisis de los datos.

El estudio se realiza en un área geográfica específica, donde se selecciona una muestra representativa de la población objetivo. Se describen los procedimientos utilizados para la selección de la muestra y se justifican los métodos estadísticos utilizados para el análisis de los datos.

El estudio se realiza en un período de tiempo determinado, donde se recolectan datos de primera mano. Se describen los procedimientos utilizados para la recolección de datos y se justifican los métodos estadísticos utilizados para el análisis de los datos.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma cultura anual de grande importância econômica e social. O aprimoramento de novas técnicas de produção resultou em respostas expressivas e retorno satisfatório, refletindo em aumento de aproximadamente 22% da produção mundial na última década (Agrianual, 2004).

O plantio da cultura em novas regiões representou importante passo para a retomada da produção de algodão no Brasil. No ano de 2002 a produção brasileira foi de 2.648.788 toneladas, a maior nos últimos sete anos. Esse rápido crescimento proporcionou ao país a sexta posição de maior exportador mundial da fibra (Agrianual, 2004). Nesse contexto, a região Centro-Oeste assume importante papel, sendo líder nacional na produção de algodão. No entanto, vários fatores podem reduzir a participação do mercado nacional. Diversos agentes etiológicos responsáveis por doenças, principalmente os fungos, podem constituir um desses fatores. As doenças de etiologia fúngica representam riscos e causam prejuízos consideráveis aos produtores. A prática da monocultura, o uso de sementes próprias, introdução de novos genótipos e a modificação na população de patógenos contribuem para ocorrência de novas doenças e intensificam outras já existentes (Juliatti & Polizel, 2003).

A semente por ser a principal via de propagação da maioria das espécies cultivadas (Neergaard, 1979), é responsável por disseminar ou introduzir em novas áreas agentes etiológicos de diversas doenças. Além disso, a ação de patógenos pode causar redução do poder germinativo e do vigor da semente e a deterioração em armazéns. Com isso, distribuir sementes infectadas na lavoura torna-se uma maneira eficiente de implantar vários focos iniciais (Machado, 1994), de onde a doença pode progredir no tempo e no espaço (Campbell & Madden, 1990).

No algodoeiro, entre os patógenos associados às sementes encontra-se *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* S.A. Costa, o agente etiológico da ramulose. Por ter a semente como principal via de disseminação, adotar padrões de tolerância, para este patógeno, embasados em pesquisas científicas, torna-se necessário em programa de certificação de sementes. Na prática, existem opiniões de especialistas sugerindo a não utilização de sementes de campos de produção com níveis acima de 5% de incidência de ramulose (Cia & Fuzatto, 1986) e um nível de tolerância de 1% para sementes certificadas e 2% para fiscalizadas (Menten, 1997).

Contudo, para estabelecer níveis de tolerância do patógeno é necessário conhecer a epidemiologia da doença a partir de sementes infectadas e entender o progresso espacial e temporal da epidemia. O estudo da epidemiologia aliada à patologia de sementes pode contribuir com importantes ferramentas e, principalmente, relacionar o potencial de inóculo em sementes com o progresso da doença (Talamini, 2003) e fornecer níveis mais precisos quanto à porcentagem de sementes infectadas capaz de causar perdas na produção. Todavia, são raros os trabalhos que conciliam a patologia de sementes com a epidemiologia a fim de obter resultados práticos e contribuir para aumentar a produtividade.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: i) Estudar o potencial de transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes; ii) verificar o progresso temporal e espacial da doença a partir de sementes inoculadas; e iii) Analisar a influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes na transmissibilidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ramulose ou superbrotamento do algodoeiro

A ramulose ou superbrotamento do algodoeiro tem como agente etiológico *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Foi constatada, pela primeira vez, no estado de São Paulo, em 1936 (Costa, 1939). Atualmente, o patógeno encontra-se distribuído em todos os estados produtores do Brasil, constituindo-se, em alguns deles, uma das principais doenças fúngicas dessa cultura. Além do Brasil, a ramulose ocorre também na Venezuela e na Bolívia (Lima et al., 1984).

A doença ocorre em plantas de qualquer idade, preferencialmente em tecidos jovens. Os sintomas diretos ocorrem em folhas 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 na redução da distância entre os internódios. Posteriormente torna-se necrosado, estimulando o desenvolvimento de gemas axilares e número excessivo de galhos, reduzindo, conseqüentemente, a frutificação (Abrahão & costa, 1949; Abrahão, 1961; Kimati, 1980; Costa & Fraga Junior, 1937).

2.2 Disseminação de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*

A interpretação do gradiente de doença permite visualizar a disseminação do patógeno e inferir sobre os mecanismos associados ao processo (Maffia et al., 1988). Em razão da disseminação crescente de *C. g.* var. *cephalosporioides*, as áreas de plantio e a produtividade em muitas regiões sofreram reduções das mais preocupantes em condições climáticas favoráveis ao progresso da doença, ou

seja, temperatura entre 25 e 30 °C e alta pluviosidade (Kimati, 1980), podendo atingir taxa de progresso de 1 m a cada cinco dias, aproximadamente (Santos et al., 1994).

A disseminação promovida pela chuva a partir de focos iniciais no campo de cultivo torna-se um problema quanto a utilização de sementes de algodão contaminadas. Essa disseminação da planta doente para a sadia é feita por meio dos conídios produzidos, tanto em conidióforos presentes na matriz gelatinosa do acérvulo quanto em setas férteis, sendo este fato de grande importância do ponto de vista epidemiológico. Os conídios produzidos em matriz gelatinosa são dispersos por respingos de chuva, restringindo a disseminação do patógeno a curtas distâncias (Nicholson & Moraes, 1980; Tu, 1981) e desempenhando papel fundamental na disseminação dos propágulos (Pizzinatto et al., 1991). Os conídios produzidos em setas são dispersos a distâncias maiores, sendo deslocados pelo vento (Lenné, 1984). Dessa forma, a disseminação do patógeno é dependente das variáveis climáticas, principalmente temperatura e umidade relativa do ar (Kimati, 1980).

2.3 Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pela semente e o progresso da ramulose do algodoeiro

O conceito de transmissão em patologia de sementes implica na transferência do patógeno, por uma ou mais sementes, às plantas oriundas de um mesmo lote, bem como a partir de plantas doentes, no campo de produção, às sementes em formação (Baker & Smith, 1966; Tanaka, 1990; Machado, 1994). Tanto da planta à semente quanto da semente à plântula, a taxa de transmissão é influenciada pelo ambiente e por características próprias do patógeno e do hospedeiro, requerendo estudos regionais e repetidos por vários períodos. Dessa maneira, a influência do microclima poderá ser analisada com maior segurança

nas áreas de cultivo (Machado, 1994). Portanto, o conhecimento do estágio de desenvolvimento da planta no qual a infecção se traduz em maior taxa de transmissão é um aspecto de grande valor em trabalhos de inspeção sanitária de campo, tornando possível estimar qual época a incidência da doença na planta poderá significar maiores riscos de contaminação ou infecção das sementes (Machado, 1988).

Patógenos sobrevivem por mais tempo quando associados às sementes, mantendo-se viáveis e com suas características originais. A associação destes com as sementes ocorre de diversas maneiras, simplesmente acompanhando-as, sem estar ligados a elas, aderidos à sua superfície ou transportados nos tecidos internos, infectando-as (Tanaka & Machado, 1985). No entanto, o transporte do fungo pelas sementes não assegura, necessariamente, a sua transmissão à progênie. A transmissão nesse caso pode ser condicionada à severidade da infecção do fungo nas sementes, ou seja, estar relacionada com o tamanho da lesão e a quantidade de inóculo presente nas mesmas (Machado, 1994).

Tu (1992), estudando a relação entre severidade de infecção das sementes e a transmissão da antracnose do feijoeiro, observou aumento da transmissão com o aumento da severidade de infecção e densidade de conídios de *C. lindemuthianum* sobre as sementes, enquanto sementes com sintomas menos severos resultaram em menor transmissão do patógeno.

Forcelini (1991), estudando a severidade de *Bipolaris sorokiniana* em trigo, verificou proporcionalidade entre transporte e transmissão do patógeno apenas em lotes com média e alta infecção, sendo controversos os resultados com níveis de infecção das sementes inferiores a 30%. A eficácia da transmissão de *B. sorokiniana* em sementes com níveis maiores de infecção também foi estudada por Goulart (1996).

Somente a infecção de sementes por fitopatógenos não implica, necessariamente, em plantas infectadas e epidemias após o plantio (Maffia et al.,

1988). O progresso de uma doença, cujo agente etiológico é oriundo da semente, depende da quantidade de inóculo nas sementes, da taxa de transmissão e da taxa de progresso no campo (Neergaard, 1977).

A análise do progresso da doença pode oferecer subsídios para analisar, comparar e entender epidemias de doenças de plantas. As epidemias, além de mudarem de intensidade ao longo do tempo, variam também no espaço (Campbell & Madden, 1990). Métodos de análise das características espaciais de epidemias foram desenvolvidos e empregados em vários patossistemas com objetivos, dentre outros, de elucidar a etiologia de doenças (Madden & Hughes, 1995; Farjado et al., 1997; Laranjeira & Amorim, 1998).

C. g. var. cephalosporioides, assim como outras espécies do gênero *Colletotrichum*, associadas às sementes são transmitidas para a parte aérea da planta, onde ocorre esporulação e disseminação para órgão da mesma planta e de plantas vizinhas (Menten, 1991). A partir daí, se o ambiente for favorável, o progresso da doença pode ser rápido, e quanto maior a incidência do patógeno nas sementes, maior será a porcentagem de focos no campo de cultivo. Patógenos policíclicos tornam a situação ainda mais agravante, pois completam vários ciclos de infecção em um ciclo do hospedeiro (Maffia et al., 1988).

Dúvidas foram levantadas quanto à porcentagem de transmissão de *C. g. var. cephalosporioides* através da semente do algodoeiro devido a relatos de grande incidência em áreas onde a ramulose não havia sido constatada anteriormente (Lima et al., 1985). O patógeno encontra-se associado às sementes, tanto externa quanto internamente, constituindo principal mecanismo de disseminação a longas distâncias (Lima et al., 1985; Tanaka & Machado, 1985; Tanaka, 1990; Machado, 1994). Essa associação foi apontada como um dos fatores que interferem negativamente na germinação e no estabelecimento da cultura no campo (Lima et al., 1988; Tanaka et al., 1989; Tanaka, 1990).

Para patógenos foliares, a emergência de plântulas doentes e a rápida disseminação da doença são cruciais na iniciação e estabelecimento de epidemias (Leach, 1979). Após a emergência, a ocorrência de epidemias dependerá, dentre outros fatores, da incidência e da distribuição de plantas doentes no campo. O entendimento desses fatores é de extrema importância, devido ao fato da frequência dos pontos de infecção contribuir para o progresso da doença (Maffia, 1988). Com isso, para se estabelecer nível de tolerância a patógenos na semente, é fundamental conhecer os mecanismos de disseminação de doença, os quais, quanto mais eficientes, mais importante será a transmissão por sementes. Nesse caso, o nível de tolerância precisa tender a zero (Baker & Smith, 1966).

Entretanto, a natureza epidemiológica dos patógenos deve ser bem elucidada, levando em consideração o grau de dependência do patógeno em relação às sementes, o grau de sobrevivência do inóculo no solo e em restos culturais, a capacidade de multiplicação e o grau de parasitismo (Neegaard, 1979). Dependendo do modelo epidemiológico em que os patógenos se enquadram, torna-se fácil visualizar a influência destes na definição dos respectivos padrões de tolerância (Machado, 1994).

Machado & Cassetari Neto (2003), estudando o nível de tolerância para *Colletotrichum g. var. cephalosporioides* em sementes de algodão para o Mato Grosso, observaram, em ensaio de campo, um número de focos iniciais de ramulose de 14.763 plantas/ha aos 28 dias após o plantio de sementes com 5% do patógeno. Levando em consideração o gradiente de progresso da doença, bem como as condições ambientais do local de produção, um padrão de tolerância evitará a ocorrência de grandes epidemias, além de elevar o nível de qualidade das sementes.

Estudos quanto à transmissibilidade de *C. g. var. cephalosporioides* de plantas inoculadas para as sementes e à época de maior risco de contaminação

ou infecção das sementes trouxeram grandes contribuições sobre a dinâmica do patógeno e sua forma de sobrevivência (Gelmond, 1979; Lima et al., 1985, Tanaka, 1991; Tanaka & Menten, 1992; Santos et al., 1993). Santos et al. (1993) testaram a transmissão do patógeno por sementes em função do período de inoculação das plantas e, constataram não haver correlação significativa entre o índice de doença na planta e a transmissão semente-planta. Não sendo esta, uma variável para embasar o estabelecimento de níveis de tolerância a este patógeno.

O estágio de desenvolvimento da planta por ocasião da infecção está diretamente relacionado com a transmissão do patógeno planta-semente (Lima et al., 1985; Tanaka, 1991). Nesse caso, torna-se importante conhecer em quais estádios fenológicos as plantas de algodoeiro são mais suscetíveis à infecção e transmissão de *C. g. var. cephalosporioides* pelas sementes (Santos et al., 1993). Uma das formas da semente ser infectada é através do contato com os tecidos da maçã colonizada pelo fungo (Lima et al., 1985). As primeiras maçãs formadas ficam abertas por um grande período de tempo antes da colheita, e isso poderia facilitar a contaminação e infecção das sementes (Gelmond, 1979). Sendo assim, é de grande importância a ocorrência de ramulose tardia nos campos de produção de sementes, pois embora a doença nessa fase não afete a produtividade, ocorre no período de formação das maçãs, representando um risco maior para a infecção e transmissão do fungo pelas sementes (Santos et al., 1993).

Taxas de transmissão do patógeno de 0,14 a 0,64 pelas sementes foram observadas por Pizzinatto et al. (1991), sendo atribuídas às diferenças de resistência genética de cada material e de condições climáticas, principalmente o índice de chuvas. Tanaka (1990), trabalhando em casa-de-vegetação com sementes inoculadas, obteve taxas de transmissão de 0,70, 0,59 e 0,49, respectivamente, para os genótipos Nu 15, EPAMIG 3 e IAC 12-2, considerados altamente suscetível e mediamente suscetíveis, respectivamente. Em

conseqüência da importância da doença e da sua associação com o genótipo, busca-se, no melhoramento genético, fonte de resistência ao patógeno como uma medida de controle (Carvalho et al., 1981; Lima et al., 1984).

A variabilidade genética deve se estender ao nível da transmissão planta – semente - plântula. No entanto, em estudos realizados com algodoeiro, não há correlação entre o maior progresso da doença no campo e a presença do patógeno nas sementes (Lima et al., 1985; Pizzinatto et al., 1991; Tanaka & Menten, 1992).

2.4 Influência da temperatura na transmissibilidade de patógenos

A temperatura afeta diretamente o metabolismo de plantas, de fitopatógenos e a interação patógeno-hospedeiro (Campbell & Madden, 1990; Vale & Zambolim, 1996), influenciando na transmissão do patógeno pelas sementes. Patógenos de regiões tropicais e subtropicais são capazes de crescer em ampla faixa de temperatura, não chegando a atuar como fator limitante (Agrios, 1997). No entanto, pode exercer certa ação depressiva, pois em valores extremos, o progresso da doença é afetado (Vale & Zambolim, 1996).

Vários trabalhos foram realizados testando o efeito da temperatura na transmissão de patógenos da semente para as plantas (Raut, 1983; Gossen & Morrall, 1986; Shah & Bergstrom, 1999; Barba et al., 2002). Em temperaturas diferentes do ótimo para o desenvolvimento do patógeno, o progresso da doença é reduzido por ocorrer decréscimo do inóculo e, conseqüentemente, menor número de novas infecções. Contudo, o patógeno continua seu crescimento lentamente até ocorrer temperaturas favoráveis (Rotem, 1978).

