

PATOGENICIDADE E TRANSMISSÃO POR SEMENTES DO AGENTE
CAUSAL DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO

MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. José Otavio Machado Menten

Tese apresentada a Escola
Superior de Agricultura "Luiz
de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para obtenção do
título de Doutor em Agronomia,
Área de Concentração:
Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro - 1990

PATOGENICIDADE E TRANSMISSÃO POR SEMENTES DO AGENTE
CAUSAL DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO

MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA

Aprovada em: 08/03/1990

Comissão julgadora:

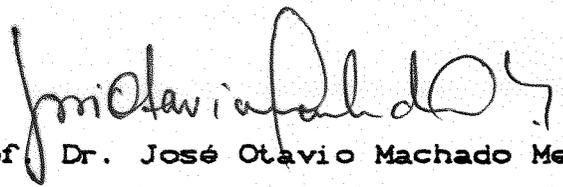
Prof. Dr. Júlio Marcos Filho

Prof. Dr. Hiroshi Kimati

Prof. Dr. José Otávio Machado Menten

IAC/Campinas

Prof. Dr. José da Cruz Machado



Prof. Dr. José Otávio Machado Menten
Orientador

Ao meu esposo

Roberto

e aos meus filhos

Eduardo, Marcelo e Regis.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pela oportunidade concedida para a realização do curso de Pós-Graduação.
- Ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", por possibilitar a participação no curso de Pós-Graduação e a realização deste trabalho.
- Ao Prof.Dr. José Otavio Machado Menten pela orientação, sugestões e incentivo.
- Ao Prof.Dr. Hiroshi Kimati, expresso, além do agradecimento pelo estímulo, apoio e amizade, minha estima e admiração.
- Ao Prof.Dr. Clélio Lima Salgado, pela amizade e colaboração durante o curso de Pós-Graduação.
- Ao Instituto Agronômico de Campinas, pelas facilidades concedidas a partir do momento em que passei a integrar o seu corpo técnico, como também pelo fornecimento de sementes (Seção de Algodão) e de isolados (Seção de Microbiologia Fitotécnica).
- À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

- Aos Pesquisadores Científicos Sérgio Almeida de Moraes e Maria Angélica Pizzinatto pela revisão dos originais e valiosas sugestões.
- Aos Pesquisadores Científicos Toshio Igue e Roberto Tetsuo Tanaka pela colaboração na realização das análises estatísticas.
- À Pesquisadora Científica Ângela Maria Cangiani Furlani pela colaboração na confecção do "Summary".
- A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xiv
SUMMARY	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Ocorrência e sintomatologia da ramulose ...	4
2.2. Importância econômica da ramulose	6
2.3. Associação de <i>C. gossypii</i> e <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> com as sementes de algodoeiro	8
2.4. Aspectos da resistência do algodoeiro à <i>Colletotrichum gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	17
2.5. Resistência relacionada à transmissão de patógenos por sementes	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Isolamento e preparo das suspensões de co- nídios	25
3.2. Crescimento micelial e esporulação <i>in vitro</i> de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C.</i> <i>gossypii</i>	28
3.2.1. Crescimento micelial	28
3.2.2. Esporulação	29

3.3. Patogenicidade de seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em plantas de nove genótipos de algodoeiro	30
3.4. Transmissão de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento	32
3.4.1. Análise de sanidade das sementes ...	34
3.4.2. Transmissão do patógeno semente-plântula	35
3.5. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C. gossypii</i>	37
3.5.1. Métodos utilizados	37
3.5.1.1. Método 1 - Contacto das sementes com colônias dos fungos durante 24 horas e secagem por 24 horas	37
3.5.1.2. Método 2 - Imersão das sementes em suspensão de conídios durante 30 minutos e secagem por duas horas	38
3.5.1.3. Método 3 - Imersão das sementes em suspensão de conídios durante 2 horas e secagem por 16 horas	39
3.5.2. Análise de sanidade das sementes ...	39
3.5.3. Emergência em casa de vegetação	40
3.6. Patogenicidade de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C. gossypii</i> a cinco genótipos de algodoeiro, através de inoculação de sementes	41

3.6.1. Análise de sanidade das sementes ...	42
3.6.2. Emergência em casa de vegetação	42
4. RESULTADOS	44
4.1. Crescimento micelial e esporulação <i>in vitro</i> de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C.</i> <i>gossypii</i>	44
4.1.1. Crescimento micelial	44
4.1.2. Esporulação	46
4.2. Patogenicidade de seis isolados de <i>C.</i> <i>gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em plantas de nove genótipos de algodoeiro	50
4.3. Transmissão de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento	53
4.3.1. Análise de sanidade das sementes ...	56
4.3.2. Transmissão do patógeno semente- plântula	58
4.4. Comparação de métodos de inoculação de se- mentes com <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C. gossypii</i>	62
4.4.1. Análise de sanidade das sementes ...	62
4.4.2. Emergência em casa de vegetação	72
4.5. Patogenicidade de <i>C. gossypii</i> e <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> a cinco genótipos de algodoeiro, através da inoculação de semen- tes	78
4.5.1. Análise de sanidade das sementes ...	78
4.5.2. Emergência em casa de vegetação	80

5. DISCUSSÃO	83
5.1. Crescimento micelial e esporulação <i>in vitro</i> de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C. gossypii</i>	83
5.2. Patogenicidade de seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em plantas de nove genótipos de algodoeiro	85
5.3. Transmissão de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento	88
5.4. Comparação de métodos de inoculação de sementes com <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> e <i>C. gossypii</i>	93
5.5. Patogenicidade de <i>C. gossypii</i> e <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> a cinco genótipos de algodoeiro, através de inoculação das sementes	95
6. CONCLUSÕES	99
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
8. APÊNDICE	109

