

39306

HUDSON TEIXEIRA

***Colletotrichum gossypii* South. EM SEMENTES DE ALGODOEIRO
(*Gossypium hirsutum* L.): TRANSMISSIBILIDADE E CONTROLE.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Agronomia, área de concentração Fitossanidade, para obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Prof. JOSÉ DA CRUZ MACHADO

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1995**

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA.

Teixeira, Hudson.

***Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.): transmissibilidade e controle / Hudson Teixeira. – Lavras : UFLA, 1995.**

74 p. : il.

Orientador: José da Cruz Machado.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Algodão - Semente - Doença fúngica. 2. Fungo. 3. Fungo fitopatogênico. 4. Transmissibilidade. 5. *Colletotrichum gossypii* South. 6. Antracnose - Controle. I. Universidade Federal de Lavras. II Título.

CDD-589.24

-633.5121

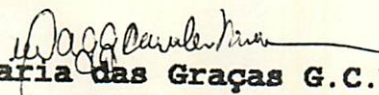
-633.51944

HUDSON TEIXEIRA

***Colletotrichum gossypii* South. EM SEMENTES DE ALGODOEIRO
(*Gossypium hirsutum* L.): TRANSMISSIBILIDADE E CONTROLE.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Agronomia, área de concentração Fitossanidade, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA EM 30 DE AGOSTO DE 1995.


Prof.^a. Maria das Graças G.C. Vieira


Pesq. Elizabeth de Oliveira


Prof. José da Cruz Machado
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades concedidas.

A meus pais, João (*in memoriam*) e Antônia, pela vida e direcionamento.
À Cássia e Natália, pela paciência, tolerância e compreensão nos piores momentos.
A meus irmãos e demais familiares pelo estímulo e apoio incondicionais.

À Universidade Federal de Lavras, pelo saber adquirido ao longo dos anos.
À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.
À COTTON Tecnologia de Sementes (Dr. Cláudio Manuel da Silva), pelo fornecimento de amostras de sementes utilizadas neste projeto de pesquisa.
À FAEPE (Renato Mendes Guimarães), pelo apoio ao projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. José da Cruz Machado, pela orientação atenta, constante, e pelos conhecimentos passados com desprendimento e abnegação.

À Prof.^a Maria das Graças G. Carvalho Vieira, pelo incentivo, informações e sugestões fundamentais à conclusão deste trabalho.

À Pesquisadora Dr.^a Elizabeth de Oliveira, pela amizade e sugestões inestimáveis (sempre bem-vindas!).

Aos amigos de sempre Marx L. Naves Silva e Flávio José Ribeiro, pela prestimosa colaboração na condução dos trabalhos.

Aos colegas de curso pela convivência e aprendizado mútuo.

Aos funcionários dos Laboratórios de Patologia de Sementes (DFS) e Análise de Sementes (DAG), pela ajuda indispensável.

Àqueles, que direta ou indiretamente, tornaram possível este projeto de pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	IV
Capítulo 1 INTRODUÇÃO	01
Capítulo 2 REFERENCIAL TEÓRICO	05
Capítulo 3 INFLUÊNCIA DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South. NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO ALGODOEIRO (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) EM FUNÇÃO DA POSIÇÃO DE INÓCULO E DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES.....	17
Capítulo 4 TRANSMISSIBILIDADE E EFEITOS DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South. ASSOCIADO A SEMENTES DESLINTADAS DE ALGODOEIRO (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	34
Capítulo 5 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO NA TRANSMISSÃO DE <i>Colletotrichum gossypii</i> South. EM SEMENTES DE ALGODOEIRO (<i>Gossypium hirsutum</i> L.).....	56
Capítulo 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
CAPÍTULO 3		
1	Percentagens de incidência natural de <i>C. gossypii</i> , em seis amostras de sementes de algodoeiro, dissecadas em duas frações, determinadas pelo teste de incubação em papel de filtro (ágar 0,5% adicionado ao substrato).....	27
2	Percentagens de incidência de <i>C. gossypii</i> , em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas, por diferentes períodos de exposição à colônia do patógeno, dissecadas em duas frações, determinadas pela incubação em papel de filtro ("Blotter test")	29
3	Efeito da inoculação de <i>C. gossypii</i> sobre a percentagem de germinação de sementes de algodoeiro inoculadas artificialmente por diferentes tempos de exposição ao patógeno e dissecadas em duas frações, e sobre o Índice de Doença em plântulas.....	31
CAPÍTULO 4		
1	Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e do turno de rega sobre o Índice de doença causado por <i>C. gossypii</i> , Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em câmara de crescimento.....	44
2	Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e da profundidade de semeadura sobre o Índice de doença causado por <i>C. gossypii</i> , Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em câmara de crescimento.....	45
3	Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e do turno de rega sobre o Índice de doença causado por <i>C. gossypii</i> , Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em casa de vegetação telada.....	47

CAPÍTULO 4 (Continuação)

4	Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e da profundidade de semeadura sobre o Índice de doença causado por <i>C. gossypii</i> , Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em casa de vegetação telada.....	48
5	Percentuais obtidos na determinação da Taxa de Transmissão (T.T.) e da relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.).....	51

CAPÍTULO 5

1	Efeitos do tratamento químico e biológico sobre a percentagem de incidência de <i>C. gossypii</i> ("Blotter test"), percentagem de germinação de sementes de algodoeiro e sobre o Índice de Velocidade de Emergência, em câmara de crescimento.....	64
2	Efeitos do tratamento químico e biológico sobre o número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final) e sobre o Índice de Doença em plântulas causado por <i>C. gossypii</i> , em câmara de crescimento.....	65
3	Percentuais obtidos na determinação da Taxa de Transmissão e da relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.).....	67

Capítulo 1 INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), considerado a mais importante das fibras têxteis, é também uma das plantas de aproveitamento mais completo, oferecendo variados produtos de utilidade para o homem. A exemplo do que ocorre com cerca de 90% das plantas comumente utilizadas na alimentação humana e animal, o algodoeiro é propagado por sementes verdadeiras, cujo controle de qualidade é um fator dos mais importantes para o sucesso de seu cultivo.

A cultura algodoeira tem passado por sucessivas crises durante décadas de sua exploração. A situação das sementes produzidas e utilizadas na maioria das regiões produtoras desta cultura é extremamente preocupante por inúmeras razões. Além do desestímulo resultante da escassez de recursos disponíveis para o agricultor, o que leva a uma queda eventual do nível de tecnologia, o cultivo do algodoeiro, a exemplo do que acontece com as grandes culturas no país, tem sido altamente comprometido pela qualidade das sementes colocadas no mercado. Torna-se difícil admitir pois aumento de produtividade sem que a qualidade das sementes, seja do ponto de vista físico, genético, fisiológico e sanitário, tenha um controle efetivo.

Dessa forma, reconhece-se que é de extrema importância que se tenha em mãos informações sobre o aspecto sanitário dos lotes de sementes comercializados. Sobre este aspecto, é de capital importância que se conheça a taxa de transmissão de patógenos via sementes, estabelecendo a intensidade com que ela ocorre, apoiado em parâmetros como tipo, quantidade e posição do inóculo associado às sementes no lote e ainda, a extensão do processo de transferência deste inóculo às plantas emergentes.

A ocorrência de espécies de fungos em associação com sementes de algodoeiro tem sido o tema de várias publicações. Em algumas, são relatados também os efeitos de algumas dessas espécies patogênicas sobre a germinação das sementes e sua transmissibilidade às plântulas (Bueno, 1986; Pizzinatto, 1988; Tanaka, 1990).

Dentre os fungos patogênicos transmitidos por sementes de algodoeiro *Colletotrichum gossypii* South. ocupa posição de destaque, sendo no Estado de Minas Gerais de ocorrência elevada em sementes procedentes da região do Triângulo Mineiro (Sobreira, 1988). Este patógeno, encontrado em regiões tropicais e subtropicais, é relatado como sendo o agente causal da antracnose do algodoeiro, provocando o colapso de plântulas ("damping-off") e ainda o apodrecimento de frutos (Kimati, 1980).

Em função do exposto e da demanda atual de informações dentro do sistema de produção de sementes de algodoeiro no Brasil, as diferentes etapas do presente estudo objetivaram avaliar: 1 - a influência da quantidade e posição do inóculo de *C. gossypii* sobre a germinação das sementes; 2 - a transmissibilidade deste patógeno à progênie a partir de sementes, em câmara de crescimento vegetal e em casa de vegetação telada; e 3 - a eficácia de fungicidas químicos e de *Penicillium aurantiogriseum* incorporados a sementes de algodoeiro para o controle de *C. gossypii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUENO, J.T. **Influência de genótipo e local de produção na incidência de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Estado do Paraná.** Piracicaba: ESALQ, 1986. 99p. (Tese-Mestrado em Fitopatologia).

- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro - *Gossypium* spp. In: GALLI, F.(coord.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1980. v.2. p.29-48.
- PIZZINATTO, M.A. **Relação entre densidade e qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. *Latifolium* Hutch) e patogenicidade de *Fusarium* spp. Link ex-Fr.** Piracicaba: ESALQ, 1988. 112p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).
- SOBREIRA, D.G. **Qualidade fisiológica e detecção de fungos em alguns lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidas no Estado de Minas Gerais.** Lavras: ESAL, 1988. 70p. (Tese-Mestrado em Fitossanidade).
- TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro.** Piracicaba: ESALQ, 1990. 111p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).

Capítulo 2 REFERENCIAL TEÓRICO

REFERENCIAL TEÓRICO

1 Aspectos sanitários de sementes de algodoeiro em relação a *Colletotrichum gossypii* South.

1.1 Considerações gerais

C. gossypii é um organismo que pode viver saprofiticamente nos restos de cultura, podendo permanecer viável por vários meses, sendo as sementes contaminadas a sua principal fonte de inóculo e sobrevivência. Em condições normais de armazenamento, Kimati (1980) cita que o fungo pode permanecer viável no interior das sementes, como micélio dormente, por até três anos. Machado (1988) cita que o mesmo pode permanecer viável nestas condições por até 13,5 anos. Segundo Miller (1943) trata-se de um patógeno que pode contaminar as sementes durante o seu beneficiamento através da transferência de inóculo aderido à superfície dessas sementes. As condições de ambiente propícias ao desenvolvimento de *C. gossypii* são temperatura entre 18 e 30°C e alta umidade relativa por vários dias. Tanto as sementes contaminadas como as infectadas por *C. gossypii* constituem a principal via de disseminação da antracnose e conforme as condições climáticas predisponentes, essas sementes podem originar plântulas com sintomas de tombamento. Em tais plântulas são formadas lesões deprimidas, pardo-avermelhadas a pardo-escuras, na raiz, no colo e nos cotilédones, podendo ocorrer a morte das mesmas (Pizzinatto, 1987). As lesões nos cotilédones e no caulículo da plântula, bem como os restos de cultura contaminados, fornecem esporos em abundância para iniciar o ciclo secundário da doença. Os conídios, aglutinados por uma substância gelatinosa hidrossolúvel, são disseminados principalmente pelos respingos de chuva, do solo para a planta, de folha para folha, e de planta para planta. A penetração do inóculo

é favorecida por temperaturas baixas e alta umidade, estabelecendo-se o fungo com maior facilidade nos tecidos afetados por algum tipo de ferimento. Durante os períodos secos, o fungo permanece dormente e consegue sobreviver por muito tempo, na forma de micélio, dentro dos tecidos, ou com apressórios, na superfície. Com o retorno de condições úmidas desenvolve-se em proporções epidêmicas tornando-se destrutivo sobre os capulhos do algodoeiro (Kimati, 1980).

1.2 Ocorrência de *C. gossypii* no Brasil

Colletotrichum gossypii South., agente causal da antracnose, encontra-se largamente distribuído em todas as regiões úmidas em que se cultiva o algodoeiro. No Brasil constitui um dos mais importantes patógenos dessa cultura por suas manifestações, prejudicando severamente o estande de germinação e o bom desenvolvimento dos capulhos, fibras e sementes (kimati, 1980). A associação de *C. gossypii* com sementes de algodoeiro tem sido relatada com certa frequência. Nakamura e Balmer (1974) conseguiram isolar o patógeno de plântulas de algodoeiro doentes. Soave e Cia (1980) detectaram a espécie *C. gossypii*, bem como Pizzinatto et al. (1983) isolaram *Colletotrichum* sp. de sementes de algodoeiro em amostras provenientes do Estado de São Paulo. Em Minas Gerais, Tanaka e Paolinelli (1984) realizando análise sanitária de sementes provenientes de regiões produtoras tradicionais detectaram a presença de *Colletotrichum* sp. Vieira et al. (1987) mostraram que a baixa qualidade das sementes produzidas no Triângulo Mineiro estava relacionada, principalmente com a ocorrência de *C. gossypii*, *Botryodiplodia theobromae* e *Fusarium* sp. Sobreira (1988) cita a espécie *C. gossypii* como a mais frequente em amostras de sementes provenientes da região do Triângulo Mineiro, ocorrendo em quase 100% das amostras analisadas, enquanto que para a região Norte o patógeno não esteve colocado entre os mais frequentes. Finalizando, os trabalhos de Geraldi (1981), Bueno (1986) e Machado e Langerak

(1993) citados por Oliveira (1994) também relatam a ocorrência de *C. gossypii* em sementes de algodoeiro produzidas no Brasil.