A temperatura exerce efeito significativo sobre o processo germinativo, influenciando na porcentagem, velocidade e freqüência de germinação (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989; Labouriau, 1983). O aumento da suscetibilidade das



sementes em germinação e das plântulas aos patógenos está na dependência direta da temperatura. Em baixas temperaturas pode haver maior predisposição às doenças, devido ao efeito estimulante da exsudação de substâncias orgânicas de sementes ou raízes que favorecem o crescimento e a infecção por microrganismos (Wilkes et al., 1970; Tanaka, 1995). Hayman (1969) verificou, durante a germinação de sementes de algodão, maior exsudação de carboidratos a 18°C em relação a 24°C e 30°C. Contudo, temperaturas elevadas, acima do ótimo para a planta germinar e desenvolver, podem aumentar as chances de infecção por mecanismos de supressão ou redução de fitoalexinas (Hunter & Guinn, 1968). Em trabalhos de campo, Santos et al. (1993) verificaram maior aumento da incidência de ramulose quando temperatura e umidade relativa atingiram valores máximos durante a condução do experimento, reafirmando a grande dependência do patógeno em relação ao ambiente.

A temperatura afeta também a severidade de doença. Carneiro & Amorim (1999), em estudos com *C. gloeosporioides* em cebola, obtiveram maior severidade da doença a 30°C na cultivar mais susceptível, sendo esta similar a 25°C e 30°C na cultivar resistente. Resultados semelhantes foram observados por Leite & Amorim (2002) no patossistema *Alternaria helianthi* em girassol, no qual verificou-se maior severidade da doença na temperatura de 25°C, a temperatura mínima para o progresso da doença foi de 13,0°C e a máxima de 35,8°C.

2.5 Inoculação de sementes para obtenção de diferentes potenciais de inóculo

Além dos fatores ambientais, a transmissão do patógeno é influenciada pela quantidade e localização do inóculo nas sementes (Tanaka & Machado, 1985; Barba et.al., 2002). Lotes de sementes com altos índices de infecção são

necessários na condução de experimentos com o intuito de avaliar a frequência de transmissão (Shah & Bergstrom, 2000). Como isso, nem sempre é possível os pesquisadores recorrem a diversos métodos de inoculação de patógenos nas sementes visando à obtenção de altos índices de infecção (Babadoost & Hebert, 1984; Tanaka et al., 1989; Tanaka & Menten, 1991; Hall et al., 1996). A inoculação de sementes, além de garantir a associação da sintomatologia, possibilita, ainda, estudos de patogenicidade, resistência do hospedeiro, controle, dentre outros (Tanaka & Menten, 1991; Tanaka et al., 1989). Tanaka & Menten (1991) compararam métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *C. gossypii* e *C. g. var. cephalosporioides* e obtiveram resultados satisfatórios quanto à presença dos patógenos nas sementes e à transmissibilidade destes para as plântulas, com redução na germinação. Nesse trabalho, os autores testaram a inoculação por meio do contato das sementes com colônias do fungo durante 24 horas e secagem, imersão das sementes em suspensão de conídios por 30 minutos e por duas horas. Babadoost (1984) também utilizou esse método para obter sementes de trigo inoculadas com *Septoria nodorum*. O patógeno foi detectado em 100% das sementes inoculadas. Em trabalho relacionando inoculação e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno, Tanaka et al. (1989) observaram aumento da infecção das sementes em função do aumento do tempo de exposição.

O condicionamento osmótico ou 'priming' é uma técnica desenvolvida para regular a hidratação e a germinação das sementes. Os solutos utilizados para ajustar o potencial hídrico podem ser iônicos, sendo o mais utilizado o NaCl, e não iônicos, como o manitol e o polietileno glicol (Braccini et al., 1996).

A inoculação de sementes por meio da restrição hídrica tem se mostrado um método eficiente e bastante promissor na obtenção de sementes infectadas, gerando resultados significativos e representativos tanto em laboratórios como no campo (Carvalho, 1999; Machado, 2002; Machado et al., 2002;). Estudos

com o uso da restrição hídrica foram realizados com o objetivo de relacionar o efeito de diferentes potenciais de inóculo de patógenos no desempenho inicial de sementes. A metodologia consiste no condicionamento osmótico da semente em meio de cultura com o fungo desenvolvido por diferentes períodos. Essa técnica permite a obtenção de sementes com diferentes potenciais de inóculo (Prado et al., 2002; Sousa et al., 2002; Costa et al., 2002). A vantagem da técnica da restrição hídrica sobre outros métodos de inoculação, como imersão das sementes em suspensão de esporos, ou simplesmente o contato destas com a colônia do fungo em meio convencional (Tanaka et al., 1989; Tanaka & Menten, 1991), é que as sementes infectadas ou contaminadas do mesmo lote podem ser separadas em diferentes potenciais de inóculo após o período de incubação (Machado & Machado, 2002) e utilizadas, posteriormente, por um período mais prolongado de tempo.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, J. Controle à ramulose tardia do algodoeiro. *O Biológico*, Campinas, v. 27, n. 6, p. 121-123, jun. 1961.

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

AGRIANUAL. *Anuário da agricultura*. 2004. p. 131-145.

AGRIOS, G. N. Environmental effects on disease development. In: AGRIOS, G. N. (Ed.) *Plant pathology*. New York: Academic Press, 1997. p. 143-172.

BABADOOST, M.; HEBERT, T. T. Incidence of *Septoria nodorum* in wheat seed and its effects on plant growth and grain yield. *Plant Disease*, St. Paul, v. 68, n. 2, p. 125-129, Feb. 1984.

BAKER, K. F.; SMITH, S. H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 3, p. 311-334. 1966.

BARBA, J. T.; REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Efeito da temperatura e de fungicida na transmissão de *Bipolaris sorokiniana* da semente para plântulas de cevada. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 27, n. 5, p. 500-507, set./out. 2002.

BRACCINI, A. L.; RUTZ, H. A.; BRACCINI, M. C. I.; 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.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: J. Wiley; Sons, 1990. 532 p.

CARNEIRO, L. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo do 'mal-de-sete-voltas' da cebola. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 24, n. 3, p. 422-427, set. 1999.

CARVALHO, L. P.; CARVALHO, J. M. F. C.; LIMA, E. F.; CAVALCANTE, F. B. Influência da concentração de esporos na patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* A. S. Costa e avaliação

da resistência de cultivares e linhagens de algodoeiro herbáceo à ramulose. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 3, p. 395-402, out. 1981.

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

CIA, E.; FUZATTO, M. G. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de algodão. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., 1986, Campinas. Anais... Campinas, 1986. p. 49-56.

COSTA, A. S. Infestação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* South. E *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. *Jornal de Agronomia*, Piracicaba, v. 2, p. 265-272, 1939.

COSTA, A. S.; FRAGA JÚNIOR, C. G. Superbrotamento ou ramulose do algodoeiro. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, v. 12, n. 5/7, p. 249-259, mai/jul. 1937.

COSTA, M. L. N.; MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, R. M.; POZZA, E. A.; ORIDE, D. Efeito de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* no desempenho de sementes de feijoeiro infectadas artificialmente. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. Anais... Sete Lagoas, 2002. p. 42.

FARJADO, T. V. M.; LOPES, C. A.; SILVA, W. L. C.; ÁVILA, A. C. Dispersão da doença e redução da produção em tomateiro industrial infectado por tospovirus no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 22, n. 3, p. 413-418, set. 1997.

FORCELINI, C. A. Importância epidemiológica de fungos do gênero *Helminthosporium* em sementes de trigo e cevada. In: MENTEM, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1991. p. 179-190.

GELMOND, H. A review of factors affecting seed quality distinctive to cotton seed production. *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 7, n. 1, p. 39-46, 1979.

- GOULART, A. C. P. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes ao coleótilo de trigo. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 22, n. 1, p. 5-9, Jan./Mar. 1996.
- GOSSEN, B. D.; MORRALL, R. A. A. Transmission of *Ascochyta lentis* from infected lentil seed and plant residue. *Canadian journal plant Pathology*, Ottawa, v. 8, n. 1, p. 28-32, Mar. 1986.
- HALL, R.; CHIGOGORA, J. L.; PHILLIPS, L. G. Role of seedborne inoculum of *Leptosharia maculans* in development of blackleg on oilseed rape. *Canadian Journal Plant Pathology*, Ottawa, v. 18, n. 1, p. 35-42, Mar. 1996.
- HAYMAN, D. S. The influence of temperature on the exudation of nutrients from cottonseeds and on preemergence damping off by *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 47, n. 11, p. 1663-1669, 1969.
- HUNTER, R. E.; GUINN, G. Effect of root temperature on hypocotyls of cotton seedlings as a source of nutrition for *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 58, n. 7, p. 981-984, July 1968.
- JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. C. Manejo integrado de doenças na cotonicultura brasileiro. Uberlândia, 2003. 142 p.
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro – *Gossypium* spp. In: GALLI, F. (Ed.) *Manual de Fitopatologia*. São Paulo: Editora Ceres, 1980. v. 2, p. 28-48.
- LABOURIAU, L. G. A germinação das sementes. Washington: Secretaria da OEA, 1983. 173 p.
- LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; BERGER, R. D.; HAU, B. Análise espacial do amarelecimento fatal do dendezeiro para elucidar sua etiologia. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 3, p. 397-403, set. 1998.
- LEACH, C. M. A Theoretical consideration of the epidemiology of seedborne plant pathogens. In: YORINORI, J. T.; SINCLAIR, J. B.; MEHTA, Y. R.; MOHAN, S. K. *Seed pathology problems and progress*. Londrina: IAPAR, 1979. p. 227-233.
- LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de alternaria em girassol. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 27, n. 2, p. 193-200, mar./abr. 2002.

- LENNÉ, J. M.; SONODA, R. M.; PARBERY, D. G. Production of conidia by setae of *Colletotrichum* species. *Mycologia*, Bronx, v. 76, n. 2, p. 359-362, Mar./Apr. 1984.
- LIMA, E. F.; CARVALHO, J. M. F. C.; CARVALHO, L. P. Sobrevivência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium*). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 13, n. 2, p. 247-248, jun. 1988.
- LIMA, E. F.; CARVALHO, J. M. F. C.; CARVALHO, L. P.; COSTA, J. N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através da semente do algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 1, p. 105-115, fev. 1985.
- LIMA, E. F.; CARVALHO, L. P.; SANTOS, E. O.; CARVALHO, J. M. F. C. Avaliação de germoplasma de algodoeiro para resistência à ramulose causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 3, p. 561-565, out. 1984.
- MACHADO, J. C. Padrão de tolerância de patógenos associados à sementes. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 2, p. 229-263, 1994.
- MACHADO, A. Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro.** 2002. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MACHADO, A. Q.; CASSETARI NETO, D. Nível de tolerância de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão no Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. *Resumos Expandidos...* Goiânia, 2003.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações.** Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 106 p.
- MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. Uso de manitol como restritor hídrico em meio de cultura visando a infecção por fungos em sementes d algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). 2002. no prelo.
- MADDEN, L. V.; HUGHES, G. Plant disease incidence, distributions, heterogeneity and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 33, p. 529-564, 1995.

- MAFFIA, L. A.; MUCHOVEJ, J. J.; MAFFIA, A. M. C. Fundamentos epidemiológicos no estudo da transmissão de patógenos por sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 3., 1988, Lavras. Anais... Lavras, 1988. p. 41-47.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYER, A (Ed.). **The germination of seeds.** New York: Pergamon Press, 1989. 270 p.
- MENTEN, J. O. M. Situação atual e perspectivas de patologia de sementes no Brasil. In: MENTEM, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico.** Piracicaba, ESALQ/FEALQ, 1991. p. 21-36.
- MENTEN, J. O. M. Situação dos padrões de sanidade de sementes. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 23, n. 1, p. 86-89, jun./mar. 1997.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology.** London: Macmillan Press, 1977. 1187 p.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology.** London: Macmillan Press, 1979. v. 2, 839 p.
- NICHOLSON, R. L.; MORAES, R. C. Survival of *Colletotrichum graminicola*: Importance of the spore matrix. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 3, p. 255-261, Mar. 1980.
- PIZZINATTO, M. A.; CIA, E.; FUZATTO, M. G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 207-217, jul./dez. 1991.
- PRADO, P. E. R.; MACHADO, J. C.; CARVALHO, E. M.; SOUSA, M. V. Eficácia do tratamento químico de sementes de algodão em relação ao potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. Anais... Sete Lagoas, 2002. p. 52.
- RAUT, J. G. Transmission of seed-borne *Macrophomina phaseolina* in sunflower. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 11, n. 3, p. 807-814, 1983.
- ROTEM, J. Climatic and weather influences on epidemics. In: HORSFAL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.) **Plant disease: an advanced treatise.** New York: Academic Press, 1978. v. 2, p. 317-334.

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

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

SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. Epidemiologia e manejo de patógenos transmitidos por sementes, com ênfase nos fungos que formam picnídios. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 8, p. 339-365. 2000.

SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. Seed transmission of *Stagonospora nodorum* in wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 71, 1999.

SOUSA, M. V.; MACHADO, J. C.; ORIDE, D.; PRADO, P. E. R. Metodologia de infecção artificial de sementes de algodão por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas, 2002. p. 70.

TALAMINI, V. **Progresso espacial e temporal da antracnose a partir de diferentes níveis de inóculo inicial em sementes de feijoeiro**. 2003. 144 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TANAKA, M. A. S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. 1990. 111 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1995. p. 171-178.

TANAKA, M. A. S.; MACHADO, J. C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 122, p. 40-46, fev. 1985.

TANAKA, M. A. S.; MARIANO, M. I. A.; MENTEN, J. O. M. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao

patógeno. *Summa Phytopathology*, Piracicaba, v. 15, n. 3/4, p. 232-237, jul./dez. 1989.

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 219-226, jul./dez. 1991.

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Relação entre a resistência do algodoeiro à ramulose e a transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 227-234, jul./dez. 1992.

TU, J. C. Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) on white bean *Phaseolus vulgaris* L.) in southern Ontario: spread of the disease from an infection focus. *Plant Disease*, St. Paul, v. 65, n. 6, p. 477-480, June 1981.

TU, J. C. *Colletotrichum lindemuthianum* on bean: Population dynamics of the pathogen and breeding for resistance. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Orlando: Cab International, 1992. p. 203-224.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. *Revisão anual de patologia de plantas*, Passo fundo, v. 4, p. 149-207, 1996.

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. 3, p. 511-516, May/June 1970.

CAPÍTULO 2

RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE INÓCULO DE *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* NAS SEMENTES E O PROGRESSO DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO

1 RESUMO

ARAÚJO, Dejánia Vieira. Relação entre níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e o progresso espacial e temporal da ramulose. In: _____. **Níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro.** 2004. Cap. 2. p. 21-54. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

O objetivo do trabalho foi estudar a relação entre porcentagens de sementes de algodoeiro infectadas com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e o progresso da ramulose no campo. O experimento foi realizado em Lavras-MG e conduzido em blocos ao acaso com cinco tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram compostos por parcelas contendo 0, 2, 4, 8 e 16% de sementes inoculadas com o patógeno. Avaliou-se germinação e estande final aos 10 e 30 dias após a semeadura, respectivamente. As avaliações da incidência e severidade da ramulose foram feitas, semanalmente, a partir de 30 dias até 95 dias após semeadura, nos tratamentos 0, 4, 8 e 16%. A análise do padrão espacial da doença foi obtida nas parcelas contendo 2% de sementes inoculadas. Ao final do experimento avaliou-se a produção de algodão em caroço (Kg/ha). Não houve diferença significativa para as variáveis germinação, estande final e produção. A área abaixo da curva de progresso da Incidência (AACPI) e severidade (AACPS), avaliada nos tratamentos 0, 4, 8 e 16%, foi influenciada pelos níveis de inóculo nas sementes. O progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS) foi maior com o aumento do nível de inóculo inicial nas sementes. Nas condições em que o experimento foi conduzido, houve correlação negativa e significativa entre a temperatura mínima e a intensidade da doença no campo. A correlação foi positiva e significativa entre a AACPS e a severidade do patógeno nas sementes e entre o potencial de inóculo inicial e a incidência e severidade do patógeno nas sementes. O progresso da doença no espaço apresentou um padrão agregado, com maior intensidade da doença dos 51 aos 65 dias após o plantio.