LISTA DE TABELAS

Página

1. Relação dos isolados utilizados, sua procedência e órgão da planta de onde foram obtidos	27
2. Crescimento micelial de seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em BDA	45
3. Crescimento micelial de seis isolados de <i>C. gossypii</i> em BDA	47
4. Esporulação de seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> nos meios BDA e aveia	48
5. Esporulação de seis isolados de <i>C. gossypii</i> nos meios BDA e aveia	49
6. Reações de nove genótipos de algodoeiro à inoculação com seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> , doença quantificada através do índice de doença (ID%)	52
7. Índices de doença resultantes da inoculação, de mistura de seis isolados de <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em cinco genótipos de algodoeiro, em dois estádios de desenvolvimento	55
8. Porcentagens de sementes com <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> provenientes das plantas inoculadas em dois estádios de desenvolvimento (transmissão planta-semente)	57
9. Porcentagens de redução da emergência de sementes provenientes de plantas inoculadas com <i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i> em dois estádios de desenvolvimento	59

10. Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas, provenientes das sementes de plantas inoculadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em dois estádios de desenvolvimento (Transmissão semente-plântula) 61
11. Porcentagens médias de transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro, cujas plantas-mãe foram inoculadas em dois estádios de desenvolvimento, em casa de vegetação 63
12. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, resultantes da inoculação com o método 1 - contacto com das sementes com culturas do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas 64
13. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* resultantes da inoculação com o método 2 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem por 2 horas 65
14. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* resultantes da inoculação com o método 3 - imersão das sementes na suspensão de esporos durante 2 horas seguida de secagem por 16 horas 66
15. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, inoculadas com 3 diferentes métodos, com ou sem assepsia superficial 68
16. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 1 - contacto das sementes com culturas do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas 69

17. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 2 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem duas horas 70
18. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 3 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante duas horas seguida de secagem 16 horas 71
19. Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, inoculadas com 3 diferentes métodos, com ou sem assepsia superficial 73
20. Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e redução da porcentagem de emergência em casa de vegetação, resultantes da inoculação das sementes do cultivar CNPA-2H, com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, utilizando 3 diferentes métodos 74
21. Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e redução da porcentagem de emergência em casa de vegetação, resultantes da inoculação das sementes do cultivar CNPA-2H, com *C. gossypii*, utilizando 3 diferentes métodos 76
22. Porcentagens de sementes mortas, radículas apodrecidas e incidência total de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii* em cinco genótipos de algodoeiro, resultantes da inoculação das sementes pelo método 3 79

23. Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e de redução da porcentagem de emergência em casa de vegetação, resultantes da inoculação das sementes de cinco genótipos de algodoeiro com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*, utilizando o método 3 82

PATOGENICIDADE E TRANSMISSÃO POR SEMENTES DO AGENTE CAUSAL DA RAMULOSE DO ALGODOEIRO

Autora : MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA

Orientador : Dr. JOSÉ OTAVIO MACHADO MENTEN

RESUMO

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e na casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo.

Foram conduzidos experimentos objetivando elucidar alguns aspectos relacionados com a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de algodoeiro e comparar os danos em sementes e plântulas com aqueles provocados por *C. gossypii*.

A patogenicidade dos isolados de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foi correlacionada com a sua esporulação, porém não com o seu crescimento linear, em meio de cultura.

Verificou-se a existência de variabilidade genética entre os isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, avaliada pela reação dos diferentes genótipos testados. Evidenciou-se a ocorrência de raças

virulentas do patógeno e resistência vertical incompleta do hospedeiro, caracterizadas pela impossibilidade de ordenamento dos isolados em relação aos genótipos e destes em relação aos isolados, aliada à presença de interação diferencial significativa entre eles.

Em experimentos sobre a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pela semente de cinco genótipos de algodoeiro, inoculados em dois estádios de desenvolvimento, verificou-se que, embora a inoculação aos trinta dias após a semeadura tenha resultado em maior severidade da doença, a incidência do patógeno nas sementes foi maior quando a inoculação foi efetuada em plantas com maçãs formadas. Estas sementes apresentaram maiores porcentagens de redução da emergência e de plântulas com sintomas. Verificou-se que *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foi transmitido pelas sementes dos diferentes genótipos em taxas que variaram, em média, de 49 a 70%, respectivamente para os genótipos EPAMIG-3 e Nu-15-79/117. Nem sempre a resistência do genótipo na fase adulta foi correlacionada com a incidência do patógeno na semente e a resistência no estágio de plântula.

Foram comparados os danos em plântulas provocados por *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, através da inoculação das sementes por três diferentes métodos. Verificou-se que o efeito dos

dois patógenos sobre os parâmetros avaliados variou em função do isolado utilizado. A eficiência dos métodos testados na obtenção de sementes infectadas, variou de acordo com a técnica empregada. O método do contacto das sementes com colônias do fungo durante 24 horas, seguidas de secagem por 24 horas, foi considerado o mais eficiente.

PATHOGENICITY AND SEED TRANSMISSION OF THE CAUSAL AGENT OF
COTTON "RAMULOSE"

Author: MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA

Adviser: Prof. Dr. JOSÉ OTAVIO MACHADO MENTEN

SUMMARY

The present investigation was carried out at the laboratories and greenhouse of the Department of Plant Pathology of Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", University of São Paulo, Brazil.

Experiments were conducted with the objective of explaining some aspects concerned to seed transmission of *C. gossypii* var. *cephalosporioides* and to compare the damage caused by this pathogen to that caused by *C. gossypii*.

The results showed that the pathogenicity of *C. gossypii* and *C. gossypii* var. *cephalosporioides* isolates was correlated with their sporulation, but not with their linear growth.

Tests of pathogenicity demonstrated the existence of genetic variability among the *C. gossypii* var. *cephalosporioides* isolates when inoculated in different cotton genotypes. On the other hand, the

genotypes varied in their reactions to the isolates.

There was evidence of occurrence of virulent races of the pathogens and vertical incomplete resistance of the hosts, characterized by the impossibility of ranking the isolates in relation to the genotypes and vice versa, and by a statistically significant differential interaction among them.