2 Transmissibilidade de patógenos por sementes: aspectos gerais interferentes.

O conceito de transmissão em Patologia de Sementes implica na transferência do patógeno da planta-mãe para a semente ou da semente para a plântula (Tanaka, 1990; Machado, 1994). Em ambos os sentidos, a taxa de transmissão é bastante influenciada pelo ambiente e pelas características próprias do patógeno e do hospedeiro (Machado, 1994).

A exemplo das demais espécies cultivadas, a cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) está sujeita ao ataque de um grande número de doenças, sendo o maior contingente causado por patógenos fúngicos, os quais podem ser transmitidos pelas sementes que são o principal meio de propagação da grande maioria das espécies cultivadas pelo homem (Neergaard, 1979). É importante ressaltar que a associação de patógenos com sementes, não assegura o desenvolvimento de doenças a partir da semeadura, embora praticamente todos os patógenos presentes na semente sejam potencialmente capazes de desencadear o processo de doença (Lima et al., 1985; Tanaka e Machado, 1985; Tanaka, 1990). Caso esse processo aconteça, resultando no surgimento de plantas doentes no campo, configura-se o fenômeno da transmissão (Menten, 1986). Tanaka (1990) estudando o agente causal da ramulose do algodoeiro, concluiu que nem sempre a resistência na planta adulta está relacionada com a resistência no estágio de plântula, com a percentagem do patógeno nas sementes, ou com a percentagem de transmissão semente-plântula.

Machado (1988) comenta que o conhecimento do estágio de desenvolvimento das plantas no qual a infecção se traduz em maior transmissão para as sementes, e destas para as plântulas, é um aspecto de grande valor em trabalhos de inspeção sanitária de campos. Com isto é

possível estimar em que época a incidência da doença na planta poderá significar maiores riscos de contaminação ou infecção das sementes. Por exemplo, Tanaka (1990) observou que a inoculação de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, no estágio de maçãs formadas, comparada à inoculação 30 dias após a semeadura, resultou em maior associação do patógeno com as sementes produzidas.

A taxa de transmissão de um patógeno, considerada no sentido semente-planta, corresponde à relação matemática entre o nível de ocorrência deste patógeno presente na amostra de laboratório, determinado por um teste de sanidade, e o desenvolvimento do processo infeccioso nas plantas, em condições de cultivo. Tal relação raramente atinge o valor numérico 1, tendo em vista as limitações que existem em termos de metodologia de detecção de inóculo infectivo em laboratório e os diversos fatores que atuam nessa fase restringindo a ação do patógeno (Neergaard, 1979; Agarwal e Sinclair, 1987). Vale lembrar que a taxa de transmissão é um parâmetro que diz respeito à transferência do patógeno de uma geração a outra, não levando em conta a taxa de dispersão do inóculo entre plantas em população, que é um outro parâmetro importante no estudo do modelo epidemiológico da doença em questão.

De modo geral os patógenos transportados por semente, são potencialmente capazes de causar doença (Neergaard, 1979). No entanto, para que essa potencialidade seja expressa não se deve esquecer que é necessário ocorrer uma perfeita interação entre o patógeno, a semente e o ambiente (Anselme, 1977). Muitos fatores ambientais influenciam a transmissão do patógeno, da semente para a plântula, entre os quais podem ser citados: aeração, potencial hidrogeniônico (pH) e tipo de solo, profundidade de semeadura, densidade de plantio, umidade do solo, umidade atmosférica, sobrevivência do patógeno, população microbiana antagônica, tipo de germinação da semente, características da área de cultivo, uso de fungicidas, tecnologia de cultivo, etc. Esses

fatores associados à virulência e concentração do inóculo do patógeno, vigor da semente, suscetibilidade dos tecidos da plântula e nutrientes do solo, determinam o estabelecimento das relações entre planta hospedeira e patógeno (Baker, 1972; Neergaard, 1979; Machado, 1988 e Menten, 1991).

A temperatura é considerada uma das variáveis ambientais mais importantes durante a germinação das sementes interferindo na interação planta-patógeno. Tanaka e Valarini (1986) relatam que o aumento da suscetibilidade das sementes em germinação e das plântulas aos patógenos está na dependência direta da temperatura. Baixas temperaturas podem aumentar a predisposição às doenças, através de um efeito estimulante da exsudação de substâncias orgânicas de sementes ou raízes que favorecem o crescimento e a infecção por microrganismos. Por outro lado, temperaturas elevadas acima da ótima para a germinação e o desenvolvimento da planta, podem aumentar as chances de infecção, desta vez através do mecanismo de supressão ou redução de fitoalexinas (Hunter e Guinn, 1968; Hayman, 1969). No entanto, Krugner (1978) comenta que a temperatura ótima para a interação planta-patógeno, poderá ser diferente daquelas ideais para o crescimento do patógeno e da planta. Hayman (1969) verificou que durante a germinação de sementes de algodão, as mesmas exsudam mais carboidratos a 18°C que a 24°C ou 30°C, e constatou uma incidência de *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina* nas raízes, hipocótilos e cotilédones.

Susuki (1934) comenta que a umidade do solo é um fator muito importante para se determinar a severidade das doenças. Alessi e Power (1971) relatam que a germinação de sementes é severamente afetada em solos que apresentam deficiência hídrica. Hoppe (1953) e Machado (1988) consideram que as sementes e as plântulas de várias espécies geralmente podem resistir a muitas doenças sob condições que favoreçam a rápida germinação e crescimento da plântula. Porém em condições de temperatura sub-ótima e alta umidade do solo, o processo de

germinação é retardado, podendo a semente ser atacada por patógenos, originando plântulas fracas. Para Gilioli et al. (1981), a permanência da semente no solo sem ocorrer a completa emergência, por falta de umidade adequada, aumenta a sua predisposição ao ataque dos microrganismos, reduzindo a germinação, em ausência de fungicidas. De acordo com Carvalho e Nakagawa (1980), existe uma quantidade mínima de água disponível para que ocorra completa reidratação da semente e ocorra germinação.

A profundidade de sementeira na condição de um fator dos mais importantes no estabelecimento do estande inicial de qualquer cultura, especificamente para o algodão, segundo recomendações técnicas, deve ser superficial, pois assim as sementes terão melhores condições de germinação, estarão livres dos patógenos de solo com maior rapidez, e será mais fácil a mecanização dos tratos culturais (Passos e Cruz, 1986).

Um outro fator de extrema importância, que pode interferir na taxa de transmissão de *C. gossypii* é o tratamento fungicida. É através do tratamento de sementes que inúmeras doenças são controladas, seja através da eliminação ou redução do inóculo, ou mesmo proteção das mesmas por ocasião da germinação e fase jovem da planta. Este tipo de tratamento possibilita manter ou melhorar a qualidade sanitária da semente, proporcionando um bom estande inicial da lavoura e evitando a disseminação de patógenos a partir desta fase (Souza et al., 1984; Tanaka, 1986; Soave e Moraes, 1987 e Machado, 1988). Produtos como Benomil, Carbendazin, Carboxin, Chloroneb, Etridiazol, Iprodione, Quintozene, Thiabendazol, Thiram, Tiofanato Metílico, etc., são referidos na literatura como eficientes para o controle de um ou mais fungos que são veiculados por sementes de algodão (Machado, 1988).

O emprego de microrganismos antagonistas tem sido investigado como um método alternativo para a supressão de mecanismos de transmissão de fungos no tratamento de sementes em vários hospedeiros vegetais, entre eles o algodoeiro. Após a descoberta da Penicilina, houve

um substancial interesse por parte dos pesquisadores no estudo de antagonistas de patógenos de plantas. Os principais estudos englobam os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, etc. (Baker, 1987). Especificamente para o algodoeiro, trabalhos desenvolvidos por Machado e Langerak (1993) demonstram que *Penicillium aurantiogriseum* é um antagonista promissor para o controle de alguns fungos fitopatogênicos transmitidos por sementes desta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, V.K.; SINCLAIR, J.B. *Principles of seed pathology*. Boca Raton: CRC Press, 1987. 2v.
- ALESSI, J.; POWER, J.F. Corn emergence in relation to soil temperature and seedling depth. *Agronomy Journal*, madison, n.63, p.717-719, 1971.
- ANSELME, C. Seed pathology of vegetable crops. In: YORINORI, J.T.; SINCLAIR, J.B.; MEHTA, YR.; MOHAR, S.K.(ed). *Seed Pathology: problems and progress*. Londrina: IAPAR, 1977. p.130-137.
- BAKER, K.F.. Envolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, n.25, p.67-85, 1987.
- BAKER, K.F. *Seed Pathology*. New York, Academic Press, 1972. 368p

- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. 326p.
- GILIOLI, J.L.; PEREIRA, L.A.G.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTA, N.P. Efeito de profundidade de semeadura e do tratamento de sementes de soja com fungicida sobre a emergência, em solo com diferentes condições de umidade. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n1, p.87-92, 1981.
- HAYMAN, D.S. The influence of temperature on the exsudation of nutrients from cotton seeds and on preemergence damping off by *Rhizoctonia solani*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, n.47, p.1663-1669, 1969.
- HOPPE, P.E. Infections of corn seedlings. In: _____. **Plant Disease: The Yearbook of Agriculture**. Washington: U.S. Gov. Print. Off., 1953. p.377-380.
- 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, n.58, p.981-984, 1968.
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro - *Gossypium* spp. In: GALLI, F.(coord). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1980. v.2, p.29-48.
- KRUGNER, T.L. Ação do ambiente sobre doenças de plantas. In: GALLI, F.(coord.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1978. v.1, p.215-266
- 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, n.10, p.99-109, 1985.
- MACHADO, J.C. Padrões de tolerância de Patógenos associados às sementes. In: LUZ, W.C. (ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo, 1994. v.2, 414p.
- MACHADO, J.C. **Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília, MEC/FAEPE/ESAL, 1988. 107P.

- MACHADO, J.C.; LANGERAK, C.J. A new technique for studying antagonistic properties of fungi in vitro. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 6., Montreal, 1993. Abstracts... Montreal: Canadian Phytopathological Society, 1993. p.63.
- MENTEN, J.O.M. Importância da semente na transmissão de patógenos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. Segundo...Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.27-40.
- MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M. Patógenos em Sementes: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.
- MILLER, P.R. The dissemination of fungus spores from contaminated seed cotton during ginning in relation to the germination of the seed and diseases of the seedlings. *Plant reporter supplement*, n.140, p.72-78, 1943.
- NAKAMURA, K.; BALMER, E. Aspectos do damping-off do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Estado de São Paulo. *Científica: Jaboticabal*, v.2, n.2, p.263, 1974.
- NEERGAARD, P. *Seed pathology*. 2.ed. London: McMillan Press, 1979. 1190p.
- OLIVEIRA, E. Aspectos patológicos de *Botryodiplodia theobromae* Pat. em relação a sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras: ESAL, 1994. 127p. (Tese-Doutorado em Fitotecnia).
- PASSOS, S.M.G.; CRUZ, V.R. Algodão (*Gossypium hirsutum* L.). In: CATI. *Manual Técnico das Culturas*. Campinas: CATI, 1986. P. 11-51.

- PIZZINATTO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J.(ed.) **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.331-357.
- PIZZINATTO, M.A.; SOAVE, J.; CIA, E.; MAEDA, J.A. Relação entre presença de patógenos, densidade e qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Summa Phytopathologica**. Piracicaba: v.9, n.1/2, p.47-48, Jan./Jun. 1983. (Resumo).
- SOAVE, J.; CIA, E. Levantamento preliminar de fungos associados às sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 3, Jaboticabal, 1980. **Resumos...** Jaboticabal: UNESP, 1980. p.26.
- SOAVE, J.; MORAES, S.A. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Patologia de Sementes**. Campinas, 1987. p.192-259.
- SOBREIRA, D.G. **Qualidade fisiológica e detecção de fungos em alguns lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidas no Estado de Minas Gerais**. Lavras: ESAL, 1988. 70p. (Tese-Mestrado em Fitopatologia).
- SOUZA, A.F.; SCALCO, M.S.; CARVALHO, W.P.A. Influência dos fungicidas Kasumiron, Kasumin, Difolatan 4F na germinação e vigor de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) **Ciência e Prática**, Lavras, v.8, n.1, p.81-84, Jan./Jun. 1984.
- SUSUKI, H. Studies on an infection of rice disease analoous to the flower infection. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, n.3, p.1-14, 1934.
- TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 111p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).

- TANAKA, M.A.S. Tratamento de sementes de arroz. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. Segundo... Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.119-129.
- TANAKA, M.A.S.; MACHADO, J.C. Patologia de sementes. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.11, n.122, p.40-46, 1985.
- TANAKA, M.A.S.; PAOLINELLI, G.P. Avaliação sanitária e fisiológica de sementes de algodão produzidas em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.6, n.1, p.71-81, Jan./Abr. 1984.
- TANAKA, M.A.S.; VALARINI, P.J. *Patologia e qualidade fisiológica de sementes*. Piracicaba: São Paulo, 1986. 46p.
- VIEIRA, M.G.G.C.; PITTIS, J.E.; MACHADO, J.C.; FRAGA, A.C.; SILVEIRA, J.F.; LAPOSTA, J.A.; SILVA, S.M. Identificação de fatores determinantes da baixa qualidade de alguns lotes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidos no Estado de Minas Gerais, safra 1985/86. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5, Gramado, 1987. *Resumos...* Brasília: ABRATES, 1987. p.89.

**Capítulo 3 INFLUÊNCIA DE *Colletotrichum gossypii* South. NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL DO ALGODOEIRO
(*Gossypium hirsutum* L.) EM FUNÇÃO DA POSIÇÃO DE
INÓCULO E DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES**

INFLUÊNCIA DE *Colletotrichum gossypii* SOUTH. NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) EM FUNÇÃO DA POSIÇÃO DE INÓCULO E DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES.