* Comitê de orientação: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Professor Orientador); José da Cruz Machado – UFLA.

2 ABSTRACT

ARAÚJO, Dejânia Vieira. Relationship between inoculum levels of *Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides* in seeds and the spatial and temporal progress of cotton ramulose. In:_____. **Inoculum levels of *Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides* in seeds and its influence in epidemic of cotton ramulose.** 2004. Cap. 2. p.21-54. Dissertation (Master in Phytopatology). Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

The objective of this study was to verify the relationship between percentage of cotton seeds infected by *Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides* and the progress of ramulose in field. The experiment was carried out in Lavras-MG and was designed in randomized blocks with five treatments and three replicates. The treatments consisted of plots with 0, 2, 4, 8 and 16% of inoculated seeds with pathogen. Germination and field performance were evaluated at 10 and 30 days after sowing. The evaluations of incidence and severity were made, weekly, from 30 to 95 days after sowing in treatments 0, 4, 8 and 16%. The analysis of spatial pattern of disease was made in plot containing 2% of inoculated seeds and yields were registered for all treatments. No statistical difference was observed for the to variables germination, field performance and production. On the other hand inoculum levels in seeds influenced the area under the disease progress curve of the incidence (AUDPCI) and of the severity (AUDPCS). Disease progress increased with the rise of initial inoculum in seeds. Under the experiment conditions, there was negative and significative correlation between both minimum temperature and disease intensity in field. There was positive and significative correlation between both AUDPCS and severity of pathogen in seeds and also between initial inoculum potential and incidence and severity of pathogen in seeds. The disease progress in space presented an aggregated pattern, with increase of intensity of disease from 51 to 65 days after planting.

*Advising Committee: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Major Professor); José da Cruz Machado – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A ramulose do algodoeiro tem como agente etiológico *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Esse patógeno é considerado um dos mais importante para a cultura (Lima et al. 1985). Junto com o tombamento de plântulas, têm sido responsáveis por reduzir a população de plantas no campo, elevar os custos de produção e causar perdas consideráveis (Pozza & Juliatti, 1994; Cassetari Neto & Machado, 2000).

O patógeno é transmitido por sementes contaminadas e/ou infectadas, representando perigo de introdução em áreas não infectadas (Lima et al., 1985). As sementes portadoras do patógeno constituem o inóculo primário e as lesões de plantas infectadas representam importante fonte de inóculo secundário. Dependendo das condições ambientais, a ramulose pode causar epidemia devido à disseminação do patógeno ser favorecida por respingos de chuva e ventos (Kimati, 1980).

A produção de sementes com qualidade superior requer a adoção de medidas gerais de monitoramento e controle atreladas a um programa rigoroso de inspeção, ainda nos campos de produção de sementes. Para se estabelecer padrões de tolerâncias em programas de certificação de sementes, é necessário desenvolver métodos rotineiros para detectar patógenos. Além disso, outros pontos, como a taxa de transmissão pela semente, o mecanismo de transmissão e a relação do patógeno com a doença e o ambiente precisam ser esclarecidos pela pesquisa e, dessa forma, servir como referência para estabelecer padrões (Tanaka & Machado, 1985).

Vários trabalhos relatam a transmissibilidade de *C. g.* var. *cephalosporioides* por sementes (Pizzinatto et al., 1991; Santos et al., 1993; Lima et al., 1985; Tanaka & Menten, 1992; Pizzinatto et al., 1994;). No entanto, estudos sobre o progresso da doença utilizando diferentes níveis de inóculo nas

sementes, bem como o padrão espacial da doença a partir de sementes inoculadas com o patógeno, necessitam ser melhor elucidados.

Diante do exposto busca-se, com esse trabalho: i) Estudar o progresso da ramulose, cujo agente etiológico é *C. gossii* var. *cephalosporioides*, proveniente de sementes com diferentes níveis de inóculo utilizando a curva de progresso da doença; ii) correlacionar a intensidade da doença com as variáveis climáticas; iii) Analisar o progresso espacial da doença a partir do nível de inóculo na semente; iv) correlacionar a intensidade do patógeno nas sementes colhidas com a intensidade da doença no campo e com o potencial de inóculo inicial.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

O experimento foi instalado na área experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, em altitude de 921 metros, 21°13'50" de latitude sul e 45°58'41" de longitude oeste, solo com textura argilosa. O plantio foi realizado no dia 06 de dezembro de 2002 e conduzido até a primeira quinzena de julho de 2003.

4.2 Preparo da área experimental

De acordo com os resultados de análise química e física do solo, foram calculadas as doses de NPK a serem utilizadas no plantio e em cobertura. Foi utilizada adubação no sulco de plantio, na proporção de 669 Kg/ha da mistura 20-90-40 (N-P₂O₅-K₂O), tendo como fontes sulfato de amônio, super fosfato simples e cloreto de potássio. A adubação de cobertura foi realizada em duas etapas, aos 30 e 45 dias após o plantio, na proporção de 184 Kg/ha da mistura de 30-0-20.

4.3 Delineamento experimental e condução do experimento

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e três repetições. Cada parcela foi constituída por seis linhas, com cinco metros de comprimento, sendo consideradas como área útil as quatro linhas centrais. O espaçamento utilizado foi 0,9 metros entre linhas e 11 sementes por metro linear. O experimento foi protegido com três fileiras de milho plantadas 30 dias antes da instalação, a fim de evitar a entrada de

propágulo externo. As parcelas foram espaçadas por dois metros entre tratamentos e entre blocos. Aos trinta dias após o plantio foi realizado o desbaste.

Os tratamentos foram 0%, 2%, 4%, 8% e 16% de sementes inoculadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Tratos culturais como capinas e controle de pragas foram realizados de acordo com a necessidade da cultura. Fez-se pulverização, aos 85 dias após a semeadura, com fungicida Azoxystrobin na dose de 80g/ha para o controle da ramulária.

4.4 Análise e inoculação de sementes

Foram utilizadas sementes da linhagem IAC 01/273 da safra 2001/2002, altamente suscetível à ramulose (nota 4,97 de severidade, numa escala de um a cinco de acordo com Costa, 1941), fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas. As sementes foram deslintadas com ácido sulfúrico (PA), submetidas à assepsia superficial com hipoclorito de sódio 2% por um minuto e secas ao ar por 24 horas. Em seguida realizou-se teste de sanidade pelo método de papel de filtro (Neergaard, 1979) umedecido com água destilada esterilizada contendo 2,4-D na concentração de 10ppm (Machado & Langerak, 1993), e teste de germinação segundo regras para análises de sementes (Brasil, 1992) e *International Seed Testing Association* (ISTA, 1976).

As sementes foram inoculadas com cultura pura de *C. g.* var. *cephalosporioides* cultivada em BDA por sete dias, pelo método de restrição hídrica desenvolvida por Carvalho (1999), Costa (2000) e Machado et al. (2001). Um mililitro da suspensão de conídios, na concentração 10^6 , obtida da lavagem das placas contendo o isolado, foi transferido para placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo meio BDA + manitol com potencial hídrico ajustado para -1 MPa, calculado pelo software SPPM (Michel & Radcliffe, 1995). O inóculo foi

distribuído uniformemente sobre o substrato com auxílio de alça de Drigalski. O completo crescimento micelial do patógeno ocorreu após três dias de incubação a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, com fotoperíodo de 12 horas.

As sementes, após desinfestação com hipoclorito de sódio 2% por um minuto, foram colocadas em contato com o fungo e novamente mantidas em câmara de incubação por 72 horas com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. As sementes utilizadas como testemunha também foram submetidas ao pré-condicionamento osmótico para obter padrão homogêneo de germinação e emergência em todos os tratamentos.

4.5 Emergência em campo, estande final e intensidade da doença

A germinação em campo e o estande final foram avaliados aos sete e 30 dias após o plantio, respectivamente, em todos os tratamentos. Após avaliação do estande final, realizou-se desbaste com objetivo de manter oito plantas por metro linear em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 2%.

A intensidade da doença foi obtida avaliando-se os tratamentos 0%, 4%, 8% e 16% de sementes inoculadas. As avaliações foram iniciadas aos 30 dias após o plantio, com intervalo de sete dias até a sexta avaliação e de 15 dias na sétima e oitava avaliações, quando já se encontravam todas as maçãs formadas.

Determinou-se, em cada avaliação, a incidência, dada em porcentagem de plântulas infectadas por *C. g. var. cephalosporioides*, e a severidade da ramulose, obtida por meio da escala de notas elaborada por Costa (1941).

Em que:

0 = Ausência de sintomas

1 = Lesões necróticas estreladas nas folhas localizadas no ápice da planta

2 = Encurtamento dos internódios do ápice da planta

3 = Superbrotamento acentuado, redução no crescimento da planta

4 = Planta com superbrotamento e com desenvolvimento comprometido, morte das partes afetadas.

Para ponderar a severidade na parcela foi aplicado o índice de McKinney (1923).

$$ID (\%) = \frac{\sum(f.v)}{n.x} \times 100$$

Em que:

ID = Índice de doença; f = Número de plantas com determinada nota; v = Nota observada; n = Número total de plantas avaliadas; x = Grau máximo de infecção.

4.6 Análise do progresso temporal da doença

As avaliações foram realizadas nos tratamentos 0%, 4%, 8% e 16% de sementes inoculadas. A área abaixo da curva de progresso da ramulose (AACPD) foi obtida com base nos índices de incidência e severidade (AACPI e AACPS), de acordo com Campbell & Madden (1990), calculados pela fórmula:

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

Em que:

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

Os tratamentos foram comparados utilizando-se a área abaixo da curva de progresso da doença para incidência e severidade da ramulose. Para melhor visualizar o progresso da doença ao longo do tempo, plotou-se a curva de progresso da doença.

4.7 Análise espacial da doença

Foi utilizado, para a análise espacial da doença, o tratamento 2% de sementes inoculadas semeadas no centro da parcela, constituindo fonte tipo ponto (Campbell & Madden, 1990). O desbaste foi realizado aos 30 dias após a semeadura com objetivo de manter 30 plantas por linhas. As avaliações da incidência e da severidade foram feitas semanalmente, iniciando-se aos 30 dias, em todas as plantas da parcela. Das três parcelas avaliadas, a mais representativa foi empregada para confeccionar o mapa de incidência e da severidade da doença (Carmo et al., 1996).

4.8 Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Setor Agrometeorológico da Universidade Federal de Lavras, coletados diariamente da estação meteorológica localizada a cerca de 500 metros da área experimental, no período de dezembro de 2002 a maio de 2003.

As variáveis climáticas obtidas foram as seguintes: temperatura máxima (Tmax), temperatura média (Tmed), temperatura mínima (Tmin), umidade relativa (UR), insolação diária (Ins) e precipitação (P).

A intensidade da ramulose foi correlacionada com todas as variáveis climáticas pelo Método de Pearson, no período de sete dias anteriores a cada avaliação até a sexta, e com quinze dias nas duas últimas avaliações.

4.9 Produção de algodão em caroço

A colheita foi realizada em duas etapas, 18 de junho e 10 de julho de 2003. Foram colhidos quatro metros de cada parcela, descartando-se trinta

centímetros de cada lado em todos os tratamentos. A produção por parcela foi obtida pesando-se o algodão em caroço em balança com precisão de 0,005 Kg e transformando-se para Kg/ha.

4.10 Transmissibilidade planta-semente

Foi obtida utilizando-se uma subamostra dos tratamentos 0%, 4%, 8% e 16% de sementes inoculadas, após pesar cada parcela experimental. Essas subamostras passaram pelo processo de deslignamento com ácido sulfúrico (PA), desinfestação com hipoclorito de sódio 2% por um minuto e secagem ao ar por 24 horas. Após esse processo as sementes foram submetidas ao pré-condicionamento osmótico em meio ágar-água com soluto manitol a -1 MPa por 48 horas para estimular o crescimento de fungos existentes nas sementes. Ao final desse período, as sementes foram secas ao ar e novamente desinfestadas com hipoclorito de sódio 2% por 30 segundos. Essa segunda desinfestação teve por objetivo evitar contaminação secundária das sementes por inóculo superficial oriundo de sementes altamente infestadas.

A transmissão do patógeno para as sementes foi analisada pelo método de papel de filtro, citado anteriormente. Ao final do período de incubação, em microscópio estereoscópico, realizou-se a avaliação de incidência, dada em porcentagem de *C. g. var. cephalosporioides* em cada tratamento, e da severidade atribuindo-se nota de 0 a 3 por semente, em que:

0 = Sementes sadia

1 = 1 a 10% da superfície da semente infectada

2 = 11 a 50% da superfície da semente infectada

3 = Acima de 50% da superfície da semente infectada.

Os dados de severidade foram ponderados pelo índice de McKinney (1923).

Por ser facilmente confundido com *C. gossypii*, as estruturas de *C. g. var. cephalosporioides* foram cuidadosamente analisadas utilizando a caracterização morfológica sugerida por Tanaka et al. (1996).

Os dados de incidência e severidade do patógeno na semente foram correlacionados com o potencial de inóculo inicial e com os obtidos em campo (AACPI e AACPS) pelo método de Pearson.

4.11 Análise dos dados

As análises foram feitas nos programas SAS (Statistical Analysis System) e SISVAR (Ferreira, 2000). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Quando não foi possível obter normalidade e homogeneidade de variância dos resíduos, os dados foram transformados para raiz de x.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método da restrição hídrica, por 72 horas garantiu infecção de 95% das sementes por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, com acima de 80% da superfície da semente coberta com o patógeno. Pelo teste de germinação, as sementes apresentaram 92% de plântulas normais. A inoculação de sementes garante a associação do patógeno e da sintomatologia com o verdadeiro agente causal (Tanaka & Menten, 1991).

5.1 Emergência e estande final de plântulas de algodoeiro

Não houve diferença significativa entre os tratamentos submetidos a diferentes porcentagens de inóculo para essas variáveis (Tabelas 1A e 1).

Santos et al. (1993), verificaram que *C. g.* var. *cephalosporioides* nas sementes obtidas a partir de plantas da cultivar IAC-20 inoculadas em diferentes estádios de desenvolvimento não interferiu na emergência das plântulas. O mesmo foi obtido por Pizzinatto et al. (1991), utilizando sementes da cultivar CNPA-3H, suscetível à ramulose, provenientes de campo inoculado com o patógeno e de campo com ocorrência natural da doença com diferentes graus de severidade.

Analisando o efeito de *Septoria nodorum* em sementes de trigo, Babadoost (1984) verificou, em lotes com diferentes níveis de infecção, a perfeita germinação, não havendo, portanto, correlação entre porcentagem de sementes infectadas e germinação.

Apesar de não haver diferença entre os tratamentos para o estande final (Tabela 1), observou-se uma redução na porcentagem de plântulas nos níveis 2, 4 e 16% em relação à emergência. Essa redução foi maior com o aumento do nível de inóculo nas sementes. *C. g.* var. *cephalosporioides*, assim como *C.*

gossypii pode causar tombamento de plântulas (Costa, 1939), sendo provavelmente a causa dessa redução na porcentagem de plantas no estande final. Lima et al. (1985) constataram, por meio do teste de patogenicidade, a presença de *C. g.* var. *cephalosporioides* em plântulas com sintomas de tombamento provenientes de sementes colhidas de plantas inoculadas em diferentes estádios de desenvolvimento.

TABELA 1. Emergência e estande final de sementes de algodoeiro com diferentes porcentagens de *C. gossypii* var *cephalosporioides* nas sementes. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Sementes inoculadas (%)	Emergência (%)	Estande final (%)
0	62 a	66 a
2	65 a	63 a
4	76 a	70 a
8	58 a	58 a
16	64 a	56 a

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

5.2 Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS) da ramulose

Aos 30 dias após o plantio, na primeira avaliação de doença, verificou-se a germinação de plântulas doentes provenientes de sementes infectadas, constatada pelos sintomas encurtamento dos internódios e início de superbrotamento (Kimati, 1980). Portanto, a inoculação das sementes foi eficiente em transmitir o inóculo inicial de *C. g.* var. *cephalosporioides*, servindo de inóculo para ciclos secundários de infecção (Machado, 1988).

Houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à incidência (AACPI) e a severidade (AACPS) pelo teste de F (Tabela 2A). Na análise de regressão para comparar os níveis de inóculo, a AACPI e a AACPS foram

maiores quanto maior foi a porcentagem de sementes inoculadas com o patógeno (Figura 1 e 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Machado & Cassetari Neto (2003) em trabalho com níveis de 0% a 5% de sementes naturalmente infectadas, onde a porcentagem de plantas com sintomas iniciais foi proporcional à incidência do fungo nas sementes. Valores de 2,2% a 13,3% de plantas sintomáticas, para a menor e a maior porcentagem de sementes infectadas, caracterizaram a alta transmissibilidade do patógeno, em média 61,72%.

Pizzinatto et al. (1991) utilizaram sementes de plantas com notas de severidade de 1 a 5 e observaram maior porcentagem de plantas doentes em todas as avaliações, no tratamento cujas sementes apresentavam maior infecção pelo patógeno (7%). Em outro experimento realizado no mesmo trabalho, os autores analisaram a incidência do patógeno em campo a partir de sementes de plantas inoculadas de quatro genótipos diferentes (EPAMIG 3, IAC 12-2, IAC 19 e Nu 15). Com isso, foi possível observar maiores incidências nos tratamentos com maior porcentagem do patógeno. Contudo, essa relação também foi atribuída à diferença genética dos materiais testados e das condições climáticas.

Em trabalho realizado com o patossistema *C. lindemuthianum* e feijão, Talamini (2003), utilizando sementes de feijão com 0, 0,5, 1, 2 e 4% de *C. lindemuthianum* inoculado por meio da restrição hídrica, observou aumento na AACPI e AACPS da doença com o aumento na porcentagem de sementes com o patógeno, refletindo uma tendência de maior intensidade da doença em função da maior quantidade de inóculo inicial.

Em estudo relacionado com a severidade de *Bipolaris sorokiniana* em trigo, observou-se que a transmissão do patógeno foi maior em lotes de sementes com alta infecção, acima de 30% (Forcelini, 1991). O mesmo foi verificado por Goulart (1996) analisando a transmissão de *Bipolaris sorokiniana* com níveis de

16% a 90,5% de incidência natural nas sementes de trigo. A transmissão do patógeno foi maior com o aumento do nível de contaminação e/ou infecção das sementes, concordando com o obtido nesse trabalho. Dessa forma, fica evidente que a quantidade de inóculo inicial, para patógenos associados à semente, pode refletir em altos índices de doença, dependendo de condições intrínsecas ao patógeno e ao hospedeiro, e causar grandes epidemias (Tanaka & Machado, 1985; Maffia et al., 1988).

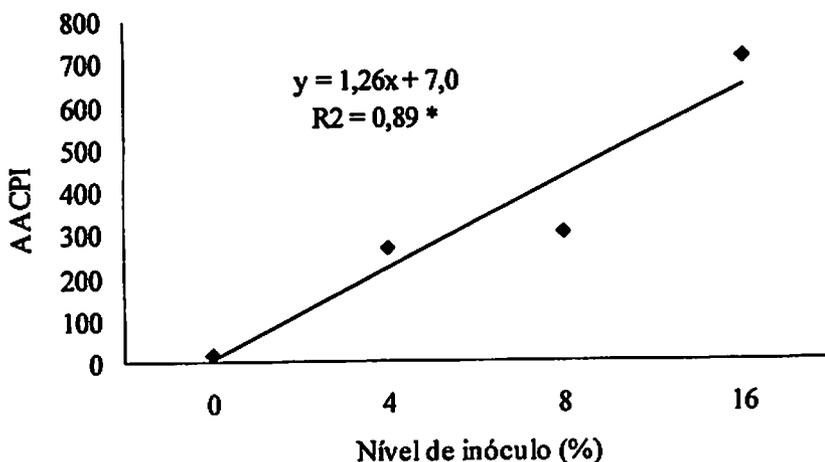


FIGURA 1. Equação de regressão para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) em função do nível de inóculo inicial de *C. g. var. cephalosporioides* nas sementes. UFLA, Lavras, MG, 2004.

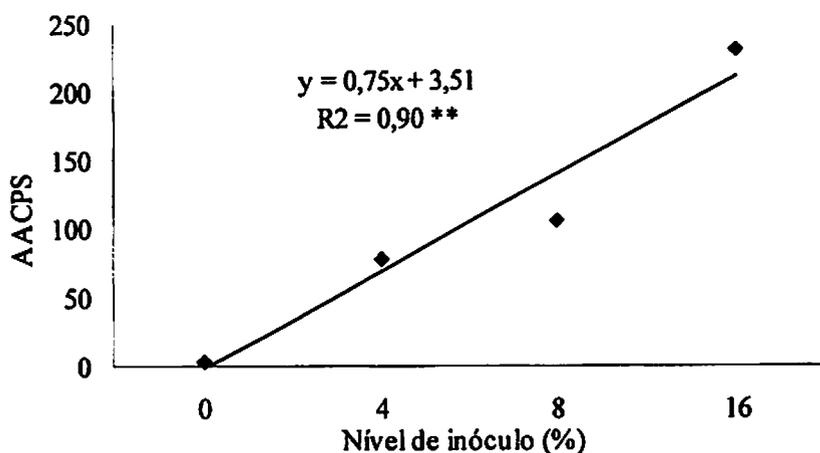


FIGURA 2. Equação de regressão para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) em função do nível de inóculo inicial de *C. g. var. cephalosporioides* nas sementes. UFLA, Lavras, MG, 2004.

As correlações realizadas entre nível de inóculo nas sementes e a área abaixo da curva de progresso da incidência e da severidade não apresentaram significância. É importante salientar que apenas o transporte do patógeno pelas sementes não assegura, necessariamente, a sua transmissão à progênie (Machado, 1994). Nesse caso, a transmissão pode ser condicionada à severidade da infecção nas sementes, ou seja, estar relacionada com o tamanho da lesão e a quantidade de inóculo presente nas mesmas.

5.3 Variáveis climáticas e curva de progresso da ramulose

A temperatura monitorada durante o período de avaliação da doença apresentou variação de 18,7°C a 28,9°C, com média de 23,0°C. A umidade relativa do ar e a precipitação apresentaram valores de 76,4% e 28,9 mm. A maior incidência da doença foi observada aos 51 dias após o plantio nos

tratamentos 4 e 8% e aos 80 dias no tratamento 16% (Figura 3B e 3C). Para a severidade da doença, os maiores valores foram observados aos 80 dias em todos os tratamentos, com exceção do nível 4%, sendo a maior severidade ocorrida aos 58 dias (Figura 3D). O nível 0% de sementes inoculadas, que correspondeu à testemunha, manteve-se com valores baixos de incidência e severidade durante todo período de avaliação em relação aos demais tratamentos, sendo os picos de maior incidência e severidade aos 58 e 80 dias, respectivamente. Esse fato revelou a ausência de contaminação externa, sendo o inóculo proveniente da própria semente (Figura 3C e 3D).

Nesse experimento, o progresso da doença foi influenciado por variáveis ambientais, apresentando correlações altamente significativa ($P < 0,01$) com a doença (Tabela 2). Os coeficientes de correlação, apesar de baixos, indicaram aumento no progresso da doença quando as temperaturas mínimas diminuíram tanto para incidência como para a severidade. A umidade relativa do ar para a incidência apresentou o mesmo efeito. Correlação positiva foi observada entre temperatura máxima, insolação e as duas variáveis e entre temperatura média, umidade relativa e a severidade. A pluviosidade não apresentou correlação significativa com o progresso da doença. Isso foi observado ao longo das avaliações, pois o período de maior concentração de chuvas não coincidiu com a maior incidência e severidade da doença (Figura 3).

Tabela 2. Coeficientes de correlação entre variáveis climáticas e incidência e severidade da ramulose, no período entre dez/2002 e mar/2004. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Variáveis climáticas	Incidência	Severidade
Tmax	0,40*	0,44**
Tmed	0,28 ns	0,37*
Tmin	-0,42**	-0,53**
UR	-0,42**	0,44**
P	0,05 ns	-0,03 ns
Ins	0,51**	0,50**

Tmax, Tmed, Tmin = temperaturas: máxima, média e mínima (°C); UR = umidade relativa do ar (%); P = pluviosidade (mm); Ins = insolação (h/dia).

* = significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

** = significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

ns = não significativo

Esses resultados não corresponderam aos obtidos na literatura, tendo em vista que as condições ambientais favoráveis para a maior disseminação do patógeno estão relacionadas com alta temperatura e umidade relativa (Kimati, 1980). Lima et al. (1985) também relataram a influência das condições ambientais sobre o progresso da doença. A ocorrência de alta pluviosidade e umidade relativa do ar no período de florescimento são decisivas na infecção das sementes. Maior progresso da doença foi observado aos 81 dias após o plantio. No entanto, nessa fase a umidade relativa e a temperatura mínima atingiram valores máximos de 90% e 18°C, respectivamente. O progresso da doença estabilizou após 123 dias, quando as chuvas cessaram e a temperatura mínima atingiu 12,8°C (Santos et al., 1994).

A temperatura ótima para o crescimento de *C. g. var. cephalosporioides* está entre 25 e 30°C (Kimati, 1980), e o ótimo para infecção no campo, próximo de 22°C (Arndt, 1944). Este valor está abaixo do ideal para o desenvolvimento do patógeno e da planta. Arndt (1944) não observou infecção nas plantas sob temperaturas superiores a 36°C e inferiores a 18°C.

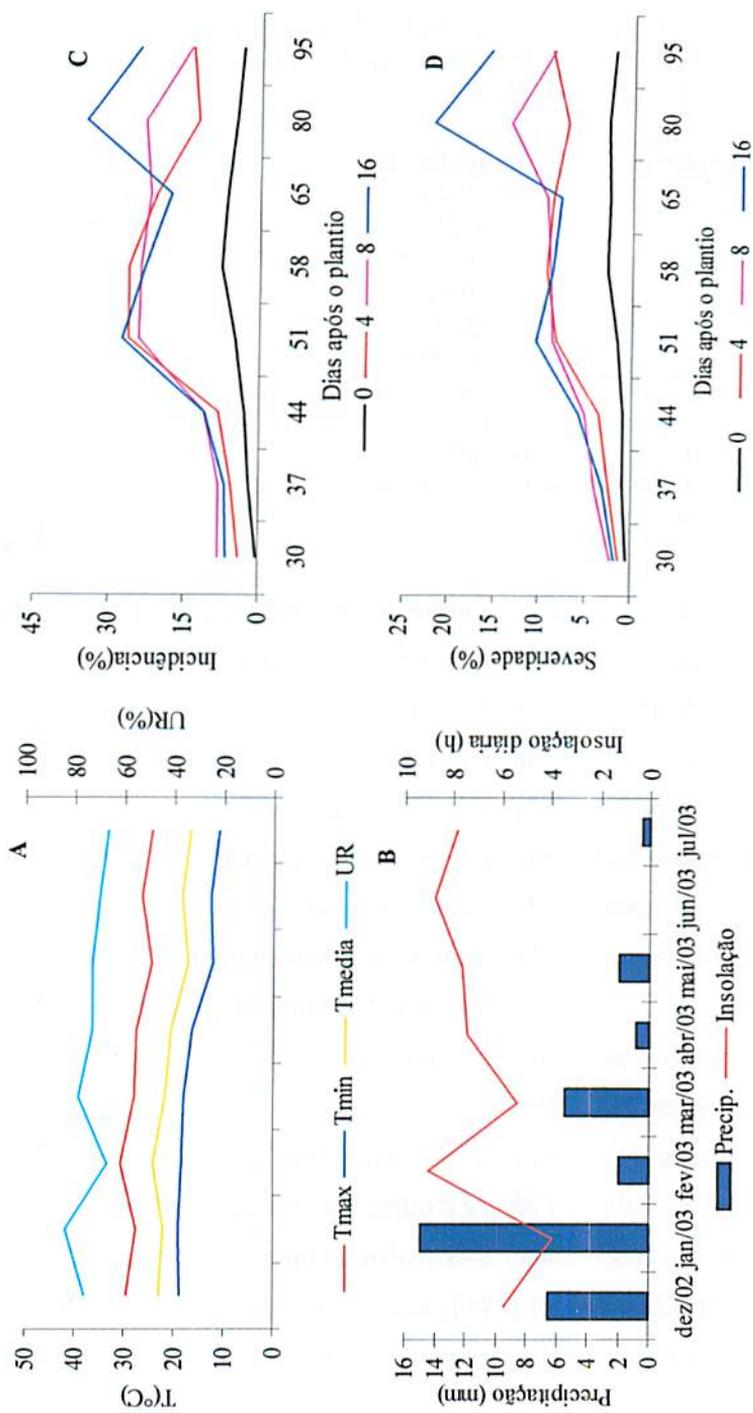


FIGURA 3. Variáveis climáticas (A e B) obtidas no período de dez/2002 a jul/2003 e curva de progresso da incidência e da severidade (C e D) avaliadas de janeiro a março/2003. UFLA, Lavras, MG, 2004.

5.4 Análise do progresso espacial da doença

Os mapas de distribuição espacial da incidência e da severidade da ramulose foram feitos a partir de uma repetição representativa das parcelas com 2% de sementes inoculadas como fonte de inóculo, devido a não existir diferença entre blocos (Figura 4e 5).

Analisando o mapa da incidência, pode-se observar o aparecimento das primeiras plantas doentes aos 30 dias após o plantio. No entanto, a disseminação da doença foi mais intensa dos 51 dias aos 65 dias após o plantio, estabilizando-se até o final das avaliações, com maior concentração de plantas com sintomas próximo à fonte de inóculo e do lado norte da parcela (Figura 4). Como o vento, aliado aos respingos de chuva, contribuem na disseminação de propágulos a curtas distâncias (Tanaka & Machado, 1985), o fato de haver maior incidência da doença no lado norte pode ser devido a esse fator. O mesmo foi observado por Pinto et al. (2001) analisando o padrão espacial da antracnose do feijoeiro em duas épocas na região de Lavras. Os autores verificaram maior disseminação da doença no período das chuvas com, predominância de incidência de plantas com sintomas ao redor da fonte e no lado norte.

Na figura 5 observa-se a distribuição espacial de plantas com diferentes graus de severidade da ramulose. A severidade da doença foi proporcional à distância da fonte de inóculo inicial. As plantas localizadas próximas à fonte de inóculo apresentaram sintomas mais severos, ao passo que, nas plantas mais distantes, a severidade foi diminuída, apresentando apenas sintomas leves da doença. Santos et al. (1994), analisando as curvas de gradiente da ramulose, observaram maior incidência e severidade da doença quanto mais próximo da fonte de inóculo as plantas se encontraram. Abrahão (1961) também obteve resultados semelhantes. Em áreas mais distantes do foco, as plantas

apresentaram apenas lesões nas extremidades das plantas, não representando prejuízos na formação das maçãs.