Experiments on seed transmission, with five cotton genotypes inoculated with *C. gossypii* var. *cephalosporioides* at two growth stages, showed that the incidence of the pathogen was higher on seeds from plants inoculated at the boll stage. Nevertheless, the highest disease severity resulted when inoculation was done thirty days after sown.

C. gossypii var. *cephalosporioides* was transmitted by seeds of the different genotypes in rates that ranged from 49% (for the most resistant EPAMIG-3 genotype) to 70% (most susceptible, Nu-15-79/117). Also adult plant resistance was neither correlated with the pathogen incidence on the seeds nor with seedling resistance.

Seed inoculation with *C. gossypii* and *C. gossypii* var. *cephalosporioides* by three different methods, was used to compare seedling damage, which severity varied as a function of the isolate. Seed infection efficiency

was also tested by the three methods and varied with the technique applied. The method that consisted of the seed contact with the fungi colonies during 24 hours followed by 24 hours air drying, was considered the most efficient.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. *latifolium* Hutch) ocupa lugar de destaque no Brasil, não só por produzir a mais importante fibra têxtil natural, mas também pelos diversos tipos de aplicação de seus sub produtos.

Vários fatores podem interferir na produtividade do algodoeiro e, dentre eles, são citadas inúmeras doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, que são responsáveis anualmente por enormes perdas (KIMATI, 1980; WATKINS, 1981).

Dentre as doenças de origem fúngica, a ramulose tem sido considerada uma das principais, causando em certos anos prejuízos da ordem de 20 a 30%, podendo ascender a 85% em casos extremos (CIA, 1977; KIMATI, 1980).

A doença, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* A.S. Costa e constatada pela primeira vez no Estado de São Paulo, no ano agrícola de 1935-36 (COSTA & FRAGA JUNIOR, 1939), tem ocorrido com severidade, principalmente nos Estados do Nordeste e Minas Gerais, notadamente no Triângulo Mineiro.

Nesta última região, embora de ocorrência esporádica, quando as condições climáticas são favoráveis à sua manifestação, os prejuízos são bastante acentuados (LIMA, 1981; TANAKA, 1982).

A possibilidade de transmissão pelas sementes, demonstrada por COSTA (1939), LIMA (1981) e LIMA et alii (1985), dentre outros, faz com que a distribuição das sementes produzidas em campos onde foi constatada a doença se constitua num risco de disseminação do patógeno. Essa disseminação pode aumentar o inóculo e, conseqüentemente, a incidência da ramulose em locais onde ela já ocorre ou, o que é mais grave, levar o patógeno para áreas ainda isentas.

Em conseqüência disso, a escolha e adoção de medidas de controle terão maior probabilidade de êxito se baseadas no conhecimento dos vários aspectos relacionados com a transmissão pelas sementes, considerando também a variabilidade genética do fungo quanto à patogenicidade.

A grande semelhança morfológica, assim como os sintomas de tombamento produzidos por *Colletotrichum gossypii* South., agente causal da antracnose, e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, não têm permitido a identificação precisa desses patógenos quando incidem em sementes ou plântulas de algodoeiro (COSTA, 1939). Somente a inoculação das sementes pelo patógeno identificado pode garantir a associação da sintomatologia apresen-

tada com o verdadeiro agente causal.

Assim, os objetivos do presente trabalho foram :

- Avaliar o crescimento micelial, a esporulação *in vitro* e a patogenicidade de difentes isolados de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

- Avaliar a reação de diversos genótipos de algodoeiro à inoculação de vários isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

- Estudar a transmissão planta-semente e semente-plântula de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro.

- Comparar três métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* quanto à eficiência na obtenção de sementes infectadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ocorrência e sintomologia da ramulose.

A ramulose ou superbrotamento foi observada pela primeira vez no Brasil no município de Rancharia, Estado de São Paulo, em 1935 (COSTA & FRAGA JUNIOR, 1937). Esses autores mencionaram que a doença já havia sido constatada na "Cotton Research Station", em Trinidad e Tobago, no ano de 1927.

Inicialmente, a ramulose foi considerada como sendo causada por vírus, devido à sintomatologia (COSTA & FRAGA JUNIOR, 1937). Mais tarde, COSTA & FRAGA JUNIOR (1939) identificaram o fungo *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* como o agente causal da ramulose.

No Brasil, a doença já foi relatada também nos estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Pará (ABRAHÃO & COSTA, 1949), Bahia (CIA, 1977), Goiás (CARVALHO, 1971 ; CIA et alii, 1982b), Ceará (ARAÚJO et alii, 1978), Minas Gerais (LIMA, 1981; TANAKA, 1982), Mato Grosso do Sul e Paraná (CIA et alii, 1982b).

MALAGUTTI (1955) constatou a sua ocorrência na Venezuela, denominando-a de "escobilla". No Paraguai foi constatada por MATHIESON & MANGANO (1985), incidindo sobre o cultivar de algodoeiro Reba P279. LIMA et alii (1984) mencionaram a sua ocorrência também na Bolívia.

Os principais sintomas observados numa planta com ramulose são : ramificação excessiva, altura sempre abaixo da normal, internódios curtos, contorcidos, nós intumescidos, ramos com manchas pardacentas de forma alongada, folhas com lesões necróticas alongadas, arredondadas ou angulares, às vezes na nervura. Os tecidos mortos e secos das lesões foliares podem se desprender, deixando perfurações de forma estrelada (ABRAHÃO, 1961; ABRAHÃO & COSTA, 1949; COSTA & FRAGA JÚNIOR, 1937; 1939; TÖFFANO & SILVEIRA, 1964).

A doença pode se manifestar em qualquer idade da planta, porém as perdas tendem a ser maiores se a infecção ocorrer nos estádios iniciais do seu desenvolvimento. Se a infecção ocorrer em plantas já desenvolvidas (ramulose tardia), geralmente os prejuízos são menores (ABRAHÃO, 1952; 1961; ABRAHÃO & COSTA, 1949; CIA, 1977), porque as maçãs já estarão quase todas formadas e o fungo ataca de preferência as partes mais novas (broto apical), em crescimento ativo.