RESUMO

O desempenho de sementes de algodoeiro deslindadas quimicamente e portadoras de *Colletotrichum gossypii* South., em função da posição e quantidade de inóculo é um aspecto relativamente pouco estudado. No presente trabalho procurou-se avaliar o efeito do referido patógeno associado a sementes em ocorrência natural e por inoculação artificial sobre a germinação destas, em condições de laboratório. As sementes foram inoculadas através de seu contato direto com a colônia do fungo em desenvolvimento, em meio ágar (B.D.A.) em diferentes períodos de exposição. Parte das sementes tratadas e não tratadas com NaOCl foi utilizada para dissecação em duas frações: tegumento e embrião, sendo o estado sanitário das mesmas e de sementes íntegras, avaliado em separado. Os parâmetros considerados foram: incidência de *C. gossypii* pelo método de incubação em papel de filtro modificado (adição de ágar a 0,5% ao substrato); germinação de sementes íntegras em rolo de papel; e Índice de Doença em plântulas aos 7 dias. Os resultados indicaram que: sementes íntegras, não desinfestadas, inoculadas ou com ocorrência natural do patógeno, apresentaram um maior percentual de *C. gossypii*; o percentual de ocorrência do patógeno foi proporcionalmente maior com o aumento do tempo de exposição das sementes às colônias do mesmo, independente do tratamento com NaOCl; a desinfestação das sementes proporcionou um aumento de 54% no percentual de germinação, e reduziu o Índice de Doença em torno de 45%.

SUMMARY

INFLUENCE OF *Colletotrichum gossypii* South. ON INITIAL DEVELOPMENT OF COTTON (*Gossypium hirsutum* L.) IN RELATION TO THE INOCULUM POSITION AND SEED DESINFESTATION.

The performance of delinted cotton seeds and of naturally infected samples, considering both position and amount of inoculum has not been studied extensively so far. This work was carried out with the objective of evaluating the effect of *Colletotrichum gossypii* South. on naturally infected and artificially inoculated seeds. Seeds were inoculated by keeping them in direct contact with the developing colony of the fungus in agar medium (PDA) during different exposure periods. Part of both treated and non-treated seed samples was dissected into fractions - teguments and embryos. Both fractions and a number of whole seeds of the same samples were analysed separately. The following parameters were evaluated: *C. gossypii* incidence through incubation in modified filter paper (addition of agar 0,5% to the substrate); seed germination in paper roll, and disease index of seedlings on the 7th day of age. The results indicated that the longer seeds were exposed to the fungus colony, the higher was the occurrence of the pathogen on them. Occurrence of the pathogen was seen not to be directly correlated with seed desinfestation with NaOCl. Seed desinfestation increased the germination percentage up to 54% and decreased the Index Disease to around 45%.

INTRODUÇÃO

Os patógenos transportados por sementes podem associar-se às mesmas de diferentes maneiras, contaminando-as superficialmente, ou colonizando os tecidos internos. A contaminação superficial da semente por um fungo está mais sujeita à ação de alguns fatores externos que podem reduzir as chances de sua transmissão à progênie, como por exemplo, o tratamento com agentes desinfetantes e a presença de antagonistas.

Segundo Machado (1988), entre os agentes patogênicos, os fungos são os mais ativos, tendo uma maior habilidade em penetrar diretamente nos tecidos vegetais e aí alojarem-se mais facilmente. O inóculo fúngico pode ser transportado via semente, na forma de micélio e/ou de esporos, mas a taxa de transmissão do patógeno, entre outros fatores, depende fundamentalmente da quantidade e posição do inóculo, presente na semente (Neergaard, 1979; Tanaka e Machado, 1985). Segundo Neergaard (1979), Machado (1988) e Menten (1991), a presença do patógeno no embrião é a maneira mais eficiente de se garantir a infecção da plântula que dele será originada.

O conhecimento do posicionamento preferencial de inóculo de *C. gossypii* nas sementes torna-se de grande importância por várias razões podendo ser utilizado, por exemplo, para subsidiar tomadas de decisão em relação à adoção do tratamento de sementes, definição ou escolha de métodos de sanidade e previsão do desenvolvimento de doenças no campo.

^{Nº 3 dados cit.}
Dados disponíveis de literatura mostram que o fungo *Colletotrichum gossypii* South. é patogênico ao algodoeiro, podendo causar o tombamento de plântulas e apodrecimento de frutos (Kimati, 1980), e que tanto as sementes contaminadas quanto as infectadas constituem a principal via de disseminação da antracnose (Pizzinatto, 1987).

Este estudo objetivou avaliar o desempenho de sementes de algodoeiro em relação ao posicionamento do inóculo de *Colletotrichum gossypii* South., em ocorrência natural ou artificialmente inoculado nas mesmas, bem como a atuação do NaOCl como agente desinfestante.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho constou de ensaios conduzidos sob condições controladas, no laboratório de Patologia de Sementes (DFS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando amostras de sementes de algodoeiro da cultivar IAC-20, produzidas em Capinópolis, Estado de Minas Gerais, safra 1993/94. Nos ensaios em que as sementes foram inoculadas com *Colletotrichum gossypii* South., foi utilizada uma amostra isenta do referido patógeno, pré-selecionada pelo teste de incubação em papel de filtro ("Blotter-test").

1 Quantificação e posicionamento do inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro, naturalmente portadoras do patógeno.

Foram utilizadas amostras de seis lotes de sementes, com incidência natural de *C. gossypii*, as quais foram selecionadas em análise sanitária prévia através de incubação em papel de filtro ("Blotter test").

As amostras sofreram deslignamento químico pela adição de ácido sulfúrico comercial concentrado (96-98°GL) na proporção de 200 ml de ácido por quilo de sementes. Após a adição do ácido, as sementes foram agitadas com um bastão de vidro por dois a três minutos, e então lavadas em água corrente. Após imersão por cinco minutos em solução de bicarbonato de sódio 1%,

procedeu-se uma nova lavagem em água corrente. A seguir, as sementes foram postas a secar à temperatura ambiente.

Metade das sementes integras, previamente desinfestadas por imersão durante um minuto em hipoclorito de sódio 1%, seguido da imersão em água destilada e esterilizada e posterior secagem sobre papel de filtro em câmara de fluxo laminar, foi colocada por aproximadamente seis horas dentro de beckers esterilizados contendo água destilada e esterilizada, em geladeira a 4°C. O contato direto das sementes integras com a água permitiu que ocorresse o processo de embebição, tornando possível, dessa forma, sua dissecação com auxílio de escalpelo e pinças, devidamente esterilizados, originando as frações, tegumentos e embriões de sementes.

A seguir, para cada uma das seis amostras testadas, procedeu-se a avaliação sanitária, em separado, das sementes integras, tegumentos e embriões de sementes. Para o teste de sanidade, sementes integras e frações de sementes foram semeadas em placas de Petri de vidro transparente, com diâmetro de 15 cm, contendo três folhas de papel de filtro umedecidas em solução de sal de 2,4-diclorofenoxiacetato de sódio, a 5 ppm. A água destilada e esterilizada utilizada nestes testes foi adicionado ágar na proporção de 0,5%.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, onde cada parcela experimental era constituída por uma placa de Petri com 15 cm de diâmetro, e cada tratamento repetido quatro vezes. Em cada placa, foram semeadas, à sua vez, 25 sementes integras, tegumentos ou embriões de sementes, sendo estas placas incubadas por sete dias em câmara a $21 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h, sob luz fluorescente N.U.V. A ocorrência de *C. gossypii* foi avaliada ao microscópio estereoscópico, preparando-se lâminas auxiliares para observação ao microscópio composto, quando se fez necessário.

Para cada fração determinou-se o percentual de incidência do fungo em questão, sendo os dados submetidos à análise de variância, após transformação por $\log(x + 10)$.

2 Quantificação e posicionamento do inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro, artificialmente inoculadas.

Para este trabalho as sementes utilizadas foram deslintadas, conforme procedimento adotado no item 1, e selecionadas por densidade em água, eliminando-se a fração flutuante, sendo posteriormente, secas sobre papel de filtro.

Toda a amostra de sementes utilizada foi submetida a uma desinfestação com hipoclorito de sódio 1%, por um minuto, e imersão em água destilada e esterilizada (duas vezes), com o objetivo de eliminar qualquer interferência residual do agente desinfestante.

O inóculo de *C. gossypii* foi isolado de sementes de algodoeiro cultivar IAC-20, produzidas no Triângulo Mineiro, submetidas ao teste de incubação em papel de filtro ("Blotter test"). Inicialmente, o inóculo extraído das sementes foi transferido para placas de Petri de vidro, de nove centímetros de diâmetro, contendo 15 ml de meio B.D.A. (extrato de 200g de batata, 20g de ágar purificado Merck, 20g de dextrose, 1000 ml de água destilada e esterilizada). As placas foram incubadas por sete dias em câmara com temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$, sob luz fluorescente N.U.V., com fotoperíodo de 12h. Decorrido este período, discos de meio de 5 mm de diâmetro foram assepticamente retirados da periferia das colônias desenvolvidas nas placas, e transferidos para o centro de novas placas de Petri, de nove centímetros de diâmetro, contendo uma camada de meio B.D.A., ficando estas incubadas em condições idênticas às primeiras. Em seguida, preparou-se uma suspensão de conídios do patógeno, transferindo-se uma alíquota de 1 ml da mesma para placas de Petri de 15 cm de diâmetro contendo B.D.A. A alíquota de 1 ml da suspensão foi

distribuída igualmente sobre o meio de cultura com o auxílio de um bastão de vidro, sendo a mesma incubada por cinco dias a 25°C, com fotoperíodo de 12h.

Foram adotados os seguintes procedimentos de inoculação: (a) rolagem das sementes sobre meio de cultura B.D.A. sem inóculo fúngico (testemunha) e sobre colônias do fungo em desenvolvimento em meio de cultura B.D.A. (0h); (b) incubação das sementes sobre as colônias fúngicas em desenvolvimento por 15h. e 30h. (sementes infectadas), a 25°C e em estufa incubadora para B.O.D. modelo 347-CD (FANEM). Quando colocadas sobre colônias de *C. gossypii*, as sementes foram dispostas uniformemente em uma única camada ocupando toda a superfície exposta das colônias em crescimento no meio B.D.A., contido em placas de Petri.

Os procedimentos objetivando o fracionamento de sementes integras em tegumentos e embriões, a desinfestação com hipoclorito de sódio de metade da amostra artificialmente inoculada com *C. gossypii*, os esquemas de plaqueamento e incubação, bem como o delineamento e a transformação estatística dos dados obtidos, seguem o que foi descrito para o item 1.

3 Avaliação do percentual de germinação de sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas com *Colletotrichum gossypii* South. e do Índice de Doença em plântulas.

Sementes integras, deslindadas quimicamente com ácido sulfúrico concentrado como descrito no item 1, originariamente obtidas da inoculação artificial com *C. gossypii*, como descrito no item 2, foram submetidas simultaneamente ao teste de germinação em rolo de papel e avaliação do Índice de doença (I.D.) em plântulas. Em cada avaliação foram utilizadas 200 sementes em 4 repetições de 50.

Para o teste de germinação foram determinadas as percentagens de plântulas normais, anormais e sementes mortas, em relação ao número total de sementes utilizadas no teste. Utilizou-

se o sistema de rolo de papel, sendo colocadas 25 sementes por rolo. A incubação foi conduzida por quatro dias em câmara de crescimento a 25°C, umidade relativa superior a 90%, fotoperíodo de 12h., sob lâmpada fluorescente Luz do Dia - AQUARILUX. A avaliação do percentual de germinação foi realizada seguindo-se os procedimentos descritos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Para a avaliação do Índice de Doença (I.D.) estabeleceu-se uma modificação do teste de germinação padrão, anteriormente descrito, utilizando neste caso 25 sementes por rolo. Rolos de cada tratamento foram envolvidos por sacos plásticos pretos com a finalidade de impedir a produção de clorofila, facilitando assim a visualização das lesões causadas por *C. gossypii* no hipocótilo das plântulas, e manter alto teor de umidade durante o período de incubação. A incubação foi conduzida por sete dias na mesma câmara de crescimento, conforme descrito para o teste de germinação. Ao final do período de incubação todas as plântulas obtidas em cada tratamento foram examinadas em relação à presença ou não de sintomas de infecção por *C. gossypii*.

O Índice de Doença (I.D.) foi determinado conforme a fórmula proposta por McKinney (1923):

$$I.D.(%) = \frac{\sum(f \times v)}{N \times X} \times 100$$

Onde:

I.D.(%) = Índice de Doença;

f = Número de plântulas por grau de infecção da escala;

v = Grau ou nota de infecção da escala;

N = Número total de sementes por tratamento;

X = Grau máximo de infecção da escala.

A escala de notas adotada de acordo com o grau de infecção por *C. gossypii*, foi a seguinte: 0 - ausência de sintomas; 1 - plântula com lesão superficial, com até 1,0 cm de extensão

no hipocótilo; 2 - plântula com lesão(ões) deprimida(s), acima de 1,0 cm de extensão no hipocótilo, sem a ocorrência de tombamento; 3 - plântula em colapso total (morte).

Os dados obtidos no teste de germinação e Índice de Doença foram submetidos à análise de variância. Apenas os dados para o I.D. foram transformados por $\log(x + 10)$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Quantificação e posicionamento do inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro, naturalmente portadoras do patógeno.