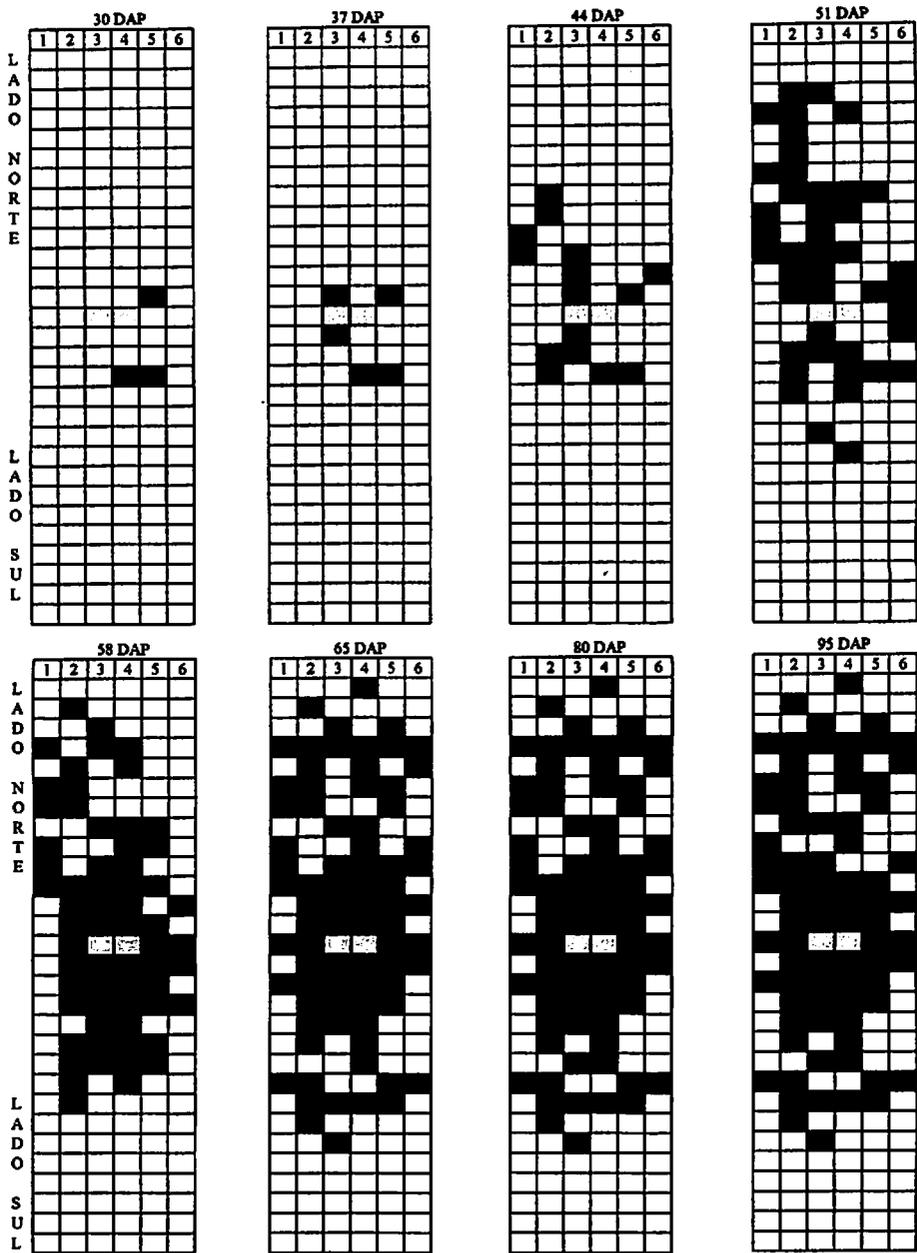


FIGURA 4. Mapas de distribuição espacial da incidência da ramulose do algodoeiro (janeiro a março/2003). Cada quadrado claro representa uma planta sadia, e o escuro planta doente □ = Fonte de inóculo. DAP = Dias após plantio. Espaçamento entre plantas = 12,5 cm. Espaçamento entre linhas = 90 cm.

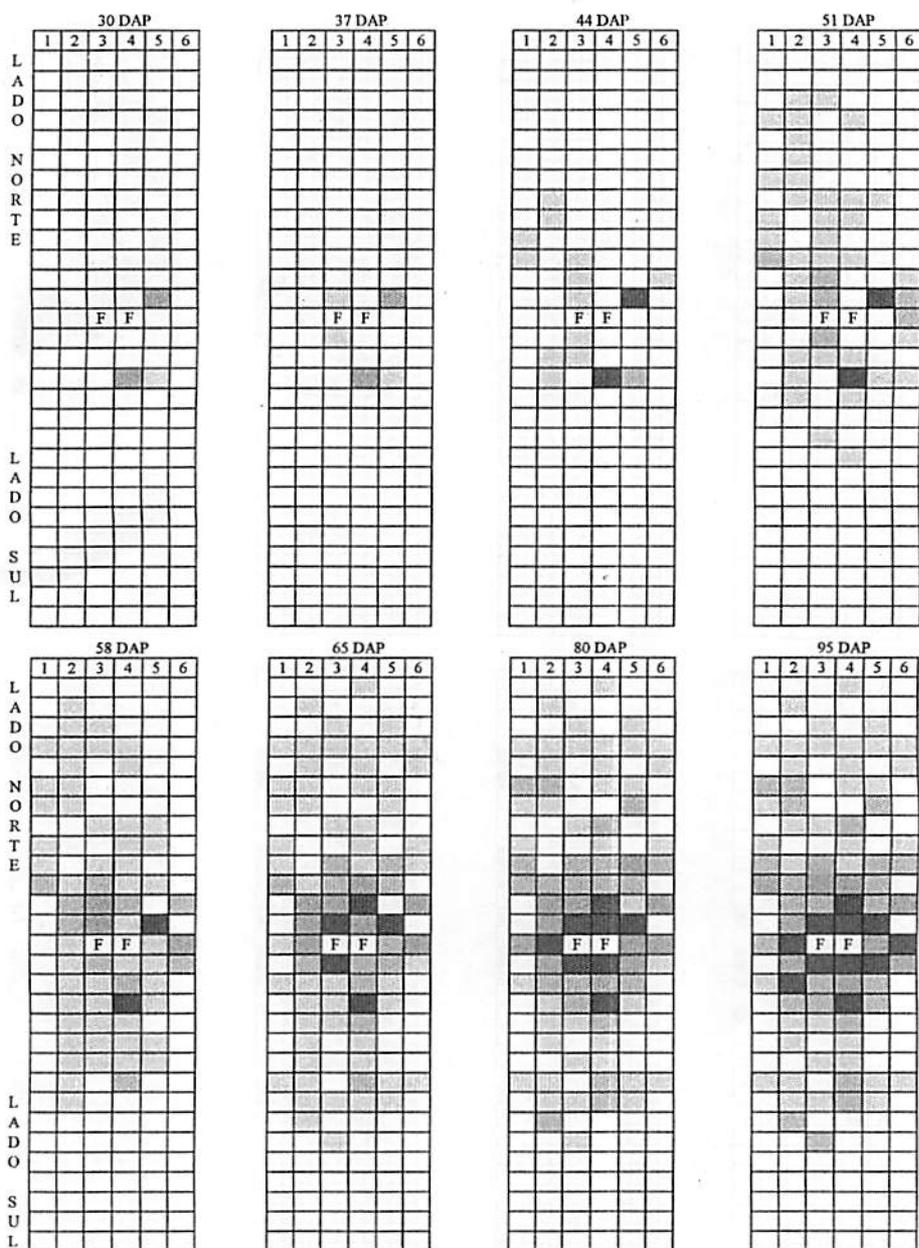


FIGURA 5. Mapas de distribuição espacial da severidade da ramulose do algodoeiro (janeiro a março/2003). quadrado claro = planta sadia; F = Fonte de inóculo; □ = nota 1; □ = nota 2; □ = nota 3; □ = nota 4; DAP = Dias após plantio. Esp. entre plantas = 12,5 cm. Esp. entre linhas = 90 cm.

5.5 Transmissibilidade do patógeno da planta para a semente

Houve diferença significativa entre os tratamentos quanto a incidência e a severidade do patógeno nas sementes, detectada pelo teste de F (Tabela 3A). Na análise de regressão realizada para comparar os níveis de inóculo observou-se aumento da incidência e da severidade, representada pela porcentagem de propágulos do patógeno sobre a semente, com o aumento no nível de inóculo de 0% a 16% (Figura 6 e 7). Comportamento semelhante foi observado nas avaliações da incidência e da severidade da doença no campo, representadas pela AACPI e AACPS.

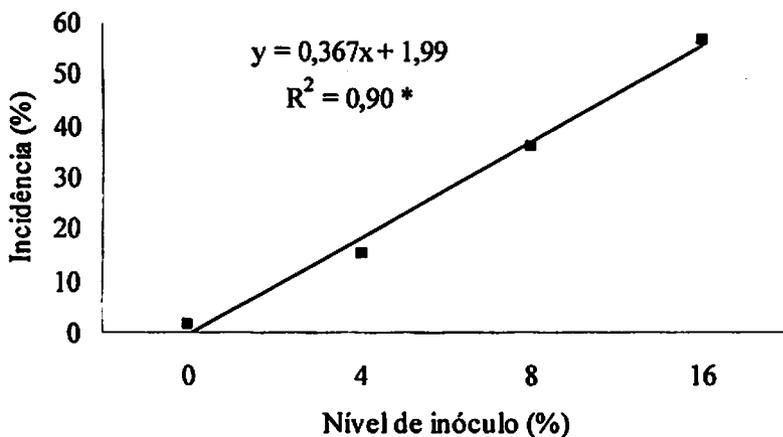


FIGURA 6. Equação de regressão para incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes, em função do nível de inóculo inicial. UFLA, Lavras, MG, 2004.

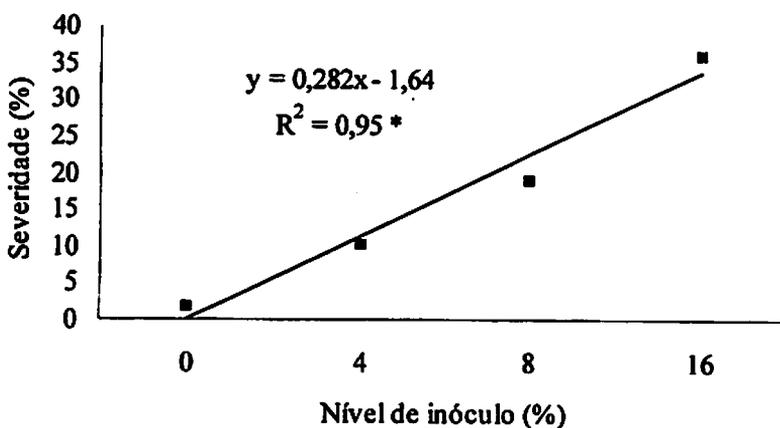


FIGURA 7. Equação de regressão para severidade, dada em porcentagem de propágulos de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* sobre as sementes, em função do nível de inóculo inicial. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Houve correlação significativa positiva entre o nível de inóculo nas sementes levadas ao campo e a incidência e severidade nas sementes e entre a AACPS da doença no campo e a severidade do patógeno nas sementes (Tabela 3). Pizzinato et al. (1994), em estudos com diferentes genótipos, também não detectaram correlação significativa entre a severidade da doença e a infecção das sementes, porém os autores não fizeram a correlação com o grau de infecção, como foi realizado nesse trabalho.

Santos et al. (1993) detectaram a presença de 35% de *C. g. var.cephalosporioides* em sementes obtidas de plantas inoculadas no período de maçãs formadas. Lima et al. (1985) também chegaram a resultados semelhantes. Segundo esses autores, a inoculação realizada nesse período favoreceu a contaminação das sementes devido ao maior contato do patógeno com os tecidos das maçãs. O mesmo não foi observado quando as plantas foram inoculadas no período vegetativo da cultura, resultando em maior intensidade da doença,

porém com menor incidência na semente colhida. Com esse resultado, não foi possível detectar correlação positiva significativa entre a severidade da doença e a infecção das sementes.

TABELA 3. Coeficiente de correlação entre a intensidade da doença no campo, o potencial de inóculo e a incidência e severidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes colhidas. UFLA, Lavras, MG, 2004.

sanidade	AACPI	AACPS	NI
IS	0,83 ns	0,86 ns	0,91*
SS	0,84 ns	0,88 *	0,88*

AACPI e AACPS = área abaixo da curva de progresso da incidência e da severidade; IS e SS= incidência e severidade nas sementes; NI = nível de inóculo inicial nas sementes.
* = significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F
ns = não significativo

Contudo, plantas com maior grau de severidade têm tendência de produzir sementes com níveis maiores do patógeno. Pizzinatto et al. (1991) obtiveram maior porcentagem de sementes contaminadas quando estas foram colhidas de plantas com nota máxima na escala de severidade sugerida por Costa (1941).

Vale ressaltar que a incidência natural de um patógeno nas sementes é bem inferior à obtida em sementes inoculadas. A inoculação de sementes exerce um importante papel na severidade de muitas doenças por garantir maior concentração de inóculo (Tanaka et al., 1989; Valarini & Menten, 1991). Provavelmente, o método de inoculação contribuiu para a maior ocorrência do patógeno nas sementes utilizadas como inóculo inicial no campo, resultando em correlação positiva com a intensidade do patógeno nas sementes.

5.6 Produção de algodão em caroço

Segundo dados técnicos fornecidos pelo Instituto Agronômico de Campinas, a linhagem IAC/273, utilizada neste experimento, apresenta alta suscetibilidade à ramulose. No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos para produção de algodão em caroço (Tabela 1A e 4). Apesar de se ter observado diferença na intensidade da doença no campo, essa não foi refletida nos dados de produção. Contudo, intensidade do patógeno observada nas sementes colhidas pode representar riscos quanto à utilização dessas sementes em cultivo posterior, com prováveis perdas na produção.

Em condições favoráveis, a ramulose pode causar redução de 30 a 70% na produção, podendo chegar a 85% (Silveira, 1965). Carvalho et al. (1984), estudando cultivares com baixo nível de tolerância a ramulose, observaram redução na produção de 33,19% e de 46,14% em experimentos conduzidos nos anos de 1981 e 1982, respectivamente.

TABELA 4. Produção de algodão em caroço em função do nível de inóculo inicial nas sementes. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Nível de inóculo (%)	Produção (kg/ha)*
0	2304,0 a
2	2098,8 a
4	2088,0 a
8	2392,0 a
16	2415,7 a

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

6 CONCLUSÕES

- 1. As variáveis emergência em campo e estande final não foram influenciadas pela quantidade de inóculo inicial nas sementes.**
- 2. O progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS) foi maior com o aumento do nível de inóculo inicial nas sementes.**
- 3. Nas condições de Lavras-MG, coeficientes de correlação negativos e significativos foram observados entre a incidência e a severidade da ramulose com a temperatura mínima. Observou-se também que a intensidade da doença não foi correlacionada com o período chuvoso, não sendo alta o suficiente para afetar a produção.**
- 4. Houve correlação entre a AACPS e a severidade do patógeno nas sementes e entre o nível de inóculo inicial e a incidência e severidade nas sementes colhidas.**
- 5. O padrão de distribuição da doença foi agregado, com maior incidência e severidade da doença dos 51 aos 65 dias.**

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, J. Controle à ramulose tardia do algodoeiro. **O Biológico**, Campinas, v. 27, n. 6, p. 121-123, jun. 1961.
- ARNDT, C. H. infection of cotton seedlings by *Colletotrichum gossypii* as affected by temperature. **Phytopathology**, St. Paul, v. 34, n. 11, p. 861-869, Nov. 1944.
- BABADOOST, M.; HEBERT, T. T. Incidence of *Septoria nodorum* in wheat seed and its effects on plant growth and grain yield. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, n. 2, p. 125-129, Feb. 1984.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: LANARV/SNAD/MA, 1992. 360 p.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**, New York: J. Wiley, 1990.
- CARMO, M.G.F.; MAFFIA, L.A.; KIMURA, O.; CARVALHO, A.O. Disseminação da pústula bacteriana do pimentão causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, em condições de viveiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 85-93, mar. 1996.
- CARVALHO, J. C. B. de. **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1999. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, L. P.; CAVALCANTI, E. F. L.; SANTOS, E. O. Influência da ramulose nas características de fibra e produção do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 593-598, out. 1984.
- CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. **Doenças do algodoeiro: diagnose e controle**. Cuiabá: UFMT/FAMEV, 2000. 47 p.
- COSTA, A. S. Infestação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* South. E *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. **Jornal de Agronomia**, Piracicaba, v. 2, p. 265-272, 1939.

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

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

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.

FORCELINI, C. A. **Importância epidemiológica de fungos do gênero *Helminthosporium* em sementes de trigo e cevada.** In: MENTEM, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1991. p. 179-190.

GOULART, A. C. P. **Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes ao coleóptilo de trigo.** *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 22, n. 1, p. 5-9, jan./mar. 1996.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. **Seed health testing.** *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 4, n. 1, p. 152-155, 1976.

KIMATI, H. **Doenças do algodoeiro – *Gossypium* spp. .** In: GALLI, F. (Ed.) **Manual de Fitopatologia.** São Paulo: Editora Ceres, 1980. v. 2, p. 28-48.