2.2. Importância econômica da ramulose.

A ramulose é uma doença esporádica, que pode causar sérios problemas em determinados anos agrícolas, conforme CIA et alii (1982b) observaram em 1975/78 nos estados do Paraná, Minas Gerais e Goiás, sem muita gravidade, atualmente, no estado de São Paulo.

A doença já foi considerada uma das mais importantes do estado de São Paulo, onde ocasionou severos danos. No período de 1949 a 1952 os prejuízos causados foram elevados, girando em torno de 20 a 30 %, chegando, em alguns casos, a 85% (ABRAHÃO, 1952; ABRAHÃO & COSTA, 1949; CIA, 1977). Segundo CIA (1977), a substituição da variedade IAC-11, altamente suscetível, por outras mais resistentes ou tolerantes, tornou a ramulose de importância secundária para o estado. No entanto, a doença pode se tornar novamente severa, devendo ser considerada nos trabalhos de melhoramento (CIA, 1977; KIMATI, 1980).

Dependendo das condições climáticas e da suscetibilidade da variedade, a produção, de modo geral, pode ser fortemente diminuída ou quase nula. COSTA & FRAGA JÚNIOR (1937) e TÓFFANO & SILVEIRA (1964) consideraram que, devido à tendência da doença generalizar-se numa plantação, ela é capaz de causar prejuízos às vezes totais, tornando a cultura do algodoeiro anti-econômica. Sem receio de exagero, onde ela ocorre constitui-se no

fator que ocasiona os mais elevados prejuízos.

A ramulose, ultimamente, tem sido considerada de grande importância em alguns estados do Centro-Sul e do Nordeste do Brasil, principalmente em anos de elevada precipitação pluvial (CARVALHO et alii, 1984; 1986). Se ocorrer alta infecção durante os primeiros 30 dias de idade das plantas, estas ficam praticamente improdutivas (CARVALHO et alii, 1981b).

CARVALHO et alii (1986) ressaltaram a importância que a ramulose tem assumido no Nordeste do Brasil, onde tem ocorrido em várias localidades. A doença vem merecendo muita atenção por parte dos melhoristas, que têm procurado incorporar às variedades gens de resistência não só a outros patógenos, mas também à *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

LIMA et alii (1984; 1985) e CARVALHO et alii (1985) referiram-se à ramulose como uma das principais doenças da cultura do algodoeiro no Brasil. Embora não ocorra normalmente com grande intensidade, quando as condições climáticas são favoráveis, chega a causar grandes perdas.

As perdas se tornam particularmente importantes quando a infecção ocorre em plantas ainda novas. Neste caso, a morte do broto apical, que estimula as gemas axilares a formarem número excessivo de galhos, provoca um esgotamento das reservas em detrimento da carga

de capulhos, que pode ser nula em muitas plantas (ABRAHÃO, 1952; 1961).

ARANTES et alii (1986) relataram incidência severa de ramulose em experimentos conduzidos em Mato Grosso no ano agrícola 1985/86, sendo que as melhores plantas receberam nota 3, na escala visual de 1 a 5, crescente para severidade. Em tais circunstâncias, a doença mostrou-se limitante para a cultura, sendo questionável a conveniência de se plantar algodão com qualquer das 7 variedades estudadas (CNPA-2H, CNPA-3H, IAC-17, IAC-19, IAC-20, IAPAR-4-PR-1 e EPAMIG-3).

Em estudos realizados em dois anos agrícolas sobre a influência da ramulose nas características de fibra e produção do algodoeiro, verificou-se que a doença afetou a produtividade, peso do capulho, finura, micronaire, comprimento, uniformidade e porcentagem de fibra, além do peso de 100 sementes. As reduções de produtividade foram de 33,19% em um ano e 46,14% no outro (CARVALHO et alii, 1984).

2.3. Associação de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* com as sementes de algodoeiro.

C. gossypii var. *cephalosporioides* encontra-se associado às sementes do algodoeiro, sendo estas consideradas a principal via de disseminação do patógeno. Esta

associação pode ser tanto externa, na forma de esporos (conídios), ou interna, na forma de micélio dormente (KIMATI, 1980; LIMA et alii, 1985; 1988). A semente portadora do fungo constitui-se em inóculo primário da doença, além do solo contaminado, servindo as lesões das plântulas e plantas infectadas como fonte de inóculo secundário (KIMATI, 1980).

COSTA (1939), foi o primeiro a demonstrar a possibilidade do patógeno ser transmitido pelas sementes. Utilizando sementes inoculadas artificialmente com *C. gossypii*, agente causal da antracnose, e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, foram observadas diferenças na reação das plantas a cada um dos patógenos. Embora ambos causem tombamento, foi relatado que no caso de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* a manifestação dos sintomas é mais rápida. Posteriormente, apenas as plantas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* exibem sintomas de superbrotamento. Mais tarde, COSTA (1941) concluiu que o número de sementes que carregam o patógeno em infecção natural não é muito pequeno, sendo maior que 1% em muitas amostras colhidas de plantas doentes.

A importância da transmissão pela semente foi citada em vários trabalhos (ABRAHÃO, 1952; 1961; ABRAHÃO & COSTA, 1949; TÖFFANO & SILVEIRA, 1964; MALAGUTTI, 1955; FOLLIN & MANGANO, 1983).