Observa-se pelos resultados da Tabela 1 que a desinfestação das sementes íntegras favoreceu uma diminuição no percentual de incidência de *C. gossypii*. Os resultados mostram ainda que os percentuais do patógeno detectados nas amostras 2 e 4 não diferiram estatisticamente quanto ao seu posicionamento, estando o inóculo do referido patógeno igualmente distribuído nas duas frações de sementes e sementes íntegras em estudo. Já para as amostras 1, 3, 5 e 6, o inóculo detectado esteve mais concentrado nas sementes íntegras. Para as amostras 2 e 4 nota-se também que há uma tendência de superioridade em valores percentuais de *C. gossypii* nas sementes íntegras. Tais resultados confirmam informações genericamente postuladas por Baker e Smith (1966), Neergaard (1979), Machado (1988), entre outros, quando afirmam que para a maioria dos patógenos veiculados pelas sementes o mesmo pode estar associado a elas de diferentes modos, contaminando e/ou alojando-se nos tecidos ínternos.

Excetuando a amostra de número 1, nenhuma outra apresentou percentagem de *C. gossypii* detectada no embrião superior àquela detectada no tegumento. Em média a percentagem de *C. gossypii* detectada no embrião (5,72%) foi superior àquela relatada em estudos realizados por Roncadori et al. (1971), cujo nível foi de cerca de 3,3%. É válido notar que os percentuais de ocorrência do fungo obtidos foram variáveis em função das amostras consideradas. Este tipo de variação ou resultado revela com relativa segurança que o posicionamento do inóculo infeccioso de *C. gossypii* é dependente de fatores que podem favorecer ou restringir o desenvolvimento do patógeno.

TABELA 1. Percentagens de incidência natural de *C. gossypii*, em seis amostras de sementes de algodoeiro, dissecadas em duas frações, determinadas pelo teste de incubação em papel de filtro (ágar 0,5% adicionado ao substrato). UFLA - Lavras, 1995.

Amostras de sementes	Sementes Íntegras não desinfestadas	Sementes Íntegras desinfestadas	Tegumentos desinfestados	Embriões desinfestados
1	21.87 a	15.68 ab	9.47 b	10.23 b
2	3.70 a	2.25 a	1.83 a	0.87 a
3	10.41 a	8.70 a	4.90 b	1.83 b
4	8.92 a	8.86 a	8.68 a	7.77 a
5	12.42 a	10.00 a	9.48 ab	4.00 b
6	19.86 a	16.76 a	9.89 b	9.64 b
MÉDIAS	12.86 a	10.04 ab	7.38 b	5.72 b

C.V. = 8,1%. Médias seguidas por mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao se proceder a soma algébrica das percentagens de *C. gossypii* detectado nas frações tegumentos e embriões de sementes, observa-se que para as amostras 2 e 3 o resultado obtido é

inferior àquele referente ao total detectado em sementes íntegras, não desinfestadas. Essa diferença entre os dois valores somados e o total refere-se à contaminação pelo referido patógeno, ou seja, atesta sua presença, externamente às sementes. Por outro lado, nas amostras 4 e 5 a soma dos percentuais de *C. gossypii* em tegumentos e embriões de sementes supera o total detectado em sementes íntegras. Este fato indica portanto que o inóculo externo nestes casos foi influenciado por algum fator, entre os quais, o tipo de beneficiamento, condições de armazenagem, temperatura e umidade das sementes, presença de organismos antagonistas, efeito de pré-tratamento, que não podem ser negligenciados. De modo geral, os resultados deste trabalho demonstram que a generalização em termos de posição de inóculo em relação a sementes é extremamente perigoso, principalmente quando se visa proceder a um tratamento de sementes, ou mesmo estabelecer estratégias para o controle da doença em questão.

Baseando-se no resultado do teste estatístico para as médias gerais por fração de sementes com ocorrência natural do patógeno, pode-se inferir que o inóculo de *C. gossypii* encontra-se preferencialmente localizado nas partes mais externas das sementes, não desinfestadas com hipoclorito de sódio. Observa-se ainda que o mesmo poderá estar tanto no tegumento, quanto no embrião de sementes, em proporções estatisticamente iguais.

2 Quantificação e posicionamento do inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro, artificialmente inoculadas.

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, observa-se que a despeito do tratamento com hipoclorito de sódio, para quaisquer frações de sementes e sementes íntegras estudadas, a percentagem de *C. gossypii* detectada foi proporcionalmente maior com o aumento do tempo de exposição das mesmas às colônias do referido patógeno, em desenvolvimento. Isto confirma

resultados obtidos por Tanaka et al. (1984) que observaram um aumento gradativo do efeito do patógeno sobre as sementes, à medida em que se aumentou o tempo de exposição das sementes ao inóculo. Somado a isto, Tanaka et al. (1984) descrevem um menor efeito da assepsia superficial em função do aumento do tempo de exposição. Exceto para quando se trabalhou com tegumentos de sementes (Tabela 2). Neste caso houve uma inversão dos valores numéricos referentes ao período entre 15h. (84%) e 30h. (65%) de exposição, embora estatisticamente essa diferença não tenha sido significativa.

TABELA 2. Percentagens de incidência de *C. gossypii*, em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas, por diferentes períodos de exposição à colônia do patógeno, dissecadas em duas frações, determinadas pela incubação em papel de filtro ("Blotter test"). UFLA - Lavras, 1995.

Períodos de exposição das sementes ao inóculo (horas)	Sementes íntegras não desinfestadas	Sementes íntegras desinfestadas	Tegumentos desinfestados	Embriões desinfestados
Testemunha	1.83 a C	0.00 b C	0.87 a B	0.00 b D
0	63.70 a B	2.87 b B	2.87 b B	1.58 b C
15	94.87 a A	76.31 b A	83.88 b A	13.91 c B
30	100.00 a A	88.68 b A	65.02 b A	52.97 c A
MÉDIAS	65.10 a	41.96 b	38.16 b	17.11 c

C.V. = 30,7%. Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

É interessante notar que independente do tratamento com hipoclorito de sódio, quando se reduziu o tempo de exposição das sementes deslindadas íntegras às colônias de *C. gossypii* de 30h. para 15 h., detectou-se, mesmo assim, uma elevada taxa de infecção pelo patógeno.

Os resultados da Tabela 2, assinalam que percentagens de infecção nos embriões de sementes da ordem de até 53%, aproximadamente, podem ser obtidos com tempo de exposição de 30h. Segundo relatos de vários pesquisadores, quanto mais interno à semente se localiza o inóculo fúngico, maiores serão as chances do mesmo ser transferido à progênie (Neergaard, 1979; Machado, 1988; Menten, 1991). Entretanto, a infecção de sementes não implica necessariamente em plantas doentes e epidemias após o plantio, de acordo com Baker e Smith (1966); Leach (1979).

A desinfestação das sementes íntegras no presente trabalho, fez com que o índice médio de *C. gossypii* fosse reduzido em 36%. Esta diminuição, que pode ser considerada significativa, reafirma a eficácia do Hipoclorito de sódio como agente de tratamento superficial das sementes, fato este já celebrado em outros trabalhos (Tanaka, 1990; Oliveira, 1994). Do ponto de vista estatístico, sementes íntegras não desinfestadas apresentaram índice médio de infecção superior àqueles obtidos nas outras frações submetidas ao tratamento desinfetante.

3 Avaliação do percentual de germinação de sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas com *Colletotrichum gossypii* South. e do Índice de Doença em plântulas.

Os resultados deste estudo são mostrados na Tabela 3. Estudos de Roncadori et al. (1971) revelaram haver correlação significativa entre os baixos níveis de germinação das sementes de algodoeiro e a alta incidência de *Fusarium* sp. e *B. theobromae*, detectados nessas sementes. Da mesma forma observa-se pelos resultados deste estudo, que com o aumento do tempo de exposição das sementes às colônias de *C. gossypii*, houve um decréscimo do percentual de germinação das sementes de algodoeiro. O Índice de Doença também foi bastante influenciado pelo aumento do tempo de exposição das sementes ao inóculo do patógeno, aumentando

proporcionalmente as taxas de infecção em plântulas, independente da utilização prévia do agente desinfestante. A análise dos dados forneceu ainda como resultado, uma diferença estatística significativa em relação ao tratamento com NaOCl, o qual possibilitou obter uma redução considerável no I.D. em plântulas, em torno de 45%.

TABELA 3. Efeito da inoculação de *C. gossypii* sobre a percentagem de germinação de sementes de algodoeiro inoculadas artificialmente por diferentes tempos de exposição ao patógeno e dissecadas em duas frações, e sobre o Índice de Doença em plântulas. UFLA - Lavras, 1995.

Desinfestação de sementes c/ NaOCl	Períodos de exposição das sementes ao patógeno (horas)	Total de sementes germinadas (%)	Índice de Doença em plântulas (%)
Não desinfestadas	Testemunha	36.4 AB	7.69 D
	0	35.7 ABC	43.58 B
	15	29.4 BC	68.22 A
	30	20.8 C	68.82 A
MÉDIA		30.6 B	47.07 A
Desinfestadas	Testemunha	58.2 A	3.54 D
	0	46.5 AB	24.52 C
	15	40.6 AB	36.17 B
	30	43.5 AB	38.83 B
MÉDIA		47.2 A	25.76 B

C.V. = 5,4%. Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

- 1 - Sementes integras não desinfestadas, inoculadas ou com ocorrência natural de *Colletotrichum gossypii* South., apresentaram um maior percentual médio de

ocorrência do mesmo comparadas à ocorrência do inóculo em sementes íntegras, tegumentos e embriões desinfestados.

- 2 - O percentual de ocorrência de *Colletotrichum gossypii* South. foi proporcionalmente maior com o aumento do tempo de inoculação, independente do tratamento com hipoclorito de sódio (1%).
- 3 - A desinfestação das sementes de algodoeiro com hipoclorito de sódio fez com que a ocorrência de *Colletotrichum gossypii* South., pelo método de Incubação em Papel de Filtro tenha sido reduzida em média em torno de 36%.
- 4 - A desinfestação das sementes inoculadas com *Colletotrichum gossypii* South. proporcionou um aumento médio de 54% no percentual de germinação, e reduziu em 45% o Índice de Doença em plântulas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro. In: GALLI, F.(coord.). *Manual de fitopatologia*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.29-48.
- LEACH, C.M. A theoretical consideration of the epidemiology of seed-borne plant pathogens. In: _____. *Seed pathology problems and progress*. Londrina: IAPAR, 1979. p.227-233.
- MACHADO, J.C. *Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações*. Brasília: Ministério da Educação/ ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

- MENTEN, J.O.M. Importância do tratamento de sementes. In: MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. p.203-217.
- NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2.ed. London: Mcmillan Press, 1979. 1190p.
- OLIVEIRA, E. **Aspectos patológicos de *Botryodiplodia theobromae* Pat. em relação a sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. Lavras: ESAL, 1994. 127P.(Tese-Doutorado em Fitotecnia).
- PIZZINATTO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J.(ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480p.
- RONCADORI, R.W.; Mc CARTER, S.M.; CRAWFORD, J.L. Influence of fungi on cotton seed deterioration prior to harvest. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, p.1326-1328, Nov. 1971.
- TANAKA, M.A.S.; MACHADO, J.C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n.122, p.40-46, 1985.
- TANAKA, M.A.S.; PAOLINELLI, G.P. Avaliação sanitária e fisiológica de sementes de algodão produzidas em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.1, p.71-81, Jan./Abr. 1984.
- TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 111p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).

**Capítulo 4 TRANSMISSIBILIDADE E EFEITOS DE *Colletotrichum gossypii*
South. ASSOCIADO A SEMENTES DESLINTADAS DE
ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.)**

TRANSMISSIBILIDADE E EFEITOS DE *Colletotrichum gossypii* SOUTH ASSOCIADO
A SEMENTES DESLINTADAS DE ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.)

RESUMO

O presente trabalho foi conduzido em duas fases. A primeira objetivou verificar a influência do tratamento de sementes com hipoclorito de sódio durante 1 minuto e do nível de umidade do solo (3 turnos de rega) sobre 2 amostras de sementes de algodoeiro, cultivar IAC-20, portadoras naturais (25%) e inoculadas (100%) de *C. gossypii*. A outra avaliou o efeito do tratamento de sementes em função de diferentes profundidades de semeadura, utilizando as mesmas amostras e níveis de infecção descritos para o primeiro. Ambos os ensaios foram conduzidos em câmara de crescimento (28°C) e em casa de vegetação telada, cuja temperatura média registrada foi de 23°C. Os parâmetros avaliados foram: Índice de Velocidade de Emergência (I.V.E.), estandes inicial e final aos 7 e 14 dias da semeadura respectivamente, e Índice de Doença (I.D.) em plântulas, aos 14 dias pós-semeadura. Avaliou-se ainda a Taxa de Transmissão de *C. gossypii* a partir de sementes à progênie. Os resultados mostraram que a desinfestação das sementes, a presença de umidade no solo em níveis adequados e a semeadura superficial reduziram a incidência de *C. gossypii*, permitindo assim uma melhor expressão do vigor das plântulas originadas e mantendo estável o estande formado, sendo este efeito mais marcante a 28°C. A determinação da Taxa de Transmissão de *C. gossypii* a partir de sementes mostrou que ela é variável e está na dependência de vários aspectos, como por exemplo, a temperatura, o nível de infecção e o potencial de inóculo.