LIMA, E. F.; CARVALHO, J. M. F. C.; CARVALHO, DE L. P; COSTA, J. N. **Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através da semente do algodoeiro.** *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 1, p. 105-115, fev. 1985.

MACHADO, A. Q.; CASSETARI NETO, D. **Nível de tolerância de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão no Mato Grosso.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. **Resumos Expandidos.** . . Goiânia, 2003.

MACHADO, J. C. **Padrão de tolerância de patógenos associados à sementes.** *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 2, p. 229-263, 1994.

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

MACHADO, J. C.; CARVALHO, J. C. B.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M. Methodology for infecting seeds by fungi using water restriction technique. In: INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS-SEED SYMPOSIUM, 26., 2001, Angers, France. Abstracts... Angers, France, 2001. p. 62.

MACHADO, J. 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. Symposium... Ottawa: ISTA, 1993. p. 48-58.

McKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.

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

MAUDE, R. B. **Seedborne diseases and their control: principles and practice**. Cambridge: Cab International, 1996.

MICHEL, B. E.; RADCLIFFE, D. A computer program relating solute potencial to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 1, p. 131-136, Jan./Feb. 1995.

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

PINTO, A. C. S.; POZZA, E. A.; TALAMINI, V.; MACHADO, J. C.; SALES, N. L. P.; GARCIA JÚNIOR, D.; SANTOS, D. M. Análise do padrão espacial e do gradiente da antracnose do feijoeiro em duas épocas de cultivo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 27, n. 3, p. 392-398, jul./set. 2001.

PIZZINATTO, M. A.; CIA, E.; FUZATTO, M. G. Relação entre a severidade de ramulose do algodoeiro em condições de campo e a presença de *Colletotrichum*

- gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes produzidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 7, p. 50-54, mar. 1994.
- PIZZINATTO, M. A.; CIA, E.; FUZATTO, M. G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 207-217, jul./dez. 1991.
- SANTOS, G. R.; ZAMBOLIM, L.; BATISTA, U. G. Transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes do algodoeiro em função do período de inoculação das plantas. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 19, n. 3/4, p. 177-180, jul./dez. 1993.
- SANTOS, G. R.; ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO do VALE, F. X.; MAFFIA; VIEIRA, J. M. Progresso e gradiente da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 390-393, set. 1994.
- SILVEIRA, A. P. Fungo e bactérias. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE POTASSA. **Cultura e Adubação do Algodoeiro**. São Paulo, 1965. p. 417-419.
- TALAMINI, V. Progresso espacial e temporal da antracnose a partir de diferentes níveis de inóculo inicial em sementes de feijoeiro. 2003. 144 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- TANAKA, M. A. S.; MACHADO, J. C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 122, p. 40-46, fev. 1985.
- TANAKA, M. A. S.; MARIANO, M. I. A.; MENTEN, J. O. M. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno. **Summa Phytopathology**, Piracicaba, v. 15, n. 3/4, p. 232-237, jul./dez. 1989.
- TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 219-226, jul./dez. 1991.
- TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Relação entre a resistência do algodoeiro à ramulose e a transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 227-234, jul./dez. 1992.

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

VALARINI, P. J.; MENTEN, J. O. M. Inoculação artificial de sementes de feijão com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e seu efeito sobre a qualidade sanitária e a germinação. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 227-231, jul./dez. 1991.

CAPÍTULO 3

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE INOCULAÇÃO DAS SEMENTES DE ALGODÃO NA TRANSMISSIBILIDADE DE *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*

1 RESUMO

ARAÚJO, Dejânia Vieira. Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes de algodão na transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. In: _____. Níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influência na epidemia da ramulose do algodoeiro. 2004. Cap. 3. p. 55-81. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

A Transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* foi estudada em diferentes temperaturas utilizando sementes inoculadas com diferentes tempos de exposição ao patógeno. O experimento consistiu de seis tratamentos, sendo três tempos de exposição (36, 72 e 108h) das sementes com e sem o fungo, testados em temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C. Os tratamentos sem o fungo foram utilizados como testemunhas. O delineamento foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 3x2x4, com análise conjunta entre as temperaturas. Os tempos de inoculação apresentaram diferença na incidência e severidade do patógeno nas sementes, sendo o maior valor observado no tempo de 108h, com conseqüências na germinação e porcentagem de plantas sobreviventes. Os tempos de 36h e 72h não apresentaram diferenças entre si. A temperatura e o potencial de inóculo proporcionaram redução na germinação e porcentagem de plantas sobreviventes. A intensidade da doença não foi influenciada pelo potencial de inóculo, no entanto, a temperatura foi fator determinante para a transmissibilidade do patógeno, sendo a incidência e a severidade maiores com o aumento desta. O condicionamento osmótico estimulou o desenvolvimento fúngico, sendo observadas maior incidência e severidade da doença no tempo de 108h.

* Comitê de orientação: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Professor Orientador); José da Cruz Machado – UFLA.

2 ABSTRACT

ARAÚJO, Dejânia Vieira. The influence of temperature and inoculation time of seeds in transmission of *Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides*. In: _____. *Inoculum levels of Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides* in seeds and its influence in epidemic of cotton ramulose. 2004. Cap. 3. p. 55-81. Dissertation (Master in Phytopatology). Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

The transmission of *Colletotrichum gossypi* var. *cephalosporioides* by cotton seeds was studied at different temperatures using seeds inoculated with different times of exposition to pathogen grown in osmotic agar medium. The experiment consisted of six treatments, three exposition times (36, 72 and 108h) of seeds to osmotic medium with and without fungi, tested under temperatures of 15, 20, 25 and 30°C. Treatments without fungus were used as control. The experiment was designed in randomized blocks with factorial scheme 3x2x4 and aggregation analysis between temperatures. Inoculation periods presented differences in incidence and severity of pathogen in seeds, the highest rates were observed when seeds were exposed for 108h, with consequences in germination and percentages of surviving plants. At 36 and 72h no statistical difference was detected between them. Temperature and inoculum potential provided lower rates in percentage of germination and surviving plants. Intensity of disease was not influenced by inoculum potential, however, temperature was an important factor affecting the transmissibility of pathogen; increasing incidence and severity led to increase in the transmissibility of the pathogen. Osmotic conditioning of seeds stimulated fungus development; high incidence and severity of disease were found when inoculation of seeds was done for 108h.

* Advising Committee: Edson Ampélio Pozza – UFLA (Major Professor); José da Cruz Machado – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A disseminação de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, bem como o progresso da doença, são amplamente influenciados pelas condições ambientais, sendo a temperatura e a umidade relativa os maiores limitantes (Kimati 1980). Em regiões com temperaturas elevadas, o progresso de doenças é inibido devido à interferência na viabilidade de esporos e na formação de lesões, reduzindo o período de esporulação dos patógenos e favorecendo as reações necróticas no hospedeiro (Vale & Zambolim, 1996).

O tombamento de plântulas, em pré e pós-emergência, é atribuído a baixas temperaturas no solo durante o período de germinação. Com isso, a velocidade de germinação é reduzida e tecidos jovens das plântulas ficam suscetíveis à ação de patógenos. Além desse fato, baixas temperaturas favorecem um aumento de exsudação de açúcares e aminoácidos, contribuindo com o aumento de microrganismos patogênicos e saprofíticos (Wilkes et al., 1970; Tanaka, 1995).

A transmissão de patógenos da semente para a parte aérea é influenciada pela temperatura. Porém, antes de concluir sobre a temperatura e a transmissão de patógenos, é preciso levar em consideração o efeito desta nas taxas de germinação e de emergência e na duração da interação entre o patógeno e o hospedeiro (Shah & Bergstrom, 2000). Além desses fatores, o potencial de inóculo e sua localização são de extrema importância no processo infeccioso (Tanaka & Machado, 1985).

Com o intuito de avaliar a frequência de transmissão de patógenos, diversos trabalhos foram realizados mediante a inoculação das sementes visando altos índices de infecção (Shah & Bergstrom, 2000). A inoculação de sementes, além de garantir a associação da sintomatologia, possibilita ainda estudos de patogenicidade, resistência do hospedeiro e controle, dentre outros (Tanaka et

al., 1989; Tanaka & Menten, 1991). Além do método de inoculação, o tempo de contato das sementes é também de grande importância para obter sementes com diferentes potenciais de inóculo após o período de incubação (Machado & Machado, 2002).

Vários trabalhos elucidaram o efeito de *C. g. var. cephalosporioides* em sementes inoculadas (Costa, 1939; Balmer et al. 1966; Lima, 1981; Tanaka & Menten 1991; Prado et al. 2002), no entanto, não se têm relatos de estudos relacionando o tempo de exposição das sementes e a influencia da temperatura na transmissibilidade do patógeno.

Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes temperaturas e do tempo de exposição das sementes na intensidade do tombamento do algodoeiro associado a *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento vegetal localizadas nos Departamentos de Fitopatologia e de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, no período de agosto a outubro de 2003.

4.1 Delineamento experimental e condução do experimento

O delineamento foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de 50 sementes plantadas em caixas plásticas contendo oito quilogramas do substrato solo + areia, na proporção de 2:1, previamente esterilizado com brometo de metila. O experimento teve duração de 28 dias. A análise de variância foi realizada em esquema fatorial com três fatores 3 x 2 x 4 (três tempos de exposição ao fungo, sementes com e sem inoculação e quatro temperaturas). Para se anular o efeito do local, foi realizada análise conjunta dos dados com as temperaturas.

Os tempos de exposição foram de 36, 72 e 108 horas e as temperaturas, de 15, 20, 25 e 30°C. Diariamente foram efetuadas regas e anotações de dados de temperatura e umidade relativa, obtidos com termohigrógrafos localizados em cada câmara. Foram registradas umidades relativas médias diárias de 50% a 90%, sendo as mais baixas observadas na câmara de 20°C.

4.2 Análise de sementes e inoculação do patógeno

Foram utilizadas sementes da linhagem NU 15 do Instituto Agronômico de Campinas/SP, produzidas na safra 2002/2003, deslintadas com ácido sulfúrico (PA) e submetidas à assepsia com hipoclorito de sódio 2% por um

minuto. As sementes foram submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em papel de filtro e de germinação pelo método de rolo de papel.

Para inocular o patógeno foram utilizadas culturas puras de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* cultivadas em meio BDA por sete dias. As sementes foram inoculadas pelo método da restrição hídrica (Carvalho, 1999; Machado et al., 2001). Suspensão de conídios foi adicionada (1 mL) em placas de petri de 15 cm de diâmetro contendo BDA + manitol ajustado para -1 MPa, calculado pelo software SPPM (Michel & Radcliffe, 1995). A suspensão foi distribuída uniformemente sobre o meio com o auxílio de alça de Drigalski. Em seguida, as placas foram incubadas à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas por três dias.

Sementes foram desinfestadas e colocadas sobre as culturas e novamente incubadas por períodos de 36, 72 e 108 horas. Em cada tempo de inoculação, sementes foram mantidas em placas sem a presença do fungo, servindo como testemunhas. Ao serem retiradas do meio com restrição, as sementes foram secas ao ar por 24 horas.

4.3 Teste de sanidade das sementes

As sementes inoculadas foram submetidas à assepsia com hipoclorito de sódio 2% por um minuto e submetidas ao teste de sanidade. Após o período de incubação, as placas foram analisadas em microscópio estereoscópico, considerando a incidência do patógeno nas sementes, dada em porcentagem.

4.4 Porcentagem de germinação e de plântulas sobreviventes

Para o cálculo da porcentagem de germinação foram realizadas contagens diárias do número de plântulas emergidas, a partir do surgimento das

primeiras plântulas. Esse período variou de 3 a 10 dias após a semeadura, dependendo da temperatura. As contagens foram interrompidas quando o número de plântulas emergidas estabilizou.

O número de plântulas sobreviventes foi obtido aos 28 dias com o término do experimento. Os valores foram transformados para porcentagens de plântulas sobreviventes em cada parcela experimental.

4.5 Incidência e severidade da doença

A incidência e a severidade da doença foram avaliadas aos 28 dias em todas as plântulas da parcela, quando o experimento foi encerrado. Avaliou-se a porcentagem de plântulas emergidas com sintomas da doença e a severidade por meio do índice de doença ponderado por McKinney (1923) nas quatro temperaturas. A escala de notas utilizada para o cálculo do índice de doença foi a seguinte: 0 = plântulas sadias; 1 = lesão foliar; 2 = lesão no hipocótilo; 3 = lesão foliar e no hipocótilo; 4 = plântulas mortas.

4.6 Análise dos dados

As análises foram feitas nos programas SAS (Statistical Analysis System) e SISVAR (Ferreira, 2000). Os dados foram transformados para raiz de x quando necessário.

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Sanidade das sementes

No teste de sanidade inicial das sementes de algodoeiro da linhagem Nu 15, constatou-se a presença dos seguintes gêneros de fungo: *Fusarium* sp. (19,5%), *Aspergillus* sp. (2%) e *Penicillium* sp. (1%). Apesar de ser altamente suscetível à ramulose, não foi detectada a presença do gênero *Colletotrichum* nas sementes pelo método de papel de filtro. No teste de germinação, realizado pelo método de rolo de papel, as sementes apresentaram 97,5% de plântulas normais.

Após o período de inoculação, foi detectada a presença de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e de outros fungos, fitopatogênicos e saprofiticos, em todos os tratamentos (Tabela 1). A incidência desses fungos foi maior nos tratamentos testemunhas, comparados com os inoculados. Percebe-se também que esta foi maior com o aumento no tempo de exposição (Tabela 1). Provavelmente, esses fungos já se encontravam associados às sementes, porém em porcentagens muito baixas, não sendo, portanto, detectados pelo teste de sanidade tradicional. O pré-condicionamento pode ter estimulado o crescimento dos fungos e contribuído para detectá-los no teste de sanidade posterior. O condicionamento osmótico, em experimento visando avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes com e sem tratamento químico, estimulou o desenvolvimento de fungos associados à semente de cebola (Nunes et al., 2000). Isso ocorreu devido à maior exposição das sementes às condições de umidade e temperatura durante o condicionamento, favoráveis ao desenvolvimento fúngico (Khan et al., 1992).

TABELA 1. Incidência de fungos, fitopatogênicos e saprofiticos, em sementes de algodão submetidas ao condicionamento osmótico. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Fungos	Incidência (%)					
	36h CF	36h SF	72h CF	72h SF	108h CF	108h SF
<i>Fusarium</i> sp.	6,0	10,5	15,5	22,0	5,0	40,0
<i>Botriodiplodia theobromae</i>	0,5	3,5	1,5	14,5	2,5	13,0
<i>Penicillium</i> sp.	0,0	2,5	1,5	43,0	5,0	67,5
<i>Aspergillus</i> sp.	0,0	3,5	6,0	41,0	5,5	76,0
<i>Cladosporium</i> sp.	1,5	6,5	2,0	4,0	2,0	0,5
<i>Alternaria</i> sp.	2,0	3,5	2,0	3,5	2,5	4,0
<i>Rhizopus</i> sp.	2,0	0,0	0,0	17,0	0,5	22,5

CF e SF = tratamento com e sem *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, respectivamente.

5.2 Incidência e severidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes inoculadas com diferentes tempos de exposição ao patógeno

A interação tempo de exposição das sementes e sementes com e sem o patógeno não foi significativa para a incidência de *C. g.* var. *cephalosporioides* pelo teste de F ($P \leq 0,05$) (Tabela 4A). Houve diferença significativa para os fatores tempo de exposição e fungo, isoladamente (Tabela 4A). Os tratamentos submetidos ao tempo de exposição de 108h apresentaram, em média, maior incidência do patógeno em relação aos tempos 36h e 72h, que não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) (Tabela 2). Com esse resultado pode-se observar que a inoculação das sementes foi eficiente e o tempo de exposição destas ao patógeno permitiu obter sementes com diferentes porcentagens de inóculo quando este foi maior (108h).

Na avaliação de severidade, dada pela porcentagem de propágulos do patógeno nas sementes, foi observada diferença significativa na interação entre tempo de exposição e fungo (com e sem) (Tabela 4A). O tempo de exposição de

108h com fungo também apresentou maior severidade em relação aos tempos 36h e 72h, que não difeririam entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Apesar do aumento progressivo na severidade, não houve diferença entre os três tempos nos tratamentos sem fungo utilizados com testemunhas (Tabela 2).