Experimentos de campo foram realizados por

LIMA et alii (1985) sobre o transporte e a transmissibilidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* através da semente de algodoeiro, em relação ao estágio de desenvolvimento da planta na ocasião da infecção. As plantas foram inoculadas em quatro épocas distintas: aos 35 dias após o plantio, quando a maioria das plantas emitiu botões florais, estava com as flores abertas e com as maçãs completamente desenvolvidas. Os resultados mostraram que : a) houve uma relação entre a porcentagem média de sementes portadoras do patógeno e o estágio desenvolvimento da planta inoculada; b) quando a infecção ocorreu nas plantas com maçãs desenvolvidas, o número de sementes e de amêndoas com o patógeno foi significativamente maior do que quando a infecção ocorreu nos demais estádios de desenvolvimento da cultura; c) não houve correlação entre o grau de severidade da doença e a porcentagem de sementes portadoras do patógeno. Constatou-se ainda que o fungo foi encontrado também no interior da amêndoa, em porcentagens que variaram de 0,4 a 2,0%. Esses resultados foram considerados como consequência da penetração do patógeno através da maçã, atingindo desse modo a semente. Essa suposição foi baseada no fato de se ter isolado o patógeno de pequenas lesões encontradas na superfície das maçãs.

PIZZINATTO et alii (1988) realizaram estudo sobre a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* utilizando sementes de 4 cultivares inoculados em

condições de campo. O experimento foi instalado com 3 tipos de sementes : infectadas e deslindadas com ácido sulfúrico, infectadas e deslindadas mecanicamente e sementes procedentes de campos isentos de ramulose. A taxa de transmissão verificada variou de 0,56 a 3,35, sendo maior para o genótipo mais suscetível, a linhagem Nu-15-79/117. Foram atribuídas notas de 1 a 5 a todas as plantas da parcela, em duas avaliações realizadas aos 100 e 120 dias após a emergência. A porcentagem de plantas com sintomas na segunda avaliação foi maior do que na primeira, para os 4 genótipos, o que demonstra ter havido disseminação eficiente do fungo, mesmo para o genótipo mais resistente, EPAMIG-3, a partir do inóculo inicial transportado pelas sementes.

LIMA et alii (1988) demonstraram que *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pode sobreviver na semente de algodoeiro com linter, com grau de umidade em torno de 12 a 13%, armazenadas em condições ambientes, com uma variação de temperatura de 16,6 a 33,0°C, até aos 12 meses de armazenamento. Aos 14 meses nestas condições o patógeno já não se encontra viável na semente. Os autores consideraram que, possivelmente, em temperaturas mais baixas o patógeno consiga sobreviver por um período mais longo, o que está de acordo com os resultados de ARNDT (1946 ; 1950) com *C. gossypii*. ARNDT (1946) observou a sobrevivência do fungo em sementes com grau de umidade de

8, 10, 12, 14 e 16%, armazenadas por 5 anos e meio.

Em sementes de algodoeiro armazenadas com grau de umidade de 14%, *C. gossypii* sofre uma redução drástica na sua viabilidade, após 12 meses de armazenamento (ARDNT, 1946). Resultados semelhantes foram obtidos por LUDWIG (1924) e LIMA et alii (1988), que observaram a maior redução na porcentagem de sementes portadoras de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, respectivamente, aos 12 meses de armazenamento em condições ambientes de laboratório. LIMA et alii (1988) relataram ainda que, aos 14 meses de armazenamento, a porcentagem de germinação das sementes estava em torno de 31,5%, e que, portanto, a viabilidade do patógeno foi menor do que a da semente.

Nos resultados de testes de sanidade de sementes de algodoeiro apenas se relata a presença de *C. gossypii*, e não *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, embora ambos possam estar ocorrendo. A grande semelhança morfológica entre os dois fungos não tem permitido distinguí-los.

Tanto *C. gossypii* como *C. gossypii* var. *cephalosporioides* são considerados dentre os mais importantes economicamente em estudos de patologia de sementes de algodoeiro (PIZZINATTO, 1987). Ambos podem causar sérios problemas na germinação, como falhas no "stand", necessidade de replantio, que leva por sua vez a

despesas com mão-de-obra, maquinaria, etc., além de se perder a época recomendada para o plantio. No entanto, a ramulose reveste-se de importância maior, devido às perdas que ocasiona à produção. Por esta razão, e pelo fato das sementes se constituírem no principal veículo de disseminação do patógeno, é necessário que se dedique especial atenção à ramulose.

Na realização de estudos envolvendo a ramulose, muitas vezes torna-se necessário lançar mão da inoculação de sementes, o que garante a certeza de se estar trabalhando com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e não *C. gossypii*.

Vários métodos têm sido utilizados para inoculação de sementes com esses dois patógenos.

COSTA (1939), utilizando sementes deslindadas com ácido sulfúrico, inoculou-as pelo contacto com colônias de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, crescidos em meio de agar em tubos de ensaio. As sementes foram introduzidas nos tubos, sendo estes agitados várias vezes para que as mesmas tocassem nas colônias, o que facilitou a adesão dos esporos. Logo após a infestação, as sementes foram semeadas em vasos de barro. Por esse método o autor obteve sucesso, conseguindo sintomas de tombamento e transmissão do fungo para as plântulas sobreviventes.

Estudando o efeito do potencial de inóculo de *C. gossypii* sobre o tombamento de mudinhas de

algodoeiro, BALMER et alii (1966) inocularam as sementes, deslindadas com ácido sulfúrico, colocando-as em suspensão de conídios, em agitação, durante 30 minutos. As sementes inoculadas foram semeadas em vasos de barro e os autores obtiveram sintomas de tombamento em plântulas. Foi observado ainda, que existem diferenças em patogenicidade entre os isolados testados, evidenciadas quando foram utilizadas as concentrações mais baixas de inóculo. Essas diferenças entre isolados tendem a diminuir nas concentrações mais elevadas, o que deve ser considerado em trabalhos que utilizem tal técnica.

HALFON-MEIRI & VOLCANI (1977) também utilizaram a técnica de imersão das sementes em suspensão de esporos de *C. gossypii*. Os melhores resultados foram obtidos pela imersão de 100 sementes em 100 ml de suspensão de 2×10^5 esporos/ml, durante 3 horas, à temperatura de 20-25°C. Nestas condições, cerca de 80% das sementes inoculadas deram origem a plântulas com sintomas típicos da doença, quando semeadas em areia estéril.