SUMMARY

Colletotrichum gossypii South. EFFECTS AND TRANSMISSIBILITY UPON DELINTED COTTON (*Gossypium hirsutum* L.) SEEDS

The present work was conducted in two phases. The first one aimed at finding out the influence of both NaOCl(1%) treatment of seeds and the soil moisture (3 watering turns) upon two cotton seed samples, CV. IAC-20, using naturally infected (25%) and artificially inoculated (100%) samples with *C. gossypii*. In the second trial the seed treatment effect was evaluated considering different seeding depths and infection levels as described in the first treatment used. Both trials were carried out under controlled conditions at 28°C, and in a green house where the average temperature was 23°C. The parameters evaluated were the following: emergency speed index; initial and final stands on the 7th and the 14th days after seeding. Transmission rate of *C. gossypii* was also evaluated from seeds to progenium. Results have shown that seed desinfestation, presence of moisture in the soil, on appropriate levels and the superficial sowing decreased *C. gossypii* incidence, allowing better vigor expression of the seedlings and keeping the stand level. Such an effect was seen to be enhanced at 28°C. Determination of *C. gossypii* transmission rate from seeds has shown to be variable and to be dependable on several factors such as temperature, infection level and inoculum position in seeds.

INTRODUÇÃO

É importante ressaltar que a associação de patógenos com sementes, nem sempre assegura o desenvolvimento de doenças por ocasião da sementeira, ou seja, nem sempre a taxa de transmissão corresponde à severidade dos danos causados pelas doenças às culturas (Ribeiro, 1986), embora praticamente todos os patógenos presentes na semente sejam potencialmente capazes de desencadear o processo de doença (Tanaka e Machado, 1985). Caso esse processo se desencadeie, resultando no surgimento de plantas doentes no campo, tem-se aí configurado o fenômeno da transmissão (Menten, 1986).

De modo geral os patógenos transportados pela semente, são potencialmente capazes de causar doença à progênie. No entanto, para que essa potencialidade seja expressa não se deve esquecer que é necessário ocorrer uma perfeita interação entre o patógeno, a semente e o ambiente (Anselme, 1977). Muitos fatores ambientais influenciam a transmissão do patógeno, da semente para a plântula. Exemplos desses fatores, podem ser citados: potencial hidrogeniônico (pH) e tipo de solo, profundidade de sementeira, umidade do solo, temperatura e umidade atmosférica, entre outros que aliados à virulência e concentração do inóculo do patógeno, vigor da semente, suscetibilidade dos tecidos da plântula e nutrientes do solo, determinam o estabelecimento das reações entre planta hospedeira e patógeno (Baker, 1972; Neergaard, 1979; Machado, 1988 e Menten, 1991).

A espécie fúngica *Colletotrichum gossypii* South., patogênica ao algodoeiro (Kimati, 1980), tem nas sementes sua principal via de sobrevivência e dispersão (Tanaka e Paolinelli, 1984; Tanaka, 1990) e em havendo condições climáticas favoráveis, tais sementes portadoras do

patógeno poderão originar plântulas com sintomas de tombamento e apodrecimento de frutos (Pizzinatto, 1987).

O presente estudo objetivou verificar os efeitos de *Colletotrichum gossypii* South. sobre o desempenho de sementes de algodoeiro, e daí determinar a partir de sementes sua transmissão às plântulas da progênie, levando-se em consideração alguns fatores externos interferentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo constou da condução de ensaios em câmara de crescimento e em casa de vegetação telada, utilizando-se em todos, amostras de sementes de algodoeiro, deslintadas quimicamente, da cultivar IAC-20, produzidas na região de Capinópolis, Estado de Minas Gerais, safra 1993/94. Nos ensaios em que as sementes foram inoculadas com *C. gossypii*, foram utilizadas amostras isentas do citado fungo patogênico, previamente selecionadas pelo teste de sanidade ("Blotter test"). Quatro fatores foram considerados no presente estudo: pré-tratamento das sementes com Hipoclorito de sódio, profundidade de semeadura, temperatura ambiente e umidade do solo.

1 Influência do pré-tratamento, umidade do solo e profundidade de semeadura sobre o desempenho de sementes de algodoeiro portadoras de *Colletotrichum gossypii* South., sob duas condições de cultivo.

Duas amostras de sementes de algodoeiro foram deslindadas quimicamente e selecionadas com base em sua densidade em água, eliminando-se a fração flutuante. Os percentuais de incidência de *C. gossypii*, detectados pelo método de Incubação em Papel de Filtro ("Blotter test"), foram da ordem de 0% e 25% (Amostra 2), respectivamente.

A amostra isenta de *C. gossypii* foi desinfestada superficialmente com hipoclorito de sódio, durante um minuto, seca e em seguida inoculada com *C. gossypii*, de tal forma a apresentar incidência de aproximadamente 100% (Amostra 1).

A inoculação constou na exposição das sementes por 30h., sobre colônias de *C. gossypii* em desenvolvimento, a 25°C em estufa incubadora para B.O.D., modelo 347-CD (FANEM). As sementes foram dispostas uniformemente em uma única camada ocupando toda a superfície exposta das colônias em crescimento no meio B.D.A., contido em placas de Petri.

Metade das amostras de sementes utilizadas neste estudo foi submetida à desinfestação com hipoclorito de sódio (1%), por um minuto, e imersão em água destilada e esterilizada (duas vezes), com o objetivo de se estudar a influência e a viabilidade deste procedimento sobre a germinação das sementes e plântulas originadas.

Foram instalados dois ensaios em câmara de crescimento e em casa de vegetação telada. A temperatura interna na câmara foi mantida em $28 \pm 1^\circ\text{C}$, durante o período de condução do ensaio (14 dias). O fotoperíodo foi de 12h. de luz e 12h. escuro utilizando lâmpadas fluorescentes do tipo Luz do Dia - AQUARILUX. Em casa de vegetação, a temperatura ambiente

foi monitorada através de um termômetro de máximo-mínimo. As temperaturas mínima, máxima e média registradas durante a condução dos ensaios foram de 13°C, 33°C e 23°C, respectivamente.

No primeiro ensaio, visando estudar a influência do tratamento com hipoclorito de sódio e umidade do solo, sementes anteriormente tratadas e não tratadas com NaOCl foram semeadas em caixas plásticas de 38x27x10 cm contendo solo de cultura, Latossolo vermelho-amarelo (LV), de textura média (areia = 51%; argila = 31%; limo = 18%), matéria orgânica = 3,3%, pH em Água = 5,8, proveniente da Fazenda experimental, de propriedade da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, localizada no município de Lavras - M.G.

Foram adotados três níveis de umidade do solo, regulados pelos intervalos ou turnos de rega, a saber: 2, 4 ou 8 dias. A quantidade de água fornecida para todas as caixas plásticas, em cada turno de rega foi mantida constante em 1.600 ml. Esta quantidade foi estabelecida em função de observações prévias que levaram em conta não só a exigência da cultura algodoeira em seu estágio inicial de desenvolvimento, bem como a textura do solo em uso e a temperatura no interior da câmara de crescimento e casa de vegetação.

As sementes foram semeadas à profundidade de 3 cm, sendo avaliados o estande aos sete e quatorze dias (inicial e final, respectivamente), o Índice de Doença em plântulas (I.D.) aos quatorze dias contados da semeadura e o I.V.E. Este último foi determinado pela somatória dos índices diários até o 8º dia após a semeadura, calculados pela divisão do número de plântulas emergidas pelo número de dias decorridos da semeadura, até a completa estabilização. Para a determinação do Índice de Doença utilizou-se a fórmula desenvolvida por McKinney (1923). Aos 14 dias após a semeadura todas as plântulas foram examinadas em relação à presença ou não de sintomas de infecção por *C. gossypii*, sendo adotada a seguinte escala de notas: 0 - ausência de sintomas; 1 - plântula com lesão superficial, com até 1,0 cm de extensão no hipocótilo; 2 - plântula com lesão(ões) deprimida(s), acima de 1,0 cm de extensão no hipocótilo, sem a ocorrência de

tombamento; 3 - plântula em colapso total (morte). Ao final do período de condução do ensaio, fragmentos de plântulas da amostra com inóculo natural de *C. gossypii*, provenientes dos dois locais de instalação dos ensaios, apresentando lesões características do patógeno na região do hipocótilo foram superficialmente desinfestadas por imersão em etanol 70% durante um minuto, em hipoclorito de sódio por igual período, seguido de lavagem em água destilada e esterilizada (3 vezes) e incubação em meio B.D.A., para a certificação da presença de *C. gossypii* nestes fragmentos.

Para a instalação do segundo ensaio, objetivando estudar a influência da desinfestação das sementes com hipoclorito de sódio e duas profundidades de semeadura (2,5 e 5,0 cm), fixou-se a umidade do solo (turno de rega = 4 dias) para todos os tratamentos, permanecendo inalterados os demais procedimentos e condições descritas no primeiro ensaio.

Cada parcela experimental foi constituída por uma caixa plástica contendo 100 sementes, sendo cada tratamento repetido três vezes. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, após transformação por $\log(x+10)$

2 Determinação da Taxa de Transmissão (%) de *C. gossypii* à progênie a partir de sementes e da relação Semente Infectada/Plântula Doente, em função do local de instalação do ensaio.

A Taxa de Transmissão (T.T.) de *C. gossypii* a partir de sementes, bem como a relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.) foram determinadas para cada amostra utilizada neste experimento, sendo considerado ainda o efeito do tratamento das sementes com hipoclorito de sódio.

Para as determinações utilizou-se metodologia descrita por Forcelini (1991), modificada, como segue abaixo:

$$T.T.(%) = \frac{I.D.(%)}{T.I.(%)} \times 100$$

Onde:

T.T.(%)= Taxa de Transmissão.

I.D.(%)= Índice de Doença médio, determinado para cada amostra utilizada e local de instalação dos ensaios.

T.I.(%)= Taxa de Infecção em Sementes, determinada pelo "Blotter test".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Influência do pré-tratamento, umidade do solo e profundidade de semeadura sobre o desempenho de sementes de algodoeiro portadoras de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro, sob duas condições de cultivo.

Os resultados da Tabela 1 mostram que tanto o nível de umidade do solo, quanto o pré-tratamento de sementes de algodoeiro influenciaram significativamente o Índice de Doença causado por *C. gossypii*, bem como a velocidade de emergência das plântulas nestas condições. As pequenas diferenças dos valores referentes a sementes desinfestadas e não desinfestadas indicam que o inóculo de *C. gossypii* em ambas amostras se encontrava mais interno nos tecidos das sementes. Nota-se pelos resultados que a atuação de *C. gossypii* sobre o desenvolvimento inicial do algodoeiro foi mais favorecida em condições de umidade do solo mais elevada. À

medida que a umidade do solo é reduzida, o índice de doença declina-se rapidamente. A Tabela 1 evidencia portanto que a irrigação mais freqüente, propicia condições mais favoráveis ao desenvolvimento das espécies fúngicas ali presentes. Vê-se que em intervalos menores de irrigação, houve um aumento proporcional da presença detectada do patógeno nas plântulas analisadas.

Através dos valores de Índice de Velocidade de Emergência (I.V.E.) que é um parâmetro utilizado na avaliação do vigor das sementes, pode-se observar que o pré-tratamento das sementes com hipoclorito de sódio, fez com que a emergência de plântulas fosse relativamente maior mesmo em condições de deficiência hídrica, determinada pelo turno de rega de 8 dias.

Para Gilioli et al. (1981), a permanência da semente no solo sem ocorrer a completa emergência, por falta de umidade adequada, aumenta a sua suscetibilidade ao ataque dos microrganismos, reduzindo a germinação. Não obstante, o nível de umidade intermediário (4 dias) permitiu uma elevação do I.V.E. em sementes não tratadas com NaOCl, mesmo que em certos casos esta elevação não tenha diferido estatisticamente (Tabela 1).

Para a amostra artificialmente inoculada, o pré-tratamento das sementes não influenciou o estande inicial (Tabela 1). Entretanto, tal prática permitiu uma menor redução no estande final. Da mesma forma, para a amostra com infecção natural, a desinfestação das sementes levou aos mesmos resultados, exceto que para esta o tratamento das sementes diferiu estatisticamente das não tratadas.

Ao se analisar a interação turnos de rega X tratamento com NaOCl (Tabela 1), observa-se uma tendência de aumento dos estandes inicial e final para as duas amostras analisadas que não receberam o tratamento e em menores intervalos de irrigação, principalmente 4 dias. Para aquelas tratadas com NaOCl o comportamento mostrou-se variável.

TABELA 1. Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e do turno de rega sobre o Índice de doença causado por *C. gossypii*, Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em câmara de crescimento. UFLA - Lavras, 1995.

AMOSTRA 1								
Turno de rega (dias)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2	80.86A	71.01A	35.46A	40.09A	34.4A	35.9A	2.4 B	3.2 B
4	76.78AB	48.30 B	34.80A	41.72A	34.7A	30.5A	3.5A	6.4A
8	54.31 B	43.77 B	18.77 B	35.45 B	26.3 B	32.6A	2.6 B	5.3A
MÉDIAS	70.65 a	54.36 b	29.67 b	39.08 a	31.8 a	32.9 a	2.8 b	4.9 a
C.V.	4.35%		3.17%		4.59%		9.80%	

AMOSTRA 2								
Turno de rega (dias)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2	24.69A	22.56A	31.59A	49.49A	44.6AB	58.2 B	38.8A	36.6A
4	16.35 B	14.73 B	35.97A	44.08A	59.1A	68.3A	33.0A	34.8A
8	13.50 B	11.95 B	20.67 B	38.73 B	39.3 B	53.6 B	23.3 B	26.5 B
MÉDIAS	18.18 a	16.41 a	29.41 b	44.10 a	47.7 b	60.0 a	31.7 a	32.7 a
C.V.	3.69%		2.61%		2.52%		1.94%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) N.T.= Sementes não tratadas; (2) T.= Sementes tratadas.