Avaliando a incidência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro inoculadas pelo método da restrição hídrica nos tempos de inoculação de 36, 72, 108 e 144 horas, Costa (2000) observou maior incidência do fungo nas sementes com aumento do tempo de exposição.

Da mesma forma, Tanaka et al (1989) obtiveram maior incidência com o aumento do tempo de exposição das sementes a *C. g.* var. *cephalosporioides* de 12h para 48h. Segundo os autores, o aumento do tempo de exposição gerou associação tipo infecção decorrente da maior penetração do patógeno nas sementes.

Em inoculação de sementes de feijão com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* observou-se a contaminação de 100% das sementes logo após o contato com o patógeno, porém a infecção de 100% destas só foi observada a partir de 36h de contato bactéria-semente (Valarini & Menten, 1991).

TABELA 2. Incidência e severidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Cgc) em sementes em função do tempo. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Tempo de exposição (h)	Incidência (%) [*]	Severidade (%) [*]	
		com Cgc	sem Cgc
36	43,50 b	46,67 b	0,33 a
72	43,25 b	49,50 b	1,83 a
108	51,00 a	72,50 a	4,67 a

^{*}Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

¹Porcentagem de propágulos do patógeno na semente.



5.3 Avaliação da germinação e porcentagem de plântulas sobreviventes em diferentes temperaturas

Na avaliação de germinação observou-se diferença significativa apenas para a interação fungo (Com e sem) e temperatura e o fator tempo de exposição isoladamente pelo teste de F ($P \leq 0,05$) (Tabela 5A).

A porcentagem de germinação das sementes e de plântulas sobreviventes oriundas dos tratamentos inoculados com restrição hídrica foi semelhante nos tempos de 36h e 72h, havendo redução quando os tratamentos foram submetidos ao maior tempo de inoculação, 108h. (Tabela 3).

Sabe-se que o nível de inóculo presente na semente influencia a germinação e transmissão de patógenos. Estes, quando associados à semente, são grandes causadores de morte em pré e pós-emergência de plântulas, reduzindo, portanto, a germinação (Tanaka, 1994). O maior tempo de inoculação favoreceu o aumento da infecção das sementes pelo patógeno, conseqüentemente houve redução na germinação. As plântulas emergidas no tempo de inoculação de 108h sofreram maior pressão do inóculo presente nas sementes, refletindo em menor porcentagem de plântulas sobreviventes. Contudo, o condicionamento osmótico também pode exercer influência na germinação de sementes. Lopes et al. (1996) verificaram uma redução na germinação de sementes de cebola com o aumento do período de condicionamento osmótico de 48h a 192h.

O tempo de condicionamento aliado à presença de fungo foi estudado em outras culturas, onde também foi possível observar reduções significativas na germinação das sementes quando este foi aumentado. Apesar das particularidades de cada patossistema, os resultados observados concordam com os obtidos no presente trabalho. Costa et al. (2002) observaram redução gradativa na germinação de sementes de feijão inoculadas com *Fusarium*

oxysporum f. sp. *phaseoli* quando o período de inoculação aumentou de 0 até 144 horas. Da mesma forma, em estudos com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* inoculada em feijão, a germinação foi afetada a partir de 36h de contato da bactéria com as sementes (Valarini & Menten, 1991).

Trabalho semelhante a este, porém testando o efeito do tratamento químico em sementes de algodão inoculadas com *C. g.* var. *cephalosporioides* por 0, 48, 96 e 144 horas pelo método da restrição hídrica, foi realizado por Prado et al. (2002). A germinação das sementes variou de acordo com a eficácia dos tratamentos nos diferentes níveis de inóculo. Em outro trabalho com o mesmo patossistema, o teste de germinação não foi realizado, no entanto, os resultados evidenciaram possível redução na germinação devido à maior porcentagem de radículas apodrecidas e sementes mortas com o aumento do tempo de inoculação das sementes de 0 a 48 horas (Tanaka et al., 1989).

Como observado em sementes inoculadas, o nível de inóculo em sementes naturalmente infectadas pode causar redução na germinação. Celanò (2003), testando níveis de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo observou redução gradativa na germinação com o aumento do inóculo na semente.

TABELA 3. Porcentagem de germinação e de plântulas sobreviventes em função do tempo de inoculação das sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Tempo de exposição (h)	Germinação (%)*	Plântulas sobreviventes (%)
36	77,0 a	58,1 a
72	75,0 a	56,3 a
108	68,0 b	46,4 b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A germinação de plantas é altamente influenciada pela temperatura (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). Os efeitos da temperatura podem ser avaliados a partir de mudanças ocasionadas na porcentagem, velocidade e frequência relativa ao longo do tempo (Labouriau, 1983).

No presente trabalho, a porcentagem de germinação e de plântulas sobreviventes foi influenciada pela temperatura, havendo diferença significativa entre os tratamentos com e sem a presença do fungo (Tabela 5A e 4). As temperaturas de 25°C e 30°C não apresentaram diferenças entre os tratamentos com fungo e sem fungo, sendo observados valores altos na germinação. Nas temperaturas 15°C e 20°C, consideradas desfavoráveis para o crescimento do patógeno e da planta, foram observadas grandes diferenças entre os tratamentos (Tabela 4). Em todas as temperaturas, a porcentagem de plântulas sobreviventes foi maior nos tratamentos sem o fungo. A redução no número de plântulas foi atribuída ao patógeno devido a ocorrência de tombamento e morte de plântulas observados durante a condução do experimento. Esses resultados concordam com os obtidos por Tanaka (1994) o qual, testando a temperatura na germinação de sementes de algodoeiro em solo naturalmente infectado por patógenos causadores de tombamento, observou menor germinação quando as sementes foram submetidas ao pré-resfriamento (nove dias a 10°C seguido de três dias a 30°C) e na temperatura de 20°C com valores de 56,5% e 60%, respectivamente, sendo *C. gossypii* o responsável pela redução drástica da germinação em todas as temperaturas.

TABELA 4. Germinação e porcentagem de plântulas sobreviventes com e sem *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Cgc) inoculado, em função da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Temperatura (°C)	Germinação (%)*		Plântulas sobreviventes (%)	
	com Cgc	sem Cgc	com Cgc	sem Cgc
15	7,3 b	82,2 a	0,0 b	82,5 a
20	41,3 b	91,2 a	1,8 b	85,1 a
25	88,6 a	93,6 a	38,1 b	96,1 a
30	90,0 a	92,6 a	33,2 b	92,2 a

*Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Na análise de regressão realizada para comparar o efeito da temperatura nos tratamentos com fungo, observou-se redução na germinação e na porcentagem de plântulas sobrevivente quando esta variou de 30°C a 15°C (Figura 1). Essa redução certamente está relacionada à menor velocidade de germinação devido à baixa temperatura do solo, permanecendo a semente por maior tempo em contato com o patógeno (Tanaka & Machado 1985). A presença de patógenos, aliada a baixas temperaturas, pode contribuir negativamente na germinação de sementes. Em temperaturas muito baixas há maior predisposição à ocorrência de doenças devido ao efeito estimulante da exsudação de substâncias orgânicas de sementes ou raízes que favorecem o crescimento e a infecção por microrganismos (Tanaka, 1995).

Por outro lado, as sementes apresentam capacidade germinativa em limites bem definidos de temperaturas, característicos de cada espécie (Bewley & Black, 1994). Portanto, em temperaturas favoráveis há início do processo germinativo, ocorrendo o desenvolvimento e a emergência da plântula em curto período de tempo, reduzindo a atuação de patógenos responsáveis por causar a morte em pré-emergência. No entanto, os patógenos necrotróficos são transmitidos para a parte aérea com o desenvolvimento da plântula em condições

ideais de temperatura e umidade, causando infecção primária da doença (Maude, 1996).

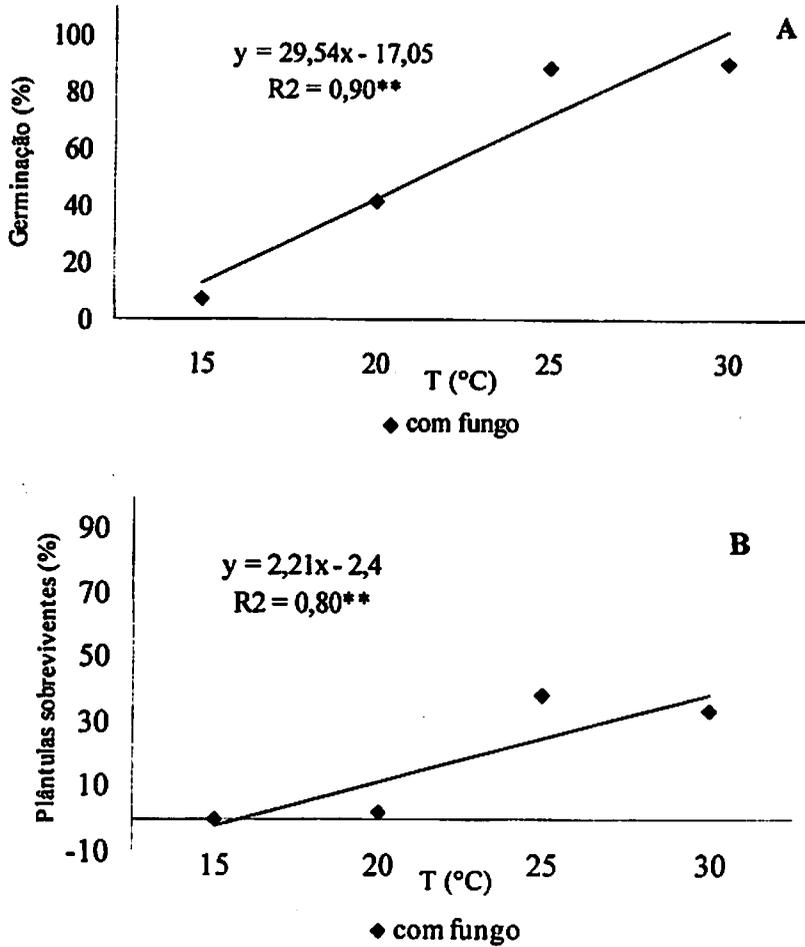


FIGURA 1. Equação de regressão para germinação (A) e porcentagem de plântulas sobreviventes (B) em diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2004.

5.4 Incidência e severidade da ramulose em ambiente controlado

Na análise de variância para incidência e severidade da doença, observou-se diferença significativa entre as interações tempo de inoculação e fungo e entre temperatura e fungo pelo teste de F ($P \leq 0,05$) (Tabela 6A). Não foi observado efeito significativo da temperatura sobre o tempo de inoculação (Tabela 6A).

A técnica da restrição hídrica possibilita a infecção de sementes com diferentes níveis de inóculo de acordo com o tempo de exposição da semente ao patógeno (Machado et al. 2001). Apesar do teste de sanidade apontar diferenças quanto à porcentagem de inóculo na semente (Tabela 2), não houve diferença entre os tratamentos (Tukey $P \leq 0,05$) com fungo, nos três tempos de exposição das sementes ao patógeno, quanto à incidência e severidade do tombamento de *C. g. var. cephalosporioides*. Contudo, a presença do patógeno inoculado proporcionou maior incidência e severidade nos tratamentos com fungo comparados com as testemunhas (Tabela 5).

Em trabalhos realizados com *Colletotrichum lindemuthianum* inoculado em sementes de feijão pela técnica da restrição hídrica, Carvalho (1999) obteve aumento da incidência e severidade da doença em plântulas em função do aumento do tempo de exposição das sementes. Essa divergência entre resultados pode estar relacionada com as características de cada patógeno. Apesar de pertencerem ao mesmo gênero, *C. g. var. cephalosporioides* desenvolve-se rapidamente em meio de cultura, ao passo que *C. lindemuthianum* apresenta desenvolvimento lento. Isso pode influenciar diretamente na inoculação do patógeno em sementes.

No entanto, o maior tempo de inoculação nem sempre significa maior nível de inóculo na semente, pois depende do soluto e do potencial hídrico testados. Sousa et al. (2002), utilizando a metodologia da restrição hídrica para a

infecção de sementes de algodoeiro com *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, testaram diferentes potenciais hídricos com solutos manitol e NaCl em tempos de exposição das sementes de 0, 48, 72, 96 e 120 horas. A maior redução na incidência foi observada no potencial -0,9 MPa com NaCl no tempo de 72 horas.

O fato de se ter usado as sementes sem desinfestação prévia pode ter favorecido a transmissão do patógeno que se encontrava interno e externamente às sementes. Tanaka et al. (1989) obtiveram 43,8% de incidência de *C. g. var. cephalosporioides* em plântulas oriundas de sementes inoculadas e previamente desinfestadas, ao passo que as não desinfestadas apresentaram 72,2%. Os mesmos autores observaram que independentemente do tempo de inoculação, as sementes sem assepsia apresentaram maior incidência do patógeno nas plântulas.

No presente trabalho, observou-se diferença na incidência e na severidade entre os tratamentos sem a presença do patógeno inoculado, sendo maior no tempo de 108h. Não foi observada diferença entre os tempos de 36h e 72h (Tabela 5).

O fato do tratamento 108h de inoculação sem o patógeno apresentar maior incidência e severidade da doença pode ser atribuído ao desenvolvimento de *C. g. var. cephalosporioides* naturalmente infectado nas sementes utilizadas neste experimento. Sendo assim, o condicionamento osmótico favoreceu o desenvolvimento do patógeno na semente com o aumento o tempo de exposição. Essa diferença foi maior no tempo de 108h, com resposta sobre a incidência e severidade da doença avaliada em condições de ambiente controlado.

TABELA 5. Incidência e severidade da ramulose em plântulas em função do tempo de inoculação das sementes com e sem *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Cgc). UFLA, Lavras, MG, 2004.

Tempo de exposição (h)	Incidência (%)*		Severidade (%)	
	com Cgc	sem Cgc	com Cgc	sem Cgc
36 h	60,5 aA	13,9 bB	55,1 aA	14,8 bB
72 h	58,5 aA	15,7 bB	53,5 aA	14,0 bB
108 h	51,2 aA	36,7 aB	47,8 aA	29,8 aB

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Para incidência e severidade avaliada em cada temperatura, observou-se diferença significativa entre os tratamentos com e sem o fungo inoculado (Tabela 6). Na temperatura de 15°C, o tratamento sem o fungo apresentou maior incidência e severidade do patógeno quando comparado com o tratamento inoculado com o patógeno (Tabela 6). A avaliação de doença foi realizada considerando as plântulas emergidas. No entanto, no tratamento inoculado, a presença do patógeno proporcionou baixa germinação das sementes, resultando em menor incidência e severidade da doença nessa temperatura. O mesmo aconteceu com a severidade da doença na temperatura de 20°C, a qual foi semelhante entre os tratamentos inoculados e não inoculados.

TABELA 6. Incidência e severidade do tombamento em plântulas de algodoeiro causado por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Cgc) em diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Temperatura (°C)	Incidência (%)*		Severidade (%)	
	com Cgc	sem Cgc	com Cgc	sem Cgc
15	7,3 b	21,0 a	7,3 b	14,5 a
20	41,2 a	22,3 b	32,7 a	41,1 a
25	88,7 a	23,0 b	79,2 a	16,2 b
30	89,8 a	22,2 b	80,9 a	14,8 b

*Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Na análise de regressão realizada para comparar o efeito da temperatura nos diferentes tratamentos observou-se aumento da incidência e da severidade da doença com o aumento da temperatura (Gráfico 2).