Em experimento sobre a variabilidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e avaliação da resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose, LIMA (1981) utilizou, para inocular sementes, uma suspensão de esporos na concentração de 10^4 conídios/ml. Em cada erlenmeyer contendo a suspensão de esporos foram colocadas 32 sementes deslindadas com ácido sulfúrico e em seguida

agitadas durante 5 minutos. As sementes inoculadas foram semeadas em sacos plásticos contendo solo esterilizado com brometo de metila, em casa de vegetação. A avaliação do grau de infecção foi efetuada 15 dias após a semeadura, por meio de uma escala de notas constituída dos graus 0 (zero), 0,5 e 1,0, crescente conforme a severidade dos sintomas.

Para estudar o efeito de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em plântulas, FOLLIN & MANGANO (1983) inocularam sementes de algodoeiro pela imersão das mesmas durante duas horas em uma suspensão de 10^7 esporos/ml de cada um dos dois patógenos. Antes da semeadura em vermiculita embebida em solução mineral nutritiva as sementes foram postas a secar durante 12 horas. As plântulas mortas foram contadas aos 6, 8 e 10 dias após a semeadura. No décimo dia as plântulas sobreviventes foram arrancadas e avaliadas. O experimento foi realizado a 25°C, 80% de umidade relativa e alternância dia-noite de 12/12 horas. Os autores observaram que a mortalidade se iniciou depois da germinação e foi mais rápida e mais severa em *C. gossypii*, que foi, portanto, considerado mais agressivo. Esses resultados contrariam aqueles observados por COSTA (1939), que relatou ter verificado uma manifestação de sintomas mais rápida para *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Possivelmente esses resultados possam ser devidos às diferenças entre os isolados utilizados

pelos autores, constituição genética dos cultivares e condições ambientes. FOLLIN & MANGANO (1983) observaram ainda que a inoculação com *C. gossypii* originou menor número de plântulas sobreviventes (2,6%), enquanto que para *C. gossypii* var. *cephalosporioides* esse número foi de 34,1%, encontrando-se muitas plântulas aparentemente saudas. Das plântulas sobreviventes à inoculação com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, 88,5% apresentaram necrose no colo, mas só 42,4% com severidade. Por outro lado, naquelas sobreviventes à inoculação com *C. gossypii* foi observada forte necrose no colo, que provavelmente as levaria à morte.

C. gossypii var. *cephalosporioides* foi inoculado com êxito em sementes de algodoeiro do cultivar CNPA-2H, com linter ou deslinteradas com ácido sulfúrico, mediante o contato das mesmas com colônias do fungo desenvolvidas durante 8 dias em meio de BDA, em placas de Petri (TANAKA et alii, 1987). Foram testados diferentes períodos de permanência das sementes em contato com o inóculo, ou seja, 0 (zero), 12, 24, 36 e 48 horas. A avaliação foi feita através de um teste de sanidade pelo método do papel de filtro com as sementes submetidas ou não à assepsia superficial com hipoclorito de sódio. Observou-se, de modo geral, um aumento gradativo do efeito do patógeno sobre as sementes, à medida em que se aumentou o tempo de exposição ao inóculo. Paralelamente observou-se

um menor efeito da assepsia superficial em função do aumento do tempo de exposição, indicando que o contato das sementes com o inóculo, a partir de 12 horas, resultou em infecção, com a penetração do fungo no interior da semente. Comparando as sementes com linter às deslinteradas, verificou-se que nas primeiras o linter deve ter dificultado a penetração, uma vez que a assepsia teve maior efeito sobre essas sementes.

2.4. Aspectos da resistência do algodoeiro à *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

Assim como para muitas outras doenças, pode-se considerar o uso de cultivares resistentes ou tolerantes ao patógeno como o meio mais eficiente e econômico de controlar a ramulose (CIA, 1977; CARVALHO et alii, 1988; LIMA et alii, 1984; 1986).

COSTA (1941) relatou os primeiros trabalhos relacionados com a resistência à ramulose, observando que a maioria dos cultivares testados comportaram-se como suscetíveis ao patógeno.

CIA (1977) comenta que em *G. hirsutum* foi observada variação quanto ao ataque de ramulose, o que mostra a viabilidade de se fazerem seleções para resistência.

Em consequência da ramulose vir atingindo

níveis quase epidêmicos em algumas regiões produtoras do Brasil. Intensificou-se recentemente o número de trabalhos de melhoramento buscando fontes de resistência ao patógeno, como uma maneira de controlar a doença (LIMA et alii, 1984).

CIA et alii (1982a) consideraram de grande importância a inclusão da ramulose nos ensaios visando obtenção de linhagens resistentes às principais doenças do algodoeiro no estado de São Paulo. Os materiais genéticos em fase adiantada de melhoramento são testados anualmente para resistência, além da ramulose, à murcha de *Fusarium*, mancha angular, murcha de *Verticillium* e nematóides. As médias dos resultados obtidos apresentaram, em destaque, os materiais IAC-17, IAC-17-727 e Minas Dona Beja como os mais resistentes, sendo que IAC-18 e IAC-19 comportaram-se como tendo resistência intermediária.

CARVALHO et alii (1981a) e LIMA et alii (1984), em trabalhos realizados no CNP-Algodão em Campina Grande, PB, relataram que o cultivar IAC-17, devido ao seu comportamento em campo, pode servir como testemunha resistente, em trabalhos de melhoramento visando resistência à ramulose.

Tendo em vista a importância da doença, CIA et alii (1982b) iniciaram, no ano agrícola 1981/82, estudo com inoculação artificial do patógeno, no qual testaram 18 materiais genéticos. Embora a incidência da doença tenha

sido relativamente fraca, os dados mostraram que os materiais originados do cultivar IAC-17 foram relativamente melhores que a linhagem Nu-15-79/117, a testemunha suscetível.