TABELA 2. Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e da profundidade de semeadura sobre o Índice de doença causado por *C. gossypii*, Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em câmara de crescimento. UFLA - Lavras, 1995.

AMOSTRA 1								
Profundidade de semeadura (cm)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2,5	15.48A	0.62 B	35.79A	43.36A	27.9A	24.5A	16.4A	25.8A
5,0	28.59A	24.02A	0.00 B	39.82A	0.0 B	16.9A	6.1 B	17.5A
MÉDIAS	22.03 a	12.32 b	17.89 b	41.59 a	13.9 b	20.6 a	11.3 b	21.6 a
C.V.	22.51%		8.50%		22.75%		23.00%	

AMOSTRA 2								
Profundidade de semeadura (cm)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2,5	27.36A	2.38 B	34.82A	48.11A	21.0A	26.3A	17.4A	28.3A
5,0	26.92A	25.44A	0.00 B	39.26A	0.0 B	20.3A	9.1 B	26.2A
MÉDIAS	27.14 a	13.91 b	17.41 b	43.68 a	10.5 b	23.3 a	13.3 b	27.3 a
C.V.	18.20%		10.53%		15.90%		25.47%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) N.T.= Sementes não tratadas; (2) T.= Sementes tratadas.

As várias determinações apresentadas na Tabela 2, permitiram observar que houve um efeito significativo do tratamento com hipoclorito de sódio, independente da amostra analisada. É possível inferir ainda que em sementeira superficial (2,5 cm), a emergência das plântulas é mais rápida possibilitando que as plantas estejam fora do alcance de patógenos do solo e possam enfim, estabelecerem-se no campo de cultivo.

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, considerando o I.V.E. e o estande inicial para as amostras não tratadas com NaOCl, observa-se que a germinação das sementes e a emergência das plântulas foram extremamente influenciadas pela profundidade de sementeira. Provavelmente a maior profundidade de sementeira (5,0 cm) acarretou um atraso na germinação das sementes, o qual deve ser considerado. O tratamento das sementes atenuou este efeito.

As Tabelas 3 e 4 apresentam os resultados obtidos em ensaios conduzidos em casa de vegetação telada, cuja temperatura média registrada foi 23°C.

Independente da amostra analisada, as sementes tratadas com NaOCl(1%) não diferiram estatisticamente daquelas não tratadas, embora o I.D. tenha sido numericamente reduzido em 12% para a amostra inoculada e 5% para a amostra com inóculo natural de *C. gossypii* (Tabela 3). Obteve-se ainda como resultado, que ao se expandir o intervalo de rega para 8 dias, houve uma diferença estatística em relação aos demais turnos de rega, trazendo como consequência uma diminuição do I.D., quando se considerou a amostra inoculada. A amostra com inóculo natural seguiu a tendência da primeira, apesar da diferença, neste caso, ser apenas numérica.

Na determinação do I.V.E. (Tabela 3), observa-se que independentemente da amostra analisada o pré-tratamento de sementes e a presença de umidade no solo foram eficientes em propiciar a expressão do vigor das sementes (40% para a amostra inoculada e 81% para a amostra com inóculo natural). Hoppe (1953) e Machado (1988) consideram que as sementes e plântulas de

TABELA 3. Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e do turno de rega sobre o Índice de doença causado por *C. gossypii*, Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em casa de vegetação telada. UFLA - Lavras, 1995.

AMOSTRA 1								
Turno de rega (dias)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2	65.09A	58.81A	9.57AB	13.94A	68.3A	70.6A	45.3A	49.3A
4	62.74AB	54.33AB	11.11A	13.91AB	68.2A	71.6A	45.5A	53.3A
8	55.46 B	48.08 B	8.03 B	12.32A	56.4 B	66.3A	41.9A	49.0A
MÉDIAS	61.09 a	53.74 a	9.57 b	13.39 a	64.3 a	69.5 a	44.2 a	50.5 a
C.V.	1.36%		2.15%		2.64%		4.42%	

AMOSTRA 2								
Turno de rega (dias)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2	22.72A	20.56A	12.12A	22.55A	82.5A	85.3A	60.2A	72.4A
4	19.75A	19.23A	13.41A	24.72A	83.7A	87.9A	60.6A	69.6A
8	18.15A	18.02A	11.65 B	19.86A	78.2A	82.9A	50.8 B	60.9A
MÉDIAS	20.20 a	19.27 a	12.39 b	22.37 a	81.4 a	85.4 a	57.2 b	67.7 a
C.V.	3.11%		2.53%		1.00%		5.17%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) N.T.= Sementes não tratadas; (2) T.= Sementes tratadas.

TABELA 4. Efeito do pré-tratamento de sementes com hipoclorito de sódio e da profundidade de semeadura sobre o Índice de doença causado por *C. gossypii*, Índice de Velocidade de Emergência e número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final), em casa de vegetação telada. UFLA - Lavras, 1995.

AMOSTRA 1								
Profundidade de semeadura (cm)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2,5	38.30 B	4.09 B	14.25A	19.00A	48.4A	49.3A	42.8A	54.3A
5,0	53.57A	35.65A	0.00 B	13.47 B	0.0 B	39.4A	7.4 B	46.9A
MÉDIAS	45.93 a	19.87 b	7.13 b	16.24 a	24.2 b	44.4 a	25.1 b	50.6 a
C.V.	11.52%		20.85%		9.57%		16.48%	

AMOSTRA 2								
Profundidade de semeadura (cm)	Índice de Doença (%)		Índ. de Veloc. de Emergência		Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias	
	N.T. ⁽¹⁾	T. ⁽²⁾	N.T.	T.	N.T.	T.	N.T.	T.
2,5	54.24A	18.00 B	17.21A	25.75A	36.3A	38.5A	38.1A	64.9A
5,0	62.67A	31.03A	0.00 B	24.74A	0.0 B	39.5A	10.3 B	42.5 B
MÉDIAS	58.45 a	24.51 b	8.61 b	25.25 a	18.1 b	38.9 a	24.2 b	53.8 a
C.V.	20.93%		19.54%		15.17%		21.25%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) N.T.= Sementes não tratadas; (2) T.= Sementes tratadas.

várias espécies geralmente resistem a muitas doenças sob condições que favoreçam a rápida germinação e crescimento da plântula. Porém em condições sub-ótimas de temperatura e umidade do solo o processo de germinação é retardado, podendo a semente ser atacada por patógenos originando plântulas fracas. É desejável portanto, que se adote o nível intermediário de umidade do solo, buscando a um só tempo, redução no I.D. e maior expressão do vigor das sementes.

Os resultados obtidos para estande inicial (Tabela 3) permitem concluir que não houve diferença estatística para o tratamento de sementes com NaOCl, muito embora tenha sido detectada uma superioridade numérica para as sementes tratadas. A comparação das médias para o fator turno de rega indicou que a intervalos menores da irrigação houve condições mais favoráveis para a produção de um maior número de plântulas em desenvolvimento, notadamente para as sementes da amostra inoculada, não tratada.

O tratamento superficial das sementes, para as duas amostras consideradas, permitiu uma menor redução no estande final de plântulas, ainda que a diferença estatística só tenha sido constatada no caso da amostra naturalmente infectada. A presença de umidade no solo, principalmente no seu valor intermediário (4 dias), demonstrou ser um fator de grande importância para o aumento do número de plântulas estabelecidas aos quatorze dias da semeadura (Tabela 3).

Os resultados apresentados na Tabela 4, indicam que a desinfestação das sementes das duas amostras analisadas permitiu uma superioridade estatística em relação àquelas não desinfestadas para todas as determinações efetuadas. Ao se analisar as amostras separadamente, observa-se que com o tratamento das sementes o Índice de Doença pôde ser reduzido em 57% para a amostra inoculada e 58% para a amostra naturalmente infectada. Some-se a isto o fato de que a menor profundidade utilizada para a semeadura (2,5 cm) possibilitou, em média, redução do I.D., e da mesma forma aumento do I.V.E. para as duas amostras consideradas. A profundidade de plantio para o algodoeiro deve ser superficial, visto que as sementes tendo melhores condições de

germinação podem escapar do ataque de patógenos de solo com maior rapidez. Pela Tabela 4 observa-se que para as sementes não tratadas, semeadas a 5,0 cm de profundidade, houve um atraso no seu desenvolvimento inicial, contrastando com aquele obtido pelas mesmas sementes em semeadura mais superficial. Tal atraso não ocorreu em se considerando sementes tratadas, independentemente da profundidade utilizada, o que comprova mais uma vez a eficiência da prática de desinfestação de sementes, mesmo em amostras com alto percentual de inóculo de *C. gossypii*.

A interação estatística entre os fatores tratamento de sementes e profundidade de semeadura, indicou que sementes tratadas com NaOCl e semeadas superficialmente (2,5 cm) permitem a obtenção de um maior número de plântulas no campo de cultivo, variando este aumento de 14% para sementes da amostra inoculada e 38% para a amostra com inóculo natural. Considerando a diminuição da profundidade de semeadura houve um aumento de 45% no número de plântulas estabelecidas.

Dos 100 fragmentos de plântulas coletadas ao acaso dentro da amostra com inóculo natural, em câmara de crescimento vegetal e em casa de vegetação, após 14 dias da semeadura, desinfestados e plaqueados em B.D.A., obteve-se 80%, 50% e 16% de lesões em hipocótilos de plântulas, causadas por *C. gossypii*, *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia* sp., respectivamente.

2 Determinação da Taxa de Transmissão (%) de *C. gossypii* à progênie a partir de sementes e da relação Semente Infectada/Plântula Doente, em função do local de instalação do ensaio.

Pelos resultados apresentados na Tabela 5, observa-se que as taxas de transmissão de *C. gossypii* foram variáveis em função da amostra trabalhada, do pré-tratamento e da temperatura de crescimento. Ao contrário do que se tinha como hipótese a amostra com maior percentual de

infecção obteve taxas de transmissão inferiores à outra com menor incidência de *C. gossypii*, resultado este provavelmente influenciado pelo potencial de inóculo e por sua localização nas sementes.

TABELA 5. Percentuais obtidos na determinação da Taxa de Transmissão (T.T.) e da relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.). UFLA - Lavras, 1995.

LOCAL	T.I.(%) ⁽²⁾	I.D.(%) ⁽¹⁾		T.T.(%)		S.I./P.D.	
		N.T.	T.	N.T. ⁽³⁾	T. ⁽⁴⁾	N.T.	T.
Casa de	100	53.5	36.8	53.5	36.8	1.0:0.5	1.0:0.4
Vegetação	25	39.3	21.9	100.0	87.6	1.0:1.0	1.0:1.0
Câm. Cresc. ⁶	100	46.3	33.3	46.3	33.3	1.0:0.5	1.0:0.3
Vegetal	25	22.7	15.2	90.8	60.8	1.0:1.0	1.0:0.6

(1) I.D.(%) = Índice de doença em plântulas.

(2) T.I.(%) = Taxa de Infecção em Sementes, determinada pelo "Blotter test".

(3) N.T. = Sementes não tratadas; (4) T. = Sementes tratadas.

Tanaka e Machado (1985) ressaltam que a associação de patógenos com sementes, nem sempre assegura o desenvolvimento de doenças por ocasião da semeadura, embora praticamente todos os patógenos presentes na semente sejam potencialmente capazes de desencadear o processo de doença. Apesar disto os resultados deste estudo revelaram que com o tratamento das sementes houve uma redução da taxa de transmissão do patógeno, para qualquer situação considerada. Temperaturas mais baixas, como aquelas registradas na casa de vegetação provocam um atraso na germinação das sementes, aumentando o tempo de contato entre o patógeno e os tecidos embrionários, aumentando as chances de infecção dos tecidos jovens da progênie (Oliveira, 1994). Como consequência, há um aumento da taxa de transmissão. Ao se comparar as temperaturas médias dos locais de instalação dos ensaios, observou-se que em casa de

vegetação (23°C) houve uma redução significativa do índice de velocidade de emergência e ao mesmo tempo um aumento médio do índice de doença em plântulas, que aliados à presença de umidade no solo, constituíram-se na provável causa de ocorrência de elevadas taxas de transmissão de *C. gossypii* de sementes à progênie.