A incidência da doença progrediu atingindo 89,8% das plântulas emergidas a 30°C (Gráfico 2A). Nas temperaturas de 15°C e 20°C, todas as plântulas emergidas foram afetadas pelo patógeno, porém a baixa germinação contribuiu para a baixa incidência. Este resultado está diretamente relacionado com a temperatura, pois a faixa de temperatura favorável para o crescimento do patógeno encontra-se entre 25°C e 30°C (Kimati, 1980), com ótimo em 22°C (Arndt, 1944). Nessas condições, considerando também a umidade relativa elevada, o patógeno pode causar grandes epidemias no campo. Abaixo de 22°C nem a planta nem o patógeno apresentam bons desempenhos. No entanto, a germinação observada nos tratamentos submetidos aos mesmos tempos de exposição das sementes, porém sem o fungo (Tabela 3), sugere que a baixa germinação dos tratamentos com o fungo é devida em grande parte ao efeito do patógeno, causando morte em pré-emergência e, conseqüentemente, a baixa incidência deste na parte aérea das plântulas.

Resultado semelhante foi obtido para severidade da doença nos tratamentos com o fungo. Esta foi maior com o aumento da temperatura, alcançando o máximo de 80,9 % na temperatura de 30°C e o mínimo de 7,3% na temperatura de 15°C. Leite & Amorim (2002), testando diferentes temperaturas na severidade de *Alternaria helianthi* em girassol, observaram aumento da temperatura com incremento na severidade da doença até aproximadamente 30°C, sendo que a 15°C a severidade da doença foi praticamente nula.

Vários trabalhos relataram o efeito da temperatura associado ao período de molhamento foliar sobre a severidade de doenças. Carisse et al. (2000) testaram várias combinações de temperatura e tempo de molhamento foliar (5°C a 35°C) no desenvolvimento de *Mycosphaerella fragariae* em morangueiro e obtiveram as maiores infecções nas folhas na temperatura de 25°C, sendo que em folhas novas foram observadas lesões em todas as temperaturas, exceto a 35°C.

Carneiro & Amorim (1999) observaram a evolução dos sintomas do mal-de-sete-voltas da cebola (*C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*). Estes foram maiores nas temperaturas de 25°C e 30°C, sendo a severidade da doença proporcional ao aumento da temperatura no intervalo de 15°C a 30°C.

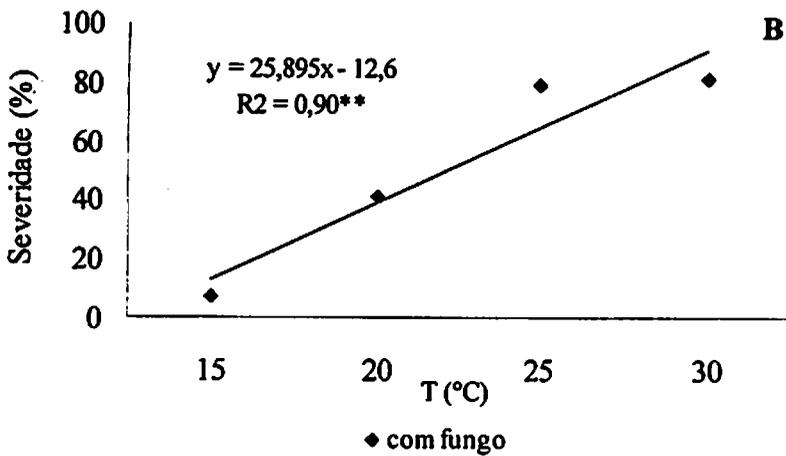
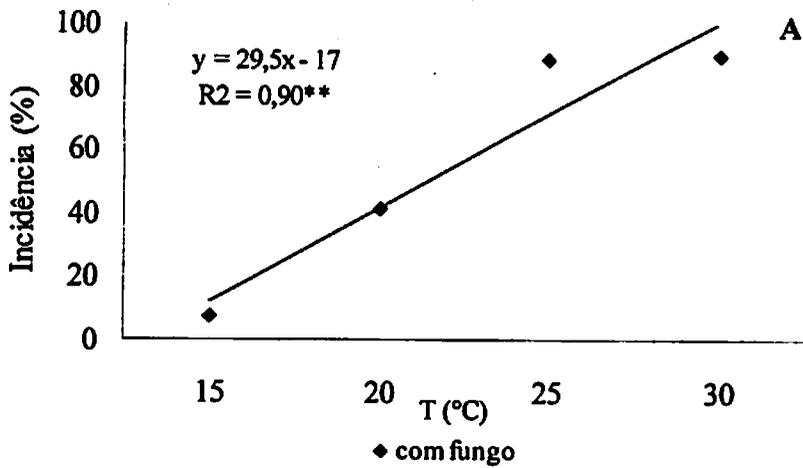


FIGURA 2. Equação de regressão para incidência (A) e severidade (B) da ramulose em função da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.

6 CONCLUSÕES

1. O tempo de exposição de 108h apresentou maior incidência e severidade do patógeno nas sementes nas análises de sanidade, germinação e plantas sobreviventes.
2. A germinação e a porcentagem de plântulas sobreviventes foram maiores com o aumento na temperatura. O efeito da temperatura baixa, aliada ao potencial de inóculo nas sementes, ocasionou a redução na germinação e na porcentagem de plantas sobreviventes.
3. A incidência e a severidade da doença não foram influenciadas pelo tempo de exposição das sementes nos tratamentos com o patógeno.
4. A temperatura foi determinante para a ocorrência da doença. A incidência e a severidade do tombamento causado por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foram maiores quanto maior foi a temperatura.
5. O condicionamento osmótico estimulou o crescimento fúngico nos tratamentos sem inoculação com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.
6. Entre os tempos de exposição das sementes sem a presença do fungo, o tempo de 108h apresentou maior incidência e severidade do tombamento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNDT, C. H. infection of cotton seedlings by *Colletotrichum gossypii* as affected by temperature. *Phytopathology*, St. Paul, v. 34, n. 11, p. 861-869, Nov. 1944.
- BALMER, E.; SALGADO, C. L.; CIA, E.; CAMPOS, H. Efeito do potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. sobre o tratamento das mudinhas do algodoeiro. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Quieroz*, Piracicaba, v. 23, p. 325-338, 1966.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- CARISSE, O.; BOURGEOIS, G.; DUTHIE, J. A. Influence of temperature and leaf wetness duration on infection of strawberry leaves by *Mycosphaerella fragariae*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 90, n. 10, p. 1121-1125, Oct. 2000.
- CARNEIRO, L. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo do 'mal-de-sete-voltas' da cebola. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 24, n. 3, p. 422-427, set. 1999.
- CARVALHO, J. C. B. de. *Uso da restrição hídrica na inoculação de Colletotrichum lindemuthianum em sementes de feijão (Phaseolus vulgaris L.)*. 1999. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CELANO, M. M *Uso da restrição hídrica em teste de sanidade e em estudos sobre a interação entre fungos e sementes de trigo*. 2003. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- COSTA, A. S. Infestação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* South. E *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. *Jornal de Agronomia*, Piracicaba, v. 2, p. 265-272, 1939.
- COSTA, M. L. N. *Inoculação de Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli em sementes de feijoeiro por meio da restrição hídrica*. 2000. 70 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- COSTA, M. L. N.; MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, R. M.; POZZA, E. A.; ORIDE, D. Efeito de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* no desempenho de

sementes de feijoeiro infectadas artificialmente. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas, 2002. p. 42.

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.

KHAN, A. A.; ABAWI, G. S.; MAGUIRE, J. D. Integrating matricconditioning and fungicidal of table beet seed to improve stand establishment and yield. *Crop Science*, Madison, v. 32, n. 1, p. 231-237, Jan./Feb. 1992.

KIMATI, H. Doenças do algodoeiro – *Gossypium* spp. In: GALLI, F. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Editora Ceres, 1980. v. 2, p. 28-48.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria da OEA, 1983, 173p.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de alternaria em girassol. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 193-200, mar./abr. 2002.

LIMA, E. F. **Variabilidade de *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* A. S. Costa e avaliação da resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose**. 1981. 47 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

LOPES, H. M.; FONTES, P. C. R.; MARIA, J.; CECON, P. R.; MALAVASI, M. M. Germinação e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) influenciados pelo período e temperatura de condicionamento osmótico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 173-179, 1996.

MACHADO, A. Q.; MACHADO, J. C. Estudo da relação entre o potencial de inóculo de *Fusarium verticillioides* (syn. *F. moniliforme*) e o desempenho inicial de sementes de milho por meio da técnica de restrição hídrica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais..** Sete Lagoas, 2002. p. 453.

MACHADO, J. C.; CARVALHO, J. C. B.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M. Methodology for infecting seeds by fungi using water restriction technique. In: INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS-

SEED SYMPOSIUM, 26., 2001, Angers, France. Abstracts... Angers, France, 2001. p. 62.

MAUDE, R. B. **Seedborne diseases and their control – Principles; practice.** New York: CAB INTERNATIONAL, 1996. 280 p.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYER, A. (Ed.). **The germination of seeds.** New York: Pergamon Press, 1989. 270 p.

McKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.

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. 131-136, Jan/Fev. 1995.

NUNES, U. R.; SANTOS, M. R.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. S. Efeito do condicionamento osmótico e do tratamento com fungicida na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 239-246, 2000.

PRADO, P. E. R.; MACHADO, J. C.; CARVALHO, E. M.; SOUSA, M. V. Eficácia do tratamento químico de sementes de algodão em relação ao potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais... Sete Lagoas**, 2002. p. 52.

SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. Epidemiologia e manejo de patógenos transmitidos por sementes, com ênfase nos fungos que formam picnídios. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 8, p. 339-365, 2000.

SOUSA, M. V.; MACHADO, J. C.; ORIDE, D.; PRADO, P. E. R. Metodologia de infecção artificial de sementes de algodão por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais... Sete Lagoas**, 2002. p. 70.

TANAKA, M. A. S. Patógenos causadores de tombamento do algodoeiro e seus efeitos sobre a germinação das sementes em diferentes temperaturas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 29-33, mar. 1994.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1995. p. 171-178.

TANAKA, M. A. S.; MACHADO, J. C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 122, p. 40-46, fev. 1985.

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

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 219-226, jul./dez. 1991.

VALARINI, P. J.; MENTEN, J. O. M. Inoculação artificial de sementes de feijão com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e seu efeito sobre a qualidade sanitária e a germinação. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3/4, p. 227-231, jul./dez. 1991.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. **Revisão anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 149-207, 1996.

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. 3, p. 511-516, May/June 1970.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As divergências entre os resultados obtidos no trabalho de campo e trabalhos já publicados podem estar ligadas a alterações fisiológicas do patógeno ocorridas durante a condução do experimento devido ao fato da região de Lavras não ser propícia para o progresso da doença. No entanto, trabalhos seguindo essa linha de raciocínio devem ser realizados para esclarecer as questões levantadas.

Contudo, verificou-se, com esse trabalho, que baixa incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes pode resultar em altas taxas de progresso da ramulose, além de assegurar a transmissão para as semente. Essas sementes, na grande maioria, são utilizadas por produtores em plantios subsequentes, agravando ainda mais a situação. Portanto, determinar padrões de tolerância do patógeno em sementes é um desafio aos patologistas e epidemiologistas, requerendo estudos aprofundados em outras regiões do país com o intuito de avaliar o progresso da ramulose e o comportamento do patógeno nessas regiões de maneira a obter ferramentas com embasamento científico para determinar padrões.

Aspectos relacionados ao nível de inóculo nas sementes em diferentes temperaturas vieram complementar essas observações. Nesse trabalho, a interação entre esses dois fatores não foi observada, no entanto, a temperatura foi determinante na transmissibilidade do patógeno e no progresso da doença, independentemente da infecção na semente. Com esses resultados, torna-se importante salientar que apenas o nível de inóculo não deve ser utilizado para aceitar ou condenar um lote de sementes, devendo-se levar em consideração fatores relacionados ao ambiente, principalmente temperatura e umidade relativa do ar, e fatores intrínsecos a biologia do hospedeiro e ao patógeno.

Diante desses questionamentos, o fator econômico vem reforçar a tomada de decisão quanto aos padrões a serem adotados. A permissão para

comercializar lotes de sementes com determinado nível de ocorrência do patógeno, mesmo baixo, poderá resultar em perdas de grandes dimensões, dependendo da região onde as sementes serão utilizadas. Diante disso, a adoção de níveis de tolerância fundamentados em pesquisa científica é a medida mais segura na qual o produtor poderá utilizar e comercializar sementes de alta qualidade.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância dos dados referentes à emergência em campo (EC), estande final (EF) e produção de algodão em caroço (P). UFLA, Lavras, MG, 2004.....	84
TABELA 2A	Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro. UFLA, Lavras, MG, 2004.....	84
TABELA 3A	Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> nas sementes a partir de diferentes potenciais de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2004.....	84
TABELA 4A	Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> nas sementes , em função do tempo de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2004.....	85
TABELA 5A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação (G) e de plantas sobreviventes (PS) em função do tempo de inoculação, fungo (com e sem) e da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.....	85
TABELA 6A	Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade em plantas, em função do tempo de inoculação, fungo (com e sem) e da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.....	86

TABELA 1A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à emergência em campo (EC), estande final (EF) e produção de algodão em caroço (P). UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio		
		EC (%)	EF (%)	P (Kg/ha)
Bloco	2	22,87 ns	37,80 ns	1,88 *
Níveis de inóculo	4	138,57 ns	104,57 ns	0,09 ns
Resíduo	8	46,37	28,97	0,13
CV (%)		10,43	8,60	14,94

* = Teste de F significativo a 5%; ns = Teste de F não-significativo.

TABELA 2A. Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e severidade (AACPS) da ramulose do algodoeiro. UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio	
		AACPI	AACPS
Bloco	2	7,24 ns	15,06 ns
Níveis de inóculo	4	248,76 *	87,77 *
Resíduo	8	22,41	4,25
CV (%)		29,91	23,48

Dados transformados para \sqrt{x} ; * = Teste de F significativo a 5%; ns = Teste de F não-significativo.

TABELA 3A. Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes, em função do nível de inóculo inicial. UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio	
		Incidência (%) ¹	Severidade (%) ¹
Bloco	2	0,70 ns	0,14 ns
Níveis de inóculo	4	20,91 *	11,71 *
Resíduo	8	2,37	1,54
CV (%)		33,70	44,68

¹ = Dados transformados para \sqrt{x} ; * = Teste de F significativo a 5%; ns = não-significativo.

TABELA 4A. Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes, em função do tempo de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio	
		Incidência (%)	Severidade (%)
Tempo	2	310,33 *	1064,07 *
Fungo	1	86360,33 *	34920,22 *
Tempo*Fungo	2	60,33 ns	580,40 *
Resíduo	42	32,05	27,85
CV (%)		12,33	18,04

* = Teste de F significativo a 5%; ns = Teste de F não-significativo.

TABELA 5A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação (G) e de plantas sobreviventes (PS) em função do tempo de inoculação, fungo (com e sem) e da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio	
		G (%)	PS (%) ¹
Bloco (Temperatura)	12	131,92 ns	0,62 ns
Tempo	2	707,37 *	5,58 *
Fungo	1	26268,17 *	948,74 *
Temperatura	3	12073,61 *	74,67 *
Tempo*Fungo	2	53,04 ns	0,66 ns
Tempo*Temperatura	6	42,99 ns	0,24 ns
Fungo*Temperatura	3	7474,94 *	48,37 *
Tempo*Fungo*Temp.	6	90,99 ns	0,75 ns
Resíduo	60	72,88	0,61
CV (%)		11,63	12,44

¹ = Dados transformados para \sqrt{x} ; * = Teste de F significativo a 5%; ns = Teste de F não-significativo.

TABELA 6A. Resumo da análise de variância sobre a incidência e a severidade em plantas, em função do tempo de inoculação, fungo (com e sem) e da temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2004.

FV	GL	Quadrado Médio	
		Incidência (%)	Severidade (%)
Bloco (Temperatura)	12	202,49 ns	185,28 ns
Tempo	2	499,62 *	225,25 ns
Fungo	1	28773,37 *	25470,39 *
Temperatura	3	9926,82 *	7267,76 *
Tempo*Fungo	2	2460,12 *	1281,74 *
Tempo*Temperatura	6	149,60 ns	118,91 ns
Fungo*Temperatura	3	9273,60 *	8416,35 *
Tempo*Fungo*Temp.	6	185,85 ns	142,14 ns
Resíduo	60	138,35	121,18
CV (%)		29,83	30,71

* = Teste de F significativo a 5%; ns = Teste de F não-significativo.