Trabalhos realizados com genótipos de algodoeiro, do Banco de Germoplasma do Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (CNPA/EMBRAPA), permitiram observar que houve acentuada variação no nível de resistência ao patógeno. Esses trabalhos foram realizados com inoculações artificiais das plantas em casa de vegetação, durante os anos de 1981 e 1982. Dentre os materiais testados nos dois ensaios, a linhagem HR 21 T 16 foi a que apresentou maior nível de resistência. Essa linhagem é resultante do cruzamento entre os cultivares 542 e Texas 16 (LIMA et alii, 1984).

LIMA et alii (1986) observaram que os níveis de resistência à ramulose, apresentados por linhagens obtidas dos cultivares CNPA-2H e BR-1 e das linhagens SU-0450-8909 e CNPA-81-200, foram significativamente maiores do que aqueles apresentados pelas populações originais. No final do terceiro ciclo de seleção, o ganho genético em resistência variou de 21 a 61%, sendo os maiores níveis apresentados pelas duas linhagens originadas do cultivar BR-1.

Estudando a patogenicidade de dez isolados *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em relação a três

cultivares e sete linhagens de algodoeiro, LIMA (1981) observou existir variabilidade entre os isolados testados. Esses resultados levaram o autor a concluir que é provável a existência de raças do patógeno. No mesmo experimento foi observado não haver relação entre patogenicidade e os grupos de isolados, classificados quanto ao tipo e cor do micélio aéreo, forma da colônia e esporulação. Apenas para duas culturas, pertencentes a dois grupos diferentes, foi observado que uma delas, de intensa esporulação, estava associada ao alto índice de tombamento. A outra, de baixa esporulação, estava relacionada com baixo índice de tombamento e superbrotamento. Observou-se correlação positiva entre a taxa de crescimento em meio de BDA e a patogenicidade dos isolados. Foi avaliada ainda, em casa de vegetação, a resistência de quatro linhagens de algodoeiro aos dez isolados do patógeno, observando-se diferenças no seu comportamento quanto à manifestação de sintomas de ramulose. Três dessas linhagens comportaram-se como resistentes e uma, como suscetível. Os resultados deste trabalho permitiram também concluir que provavelmente uma planta resistente ao superbrotamento não é necessariamente resistente ao tombamento e vice-versa. A seleção de plantas visando resistência à ramulose em casa de vegetação, com o emprego de técnicas padronizadas de inoculação, foi considerada pelo autor como mais adequada do que a seleção em condições de campo.

CARVALHO et alii (1985) investigaram, em 21 genótipos de *G. hirsutum* var. *latifolium*, com diferentes graus de pubescência da folha, a influência da pilosidade na expressão de sintomas de ramulose. Verificaram que o nível de resistência estava relacionado com o grau de pilosidade, sendo que os genótipos pilosos foram os mais suscetíveis e os de baixa pilosidade, os mais resistentes.

CARVALHO et alii (1988) evidenciaram que a resistência à ramulose é controlada por um par de genes, sendo a suscetibilidade parcialmente dominante, com grau de dominância 0,95 e herdabilidade 0,51. No mesmo trabalho os autores determinaram uma correlação genética de 0,55 entre pilosidade e suscetibilidade à ramulose, isto é, as plantas glabras, via de regra, são resistentes e as pilosas suscetíveis. Portanto, a seleção de plantas para resistência à ramulose poderá ser feita, também, pela menor pilosidade na superfície da folha.

2.5. Resistência relacionada à transmissão de patógenos por sementes.

A ampla variabilidade genética existente quanto à resistência das plantas aos patógenos, presumivelmente deve se estender ao nível de transmissão destes pelas sementes.

Alguns trabalhos realizados com algodoeiro

e outras culturas, no entanto, evidenciaram que nem sempre existe essa correspondência.

Sob esse aspecto, DHINGRA & KUSHALAPPA (1980), trabalhando com a mancha angular do feijoeiro, verificaram que não houve correlação entre a intensidade da doença no campo e a incidência de *Isariopsis griseola* nas sementes. Somente 1,85% das sementes originadas de vagens doentes transportavam o patógeno, correspondendo àquelas que estavam localizadas diretamente em contacto com lesões na sutura da vagem. Em todas essas sementes, o fungo se desenvolveu no local correspondente ao hilo.

Estudos realizados por LASCA et alii (1980), sobre a relação entre ocorrência de antracnose em cultura de feijão e a incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes, mostraram não ter havido correspondência entre a quantidade de doença nas plantas e quantidade do patógeno nas sementes por elas produzidas.

DHINGRA et alii (1986) realizaram experimentos com feijoeiro em duas localidades do estado de Minas Gerais, nas estações chuvosas e não chuvosas, para determinar a relação entre incidência de antracnose no campo e a produção de sementes transmissoras de *C. lindemuthianum*. Os resultados mostraram que, embora a porcentagem de sementes que transmitem o patógeno dependa da incidência na parte aérea (folhas e vagens), este parâmetro não é um indicador da proporção de sementes produzi-

das portadoras do fungo. Os autores comentaram que pelo menos a proporção de vagens doentes poderia estar relacionada com a porcentagem de sementes com o patógeno, mas os dados demonstraram o contrário. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por GOMES (1979), que embora tenha observado alta proporção de vagens doentes, verificou baixa incidência nas sementes, não tendo sido observada correlação entre a proporção de vagens com sintomas e a porcentagem de sementes que transportaram *C. lindemuthianum*.

Em estudos realizados com gergelim (*Sesamum indicum*), KUROZAWA et alii (1985) analisaram o comportamento de 13 cultivares quanto à incidência de *Cercospora sesami* em condições de campo e sua presença na semente. Dois dos cultivares utilizados comportaram-se como resistentes e apresentaram baixa incidência do fungo nas sementes. Os demais, comportaram-se como suscetíveis, apresentando alta incidência do patógeno nas sementes. A análise entre o comportamento dos cultivares quanto à doença e a incidência do fungo nas sementes mostrou uma correlação positiva. Este fato demonstra a importância de se utilizar cultivares mais resistentes, pois além de haver menores danos em campo, as sementes, em consequência, estarão carregando menor quantidade de inóculo.