CONCLUSÕES

- 1 - O pré-tratamento de sementes de algodoeiro com hipoclorito de sódio reduz a incidência de *C. gossypii*, permitindo por conseguinte, uma melhor expressão do vigor das plântulas formadas, sendo este efeito mais marcante em temperatura mais elevada (28°C).
- 2 - Em temperatura mais baixa (23°C), a disponibilidade maior de umidade no solo propicia um melhor desenvolvimento de *C. gossypii* presente nas sementes, aumentando a percentagem de ocorrência de plântulas com sintomas do patógeno até os 14 dias pós-semeadura.
- 3 - O pré-tratamento de sementes aliado à semeadura mais superficial, nível médio de umidade no solo e temperatura próxima a 28°C, permitem reduzir a incidência de *C. gossypii*, mantendo estável o estande de plântulas no campo de cultivo.
- 4 - A taxa de transmissão de *C. gossypii* no sentido semente-plântula depende fundamentalmente da temperatura, da percentagem de incidência e potencial

infectivo do inóculo presente nas sementes, e ainda da disponibilidade de umidade no solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSELME, C. Seed pathology of vegetable crops. In: YORINORI, J.T.; SINCLAIR, J.B.; MEHTA, Y.R.; MOHAR, S.K.(eds.). **Seed pathology problems and progress**. Londrina: IAPAR, 1977. p.130-137.
- BAKER, K.F. **Seed pathology**. New York: Academic Press, 1972. 368p.
- FORCELINI, C.A. Importância epidemiológica de fungos do gênero *Helminthosporium* em sementes de trigo e cevada. In: MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.
- GILIOI, J.L.; PEREIRA, L.A.G.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTA, N.P. Efeito de profundidade de semeadura e do tratamento de sementes de soja com fungicida sobre a emergência, em solo com diferentes condições de umidade. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v.6, n.1, p.87-92, 1981.
- HOPPE, P.E. Infections of corn seedlings. In: _____. **Plant Disease. The Yearbook of Agriculture**. Washington, U.S. Gov. Printt. Off., 1953. p.377-380.
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro - *Gossypium* spp. In: GALLI, F.(coord.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1980. v.2, p.29-48.

- MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: Ministério da Educação/ESAL/FAEPE, 1988. 107p.
- McKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-219, 1923.
- MENTEN, J.O.M. Importância da semente na transmissão de patógenos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. Resumos... Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.17-19.
- MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M.(ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321P.
- NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2.ed. London: McMillan Press, 1979. 1190p.
- OLIVEIRA, E. Aspectos patológicos de *Botryodiplodia theobromae* Pat. em relação a sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras: ESAL, 1994. 127P. (Tese-Doutorado em Fitotecnia).
- PIZZINATTO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S.(ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.331-346.
- RIBEIRO, A.S. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de arroz. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. Resumos... Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.57-64.

TANAKA, M.A.S.; PAOLINELLI, G. de P. Avaliação sanitária e fisiológica de sementes de algodão produzidas em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.1., p.71-81, jan./abr. 1984.

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

TANAKA, M.A.S.. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 111P. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).

Capítulo 5 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO NA TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum gossypii* South. EM SEMENTES DE ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.)

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO NA
TRANSMISSÃO DE *Colletotrichum gossypii* South. EM SEMENTES DE ALGODOEIRO

(*Gossypium hirsutum* L.)

RESUMO

Este estudo avaliou a Taxa de Transmissão de *C. gossypii* em presença de fungicidas químicos (benomil e thiram) e de uma formulação em pó contendo esporos de *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, considerado antagonista àquele, *in vitro*. Os produtos fungicidas foram incorporados a amostras de sementes de algodoeiro com infecção natural (20%) ou artificialmente inoculadas (70%) pelo patógeno. Foram instalados ensaios em câmara de crescimento vegetal, com regimes de luz e temperatura controlados, onde se avaliou o Índice de Velocidade de Emergência, estandes inicial e final (aos 7 e 14 dias) e o Índice de Doença causado por *C. gossypii* em plântulas aos 14 dias da sementeira. Foram avaliados ainda a germinação padrão (rolo de papel) e a sanidade das amostras de sementes pelo "Blotter test". Os resultados mostraram que o tratamento de sementes, químico ou biológico, possibilitou reduzir a Taxa de Transmissão de *C. gossypii*, mostrando ainda, que *Penicillium aurantiogriseum* é um antagonista que deve ser considerado em estudos futuros envolvendo controle biológico *in vivo* de *C. gossypii*.

SUMMARY

EVALUATION OF THE EFFECTS OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL TREATMENTS UPON *Colletotrichum gossypii* South. TRANSMISSION IN COTTON SEEDS (*Gossypium hirsutum* L.)

This work was carried out with the objective of evaluating the *C. gossypii* reaction in the presence of chemical fungicides (benomil and thiram) and of *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx (powdery formulated), which is considered to be antagonic to the referred to *C. gossypii* *in vitro*. Fungicides were incorporated to the cotton seed sample which were infected either naturally (20%) or artificially (70%) by the pathogen. Experiments were conducted in a plant growth chamber where both light and temperature were controlled and where the emergence speed index, the initial and final stands (7th and 14th days), and Disease Index in seedlings caused by *C. gossypii* were evaluated. Standard germination and seed sample health condition were also evaluated by "roll paper" and "Blotter test", respectively. Both treatments were found to decrease the transmission rate of *C. gossypii*. *Penicillium aurantiogriseum* was found to present desirable properties to be considered in future studies concerning biological control of *C. gossypii* *in vivo*.

INTRODUÇÃO

A utilização de sementes sadias, livres de patógenos é do ponto de vista de Controle Integrado uma medida de fundamental importância para se evitar o surgimento de doenças nas fases iniciais e tardia de crescimento das culturas agrícolas de modo geral. Em termos gerais, para qualquer fungo fitopatogênico transmitido por sementes, é o tratamento de sementes, com fungicidas químicos ou com agentes de controle biológico, um dos fatores mais facilmente manipulado pelo homem, e que pode afetar em maior escala a taxa de transmissibilidade desses organismos.

É através do tratamento de sementes que inúmeras doenças são controladas, seja através da eliminação ou redução do inóculo, ou proteção das mesmas por ocasião da emergência e fases jovens da planta. Este tipo de tratamento possibilita manter, ou mesmo, melhorar a qualidade sanitária das sementes, obviamente com reflexos positivos na qualidade fisiológica (Souza, Scalco e Carvalho, 1984; Tanaka, 1986; Soave e Moraes, 1987 e Machado, 1988).

A literatura mundial traz inúmeras informações sobre o tratamento fungicida de sementes de algodoeiro, demonstrando uma evolução relativamente rápida no desenvolvimento de novos produtos químicos, com alta eficácia no controle de *Colletotrichum gossypii* South. (Machado, 1988), agente causador da antracnose do algodoeiro. O emprego de microrganismos antagônicos tem sido investigado como uma alternativa à supressão de mecanismos de transmissão de fungos fitopatogênicos no tratamento de sementes de algodoeiro. A utilização de um fungicida biológico, a ser produzido em escala industrial, tem despertado o interesse de muitos pesquisadores, no entanto, pouco se tem conseguido efetivamente.

O presente estudo objetivou avaliar os efeitos do tratamento químico e biológico, este representado pela utilização de *Penicillium aurantiogriseum*, sobre o mecanismo de transmissão de *C. gossypii*, assim como o efeito desses tratamentos sobre o desempenho de sementes de algodoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Lavras (UFLA), nos meses de junho e julho de 1995, utilizando duas amostras de sementes de algodoeiro, cultivar IAC-20, safra 93/94, produzidas na região de Capinópolis, Estado de Minas Gerais, deslindadas quimicamente.

1 Preparo das sementes e incorporação de fungicidas químicos e do antagonista.

Neste ensaio foram utilizadas duas amostras de sementes de algodoeiro, as quais foram deslindadas quimicamente, sendo em seguida submetidas ao teste de sedimentação em água, eliminando-se a fração flutuante.

Na seqüência, ambas as amostras foram avaliadas quanto à sua sanidade, utilizando o método de incubação das sementes em papel de filtro ("Blotter test"). Os resultados apontaram incidência natural de *C. gossypii* de 10% e 20% (Amostra 1). A amostra com incidência de 10% foi submetida à inoculação com *C. gossypii*. Para tanto, 40% do total de sementes estipulado para este estudo foi mantido com o percentual de 10%, detectado pelo "Blotter test", enquanto que os

60% restantes foram divididos em duas partes iguais, sendo que a primeira parte foi inoculada por 15h. e a segunda por 30h., seguindo metodologia descrita por Tanaka (1990). Decorridos os respectivos tempos de exposição das sementes às colônias do referido fungo, as sementes foram secas à temperatura ambiente por 24h. (Amostra 2).

Para o preparo do inóculo de *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx na forma de pó seco, foram utilizadas seis placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio B.D.A., nas quais foram cultivadas as colônias do agente antagonista por 10 dias, fotoperíodo de 12h. (N.U.V.) e incubação a $21 \pm 2^\circ\text{C}$. Decorrido este período as culturas de *P. aurantiogriseum* obtidas foram levemente raspadas, com o auxílio de um estilete esterilizado de ponta recurvada, sendo os esporos cuidadosamente depositados em outra placa de Petri de 9 cm de diâmetro, esterilizada contendo um grama de talco (substância inerte), também esterilizado. Toda a operação foi realizada assepticamente em câmara de fluxo laminar. Feita a homogeneização do preparado fúngico, submeteu-se o mesmo à determinação de sua concentração em câmara de Neubauer, pesando-se 0,05 g do preparado e dissolvendo-os em 10 ml de água destilada e esterilizada. A concentração média final determinada foi de $2,5 \times 10^7$ esporos por mililitro da suspensão.

De posse das sementes preparadas para este trabalho, procedeu-se ao tratamento das mesmas com os fungicidas thiram (280 g i.a./100 Kg de sementes) e benomil (100 g i.a./100 Kg de sementes). Para a formulação em pó de *P. aurantiogriseum*, estabeleceu-se a dosagem de 200 g da formulação de inóculo para 100 kg de sementes.

As sementes de ambas as amostras tratadas e não tratadas, com os respectivos produtos fungicidas e antagonista, foram submetidas aos testes de sanidade, germinação em substrato papel e emergência em solo.

Para a análise de sanidade, as sementes foram colocadas em placas de Petri de vidro transparente de 15 cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro umedecidas em solução

de 2,4-Diclorofenoxiacetato de sódio na concentração de 10 ppm. Em cada placa foram semeadas 25 sementes, sendo preparadas 8 placas por tratamento. As placas foram incubadas por sete dias em câmara com temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h., sob lâmpada fluorescente N.U.V., sendo posteriormente examinadas ao microscópio estereoscópico. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado.

O percentual de germinação foi determinado através do método de rolo de papel, sendo a avaliação realizada ao 4º dia em câmara à temperatura de 25°C e umidade acima de 95% (os rolos foram envolvidos por sacos plásticos pretos). A determinação da germinação foi feita de acordo com metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Para cada tratamento foram analisadas 200 sementes em quatro repetições de 50. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado.

Para a avaliação da emergência, utilizou-se como substrato solo de cultura, Latossolo vermelho-amarelo (LV), de textura média, proveniente da Fazenda experimental, de propriedade da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, localizada no município de Lavras - M.G. O substrato foi colocado em caixas plásticas de 38x27x10 cm, e em cada uma foram semeadas 50 sementes à profundidade de 3 cm. Cada parcela experimental foi constituída por uma caixa plástica e cada tratamento repetido quatro vezes, em delineamento em blocos ao acaso. As caixas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h., sob lâmpada fluorescente do tipo Luz do Dia - AQUARILUX. O número de plantas emergidas foi determinado diariamente até a estabilização, sendo o estande inicial considerado aos 7 dias após a semeadura. O Índice de Velocidade de Emergência (I.V.E.) foi obtido pela somatória dos índices diários, até os 11 dias da semeadura, calculados pela divisão do número de plantas emergidas pelo número de dias decorridos da semeadura. O estande final foi determinado aos 14 dias da semeadura. Determinou-se ainda o Índice de Doença em plântulas (I.D.), utilizando-se a

fórmula proposta por McKinney (1923). A escala de notas adotada de acordo com o grau de infecção por *C. gossypii* em plântulas, foi a seguinte: 0 - ausência de sintomas; 1 - plântula com lesão superficial, com até 1,0 cm de extensão no hipocótilo; 2 - plântula com lesão(ões) deprimida(s), acima de 1,0 cm de extensão no hipocótilo, sem a ocorrência de tombamento; 3 - plântula em colapso total (morte).

Os dados obtidos nos testes de sanidade, germinação e emergência em solo foram submetidos à análise de variância, após transformação por $\log(x + 10)$.

2 Determinação da Taxa de Transmissão (%) de *C. gossypii* à progênie a partir de sementes e da relação Semente Infectada/Plântula Doente.

A Taxa de Transmissão (T.T.) de *C. gossypii* a partir de sementes, bem como a relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.) foram avaliadas para cada amostra utilizada neste experimento, sendo considerado ainda o efeito do tratamento das sementes.

Para as determinações utilizou-se metodologia descrita por Forcelini (1991), modificada como segue abaixo:

$$T.T.(%) = \frac{I.D.(%) \times 100}{T.I.(%)}$$

Onde:

T.T.(%)= Taxa de Transmissão.

I.D.(%)= Índice de Doença médio, determinado para cada amostra utilizada.

T.I.(%)= Taxa de Infecção em sementes, determinada pelo "Blotter test".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1, 2 e 3 apresentam os resultados obtidos para os diversos parâmetros avaliados neste estudo.

TABELA 1. Efeitos do tratamento químico e biológico sobre a percentagem de incidência de *C. gossypii* ("Blotter test"), percentagem de germinação de sementes de algodoeiro e sobre o Índice de Velocidade de Emergência, em câmara de crescimento. UFLA - Lavras, 1995.

Tratamentos	<i>C. gossypii</i> em sementes (%)		Germinação Padrão (%)		Índice de Velocidade de Emergência	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
Testemunha	64.02A	72.34 A	39.87 C	10.34 C	9.52 B	8.50 B
Antagonista ⁽¹⁾	35.75AB	38.33 B	57.40 B	30.26 B	17.48 A	15.79 A
Thiram	5.25 C	12.47 C	90.37 A	87.79 A	15.85 A	15.87 A
Benomil	4.13 BC	5.04 D	83.88 A	71.35 A	14.29 A	13.14 A
MÉDIAS	27.28 a	32.04 a	67.88 a	49.94 b	14.29 a	13.83 a
C.V.	7.30%		4.50%		3.31%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) *Penicillium aurantiogriseum*.

TABELA 2. Efeitos do tratamento químico e biológico sobre o número de plântulas estabelecidas aos 7 e 14 dias da semeadura (estande inicial e final) e sobre o Índice de Doença em plântulas causado por *C. gossypii*, em câmara de crescimento. UFLA - Lavras, 1995.

Tratamentos	Estande aos 7 dias		Estande aos 14 dias		Índice de doença (%)	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
Testemunha	17 B	19 B	13 B	12 C	65.32 A	76.45 A
Antagonista ⁽¹⁾	35 A	34 A	27 A	22 B	46.00 B	47.25 B
Thiram	34 A	30 AB	32 A	30 A	8.40 C	29.50 C
Benomil	33 A	26 AB	32 A	22 B	7.33 C	9.46 D
MÉDIAS	30 a	27 a	26 a	22 a	31.76 b	40.66 a
C.V.	6.0 %		12.5%		4.76%	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(1) *Penicillium aurantiogriseum*.

Os resultados apresentados nas Tabelas 1, 2 mostram que o tratamento de sementes, seja ele químico ou biológico, foi capaz de reduzir o índice de ocorrência de *C. gossypii*, possibilitando maior emergência das sementes, sobrevivência de plântulas, maior I.V.E. e menor I.D. para ambas as amostras consideradas neste estudo. No entanto, nenhum dos tratamentos conseguiu eliminar totalmente o patógeno das sementes.

Com relação à maior efetividade no controle de *C. gossypii* exercida pelos fungicidas químicos, benomil e thiram, trata-se de um fato já celebrado pela literatura específica, sendo estes produtos registrados para o tratamento de sementes de algodoeiro, objetivando controlar não só o patógeno em questão como também outros, como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. e *Sclerotium rolfsii*, etc., associados às sementes e/ou presentes no solo (Organização Andrei, 1990). Entre os

dois fungicidas utilizados, benomil mostrou-se inferior ao thiram nas avaliações de germinação, I.V.E., e estande (7 e 14 dias), muito embora não tenha havido diferença estatística para a maioria dos parâmetros avaliados. A causa provável desse efeito repressor pode ter sido a dosagem utilizada, que para outras culturas, como soja, é considerada elevada. Por outro lado, é preciso ressaltar que benomil apresentou o melhor desempenho na determinação do Índice de Doença em plântulas.

De uma maneira geral, as avaliações realizadas confirmam a natureza antagonista de *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx a *C. gossypii*, *in vivo*. Pelo teste de sanidade o agente de controle biológico conseguiu reduzir, em média, 46% da incidência de *C. gossypii* nas sementes; pelo teste de germinação em substrato de papel, o aumento percentual de germinação de sementes tratadas com este organismo foi da ordem de 200% (Amostra 2). A redução de 35%, em média, do Índice de Doença em plântulas, para as duas amostras consideradas, mostra o efeito antagonista significativo desse fungo. Nos resultados referentes à emergência em solo e sobrevivência de plântulas (estandes), observa-se que *P. aurantiogriseum* diferindo da testemunha, proporcionou um desempenho semelhante aos fungicidas químicos. Estes resultados obtidos *in vivo*, revelam a potencialidade desse tipo de tratamento fazendo com que estudos nesta direção sejam continuados. Torna-se interessante, por exemplo, testar novas dosagens e formulações, bem como a possibilidade de se combinar ambos os tipos de tratamento, e avaliar os possíveis impactos causados por este agente antagonista sobre o ambiente, de modo geral.

2 Determinação da Taxa de Transmissão (%) de *C. gossypii* à progênie a partir de sementes e da relação Semente Infectada/Plântula Doente.

TABELA 3. Percentuais obtidos na determinação da Taxa de Transmissão e da relação Semente Infectada/Plântula Doente (S.I./P.D.). UFLA - Lavras, 1995.

Tratamentos	Taxa de Transmissão (%)		S.I./P.D.	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
Testemunha	98	94	1.0:1.0	1.0:0.9
Antagonista ^ω	78	60	1.0:0.8	1.0:0.6
Thiram	60	41	1.0:0.6	1.0:0.4
Benomil	54	53	1.0:0.5	1.0:0.5

(1) *Penicillium aurantiogriseum*.

Pelos resultados apresentados na Tabela 3, observa-se que a incorporação de fungicidas químicos e biológicos propiciou uma redução na Taxa de Transmissão de *C. gossypii* em níveis variáveis. Os fungicidas thiram e benomil destacaram-se ao reduzir a proporção Semente Infectada/Plântula Doente para em média 1.0:0.5. Os resultados obtidos para a testemunha mostraram que o fato de não se tratar as sementes portadoras de *C. gossypii* por ocasião do plantio, implica em riscos de se ter uma elevada taxa de transmissão de *C. gossypii*, podendo esta taxa atingir valores próximos a 100%. Este resultado, reafirma a importância de se considerar com maior atenção o tratamento das sementes como uma medida da maior relevância no contexto de controle integrado de doenças.

CONCLUSÕES

1. A incorporação de fungicidas químicos (benomil, thiram) a sementes de algodoeiro foi uma medida das mais eficazes em reduzir a Taxa de Transmissão de *C. gossypii*, a partir de sementes infectadas.
2. Apesar de ter reduzido o nível de incidência de *C. gossypii* em sementes, a eficácia do tratamento biológico através de *Penicillium aurantiogriseum* foi estatisticamente inferior ao tratamento químico.
3. Nenhum dos tratamentos, químico ou biológico, foi capaz de eliminar totalmente *C. gossypii* das sementes de algodoeiro, no presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.
- FORCELINI, C.A. Importância epidemiológica de fungos do gênero *Helminthosporium* em sementes de trigo e cevada. In: MENTEN, J.O.M. Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.
- MACHADO, J.C. Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações. Brasília: MEC/FAEPE/ESAL, 1988. 107P.
- McKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativus*. *Journal of Agricultural Research*, Washington, v.26, n.5, p.195-199, Nov. 1923.

ORGANIZAÇÃO ANDREI. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola.** 3.ed. rev.atual. São Paulo, 1990. 478p.

SOAVE, J.; MORAES, S.A.de. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V.S.(eds.). **Patologia de Sementes.** Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480p.

SOUZA, A.F.; SCALCO, M.S.; CARVALHO, W.P.deA. Influência dos fungicidas Kasumiron, Kasumin, Difolatan 4F na germinação e vigor de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). **Ciência e Prática**, Lavras, v.8, n.1, p.81-84, Jan./Jun. 1984.

TANAKA, M.A.S. Tratamento de sementes de arroz. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Campinas, 1986. **Segundo...** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.119-129.

TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro.** Piracicaba: ESALQ, 1990. 111P. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).

Capítulo 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As dificuldades por que passa o sistema de produção de sementes de algodoeiro no Estado de Minas Gerais possui causas de diversas naturezas, começando pelo desestímulo dos agricultores frente a políticas econômicas, à baixa tecnologia ainda empregada nesta cultura. Na medida em que sementes de baixa qualidade são utilizadas no Estado e em outras regiões do país, percebe-se uma evidente redução na produção por área, decorrente não só do fraco desempenho fisiológico, como também da introdução por esta via e estabelecimento de doenças de ação altamente danosa à cultura algodoeira e a outras que a sucedem em esquemas de rotação não planejados. Pela comprovação de inúmeros patologistas em todo o mundo, a semente constitui-se no veículo mais eficiente de disseminação de inúmeros patógenos propiciando entre outras implicações, a introdução de doenças em novas áreas, com conseqüente risco de redução da produção (Noble, 1951; Baker, 1972; Neergaard, 1979 e Machado, 1988).

Nos últimos anos, apesar da redução dos padrões oficiais de germinação, o freqüente descarte de lotes de sementes de algodoeiro tem atingido níveis inaceitáveis. Tais descartes são a prova evidente da baixa qualidade fisiológica e/ou sanitária dos lotes de sementes, sendo que o aumento da incidência de fungos fitopatogênicos - entre eles *Colletotrichum gossypii* South. - constitui-se em sério problema na melhoria da qualidade das sementes produzidas.

Associar a elevada freqüência com que *C. gossypii* é detectado em sementes de algodoeiro, ao baixo desempenho deste insumo em campos de cultivo, tem possibilitado a diversos pesquisadores fazerem desta constatação, objeto de estudo (Pizzinatto, 1988; Sobreira, 1988; Tanaka, 1990 e Oliveira, 1994). Mais que mera discussão acadêmica, a associação de patógenos com sementes é tema importante, com reflexos sobre o cotidiano da sociedade como um todo,

inclusive influenciando a qualidade de vida em alguns casos. Mesmo com todos os obstáculos é preciso reconhecer que as Instituições de Pesquisa têm tentado fazer o seu papel, que é o de encontrar explicações plausíveis para os fenômenos naturais, buscando alcançar soluções possíveis, ainda em nosso tempo.

Os métodos de detecção de *C. gossypii* em sementes de algodoeiro são, em sua maioria, de natureza qualitativa, ou seja, não consideram quanto há do patógeno associado à semente, nem mesmo se o inóculo presente é capaz de desencadear processo infeccioso na progênie. Este trabalho (Capítulo 3) mostrou ser preciso considerar também que o potencial infeccioso do patógeno *C. gossypii* é extremamente influenciado pela sua posição em relação às estruturas da semente. As estruturas do patógeno podem estar externamente aderidas, nas camadas internas do tegumento, ou ainda, infectando o embrião. Portanto, a utilização do pré-tratamento das sementes com hipoclorito de sódio, precedendo a montagem de testes de sanidade, não só reduz a incidência de fungos oportunistas, como também o percentual de ocorrência de *C. gossypii*, revelando esses resultados o índice de associação desses organismos com estruturas mais internas da semente (Capítulos 3 e 4). Sabe-se que a probabilidade de transmissão de patógenos às plantas emergentes é maior na medida em que o inóculo dos mesmos estejam alojados nas partes mais internas das sementes (Machado, 1988).

No presente trabalho (Capítulo 4), sob condições de ambiente predisponentes, tal como umidade constante no solo, baixas temperaturas (23°C), por ocasião da germinação e maior profundidade de semeadura (5,0 cm), pôde-se observar que houve um atraso na germinação, aumentando o tempo de exposição das sementes ao fungo *C. gossypii*. Consequentemente, observou-se uma maior taxa de infecção pelo patógeno nas plântulas originadas. A taxa de transmissão no sentido semente-plântula mostrou-se variável e bastante influenciada por fatores

como temperatura, nível de infecção e potencial de inóculo de *C. gossypii* presente nas sementes, o que faz com que este aspecto não deva ser generalizado.

O tratamento das sementes de algodoeiro com fungicidas químicos protetores como thiram, ou sistêmicos como benomil é prática amplamente recomendada (Organização Andrei, 1990) e de eficácia já comprovada. Com base nos resultados obtidos neste trabalho (Capítulo 5) observou-se que a utilização desses produtos possibilitou a proteção da cultura em sua fase inicial de desenvolvimento mesmo na presença de *C. gossypii*, aumentando o percentual de germinação (substrato papel) e o número de plântulas viáveis (plantio em solo). Através do tratamento químico a taxa de transmissão de *C. gossypii* foi extremamente reduzida.

É importante ressaltar que nenhum dos produtos testados, químicos ou biológico, conseguiu eliminar totalmente o inóculo de *C. gossypii* presente nas sementes (Capítulo 5).

O fungo *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx utilizado no estudo envolvendo o tratamento de sementes de algodoeiro, formulado em pó seco (Capítulo 5), demonstrou características antagônicas bastante promissoras pelos resultados dos testes de germinação (substrato papel) e sanidade ("Blotter test"). Tais resultados ainda que incipientes, confirmaram a atuação do fungo *P. aurantiogriseum* como agente de controle biológico de *C. gossypii*, quando incorporado a sementes de algodoeiro. É preciso, entretanto, que mais estudos sejam conduzidos posto que a recomendação de qualquer produto para uso comercial deve estar alicerçada em uma série de informações que envolvem não só o aspecto de eficácia agrônômica, como também aspectos toxicológicos e o impacto da utilização dos mesmos em um determinado ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, K.F. **Seed Pathology**. New York: Academic Press, 1972. 368p.
- MACHADO, J.C. **Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/FAEPE/ESAL, 1988. 107p.
- NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2.ed. London: McMillan Press, 1979. 1190p.
- NOBLE, M. **Seed Pathology**. *Nature*, London, n. 168, p.534-537, 1951.
- OLIVEIRA, E. **Aspectos patológicos de *Botryodiplodia theobromae* Pat. em relação a sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. Lavras: ESAL, 1994. 127p. (Tese-Doutorado em Fitotecnia).
- ORGANIZAÇÃO ANDREI. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 3ed. rev. atual. São Paulo, 1990. 478p.
- PIZZINATTO, M.A. **Relação entre densidade e qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. *Latifolium* Hutch) e patogenicidade de *Fusarium* spp. Link ex-Fr.** Piracicaba: ESALQ, 1988. 122p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).
- SOBREIRA, D.G. **Qualidade fisiológica e detecção de fungos em alguns lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidas no Estado de Minas Gerais**. Lavras: ESAL, 1988. 70p. (Tese-Mestrado em Fitossanidade).
- TANAKA, M.A.S. **Patogenicidade e transmissão por sementes do agente causal da ramulose do algodoeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 111p. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).