Trabalhando com ramulose do algodoeiro,

PIZZINATTO & CIA (1987) estudaram a relação entre a incidência de ramulose em plantas inoculadas no campo e a presença do patógeno nas sementes produzidas. Foram analisadas sementes de 11 cultivares, com diferentes níveis de resistência, utilizando-se o método do papel de filtro, com sementes deslintadas e com linter. A porcentagem de detecção de *Colletotrichum* foi sempre maior nas sementes deslintadas do que naquelas com linter. Verificou-se que nem sempre houve uma relação entre a infecção no campo e a presença do patógeno nas sementes.

PIZZINATTO et alii (1988) realizaram estudos sobre a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodoeiro e sua disseminação em campo, utilizando os cultivares EPAMIG-3 (testemunha resistente), IAC-12-2, IAC-19 e a linhagem Nu-15 (testemunha suscetível). Os resultados permitiram observar que a porcentagem de incidência da doença no campo e a porcentagem de transmissão pela semente foram menores para o cultivar EPAMIG-3 e maiores para a linhagem Nu-15. No entanto, nem todos os cultivares mostraram relação entre severidade da doença e incidência do patógeno na semente. Por outro lado, a porcentagem de sementes com o patógeno foi menor para o cultivar mais resistente, porém, não foi maior para a linhagem Nu-15 (mais suscetível), e sim, para o cultivar IAC-12-2.

3. MATERIAL E MÉTODOS.

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, no período compreendido entre março de 1988 a fevereiro de 1989.

3.1. Isolamento e preparo das suspensões de conídios.

As culturas puras de *Colletotrichum gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foram obtidas através de isolamentos em meio BDA (batata 200 g; dextrose 20 g; agar 20 g; água destilada 1000 ml).

Quando os isolamentos foram feitos a partir de sementes, estas permaneceram 3 a 7 dias em câmara úmida, sendo as estruturas do fungo desenvolvidas na sua superfície transferidas para placas de Petri com BDA, através de uma agulha flambada.

Os isolamentos de lesões de folhas, maçãs, caules e plântulas foram feitos com pequenos fragmentos de

tecidos, após assepsia superficial em solução de hipoclorito de sódio a 1% durante um minuto.

Os isolados dos dois patógenos utilizados, assim como sua procedência e órgão da planta de onde foram obtidos, encontram-se relacionados na Tabela 1.

De cada isolado foram obtidas culturas monospóricas, espalhando-se uma suspensão diluída de conídios sobre a superfície de ágar-água em placas de Petri. Após aproximadamente 16 horas de incubação a 26°C, as placas foram observadas em microscópio. Os esporos individualizados foram transferidos com pequena quantidade de ágar para novas placas contendo BDA, incubadas a 26°C.

Após a obtenção de culturas monospóricas, os isolados foram preservados em água destilada esterilizada, pelo método de Castellani (FIGUEIREDO, 1967). Tal método consistiu na transferência de discos 3 mm de diâmetro, retirados de colônias em crescimento ativo, para vidros com capacidade aproximada para 10 ml (vidros de penicilina vazios), contendo 4 ml de água destilada esterilizada. Os vidros, após tampados com rolha de borracha e vedados com filme transparente de PVC ("MAGIPACK"), foram mantidos sob temperatura de 10°C (geladeira).

Para os experimentos de inoculação de sementes e plantas de algodoeiro, as suspensões de conídios foram obtidas adicionando-se 10 ml de água destilada esterilizada a cada placa de Petri de 9 cm de

Tabela 1 - Relação dos isolados utilizados, sua procedência e órgão da planta de onde foram obtidos.

PATÓGENO	ISOLADO	PROCEDENCIA	ÓRGÃO DA PLANTA
<i>C. gossypii</i>	CA ₁	Piracicaba, SP	sementes
	CA ₂	Uberaba, MG	maçãs
	CA ₃	Uberaba, MG	maçãs
	CA ₄	Castilho, SP	sementes
	CA ₅	Pirapozinho, SP	sementes
	CA ₆	Conchal, SP	plântulas
<i>C. gossypii</i> var. <i>cephalosporioides</i>	CR ₁	Uberaba, MG	folhas
	CR ₂	Uberaba, MG	folhas
	CR ₃	Capinópolis, MG	caules
	CR ₄	Ituverava, SP	ramos
	CR ₅	Ituverava, SP	ramos
	CR ₆	Ituverava, SP	ramos

diâmetro contendo as culturas dos fungos desenvolvidos durante 8 dias à temperatura ambiente (25-28°C), em meio de aveia (farinha de aveia 40 g; agar 20 g; água destilada 1000 ml). Um pincel fino foi passado sobre a superfície das colônias a fim de facilitar a liberação dos conídios. Essas suspensões foram filtradas através de duas camadas de gaze esterilizada e suas concentrações ajustadas para 1×10^5 conídios/ml, através de contagens em hemocitômetro e diluições com água destilada esterilizada.

3.2. Crescimento micelial e esporulação *in vitro* de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

3.2.1. Crescimento micelial.

Foram utilizadas culturas puras de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* com 7 dias de idade, desenvolvidas em meio BDA a 26°C. Com o auxílio de um furador de rolhas foram retirados discos de 5 mm de diâmetro da parte periférica dessas culturas, que foram transferidos para o centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo BDA.

As placas assim preparadas foram mantidas a 26°C, no escuro. Após 38 horas, a cada período de 10 e 14 horas, durante 98 horas, e ao final de 144 horas, foi medido o crescimento linear, através de dois diâmetros das

colônias, perpendiculares entre si, com o auxílio de uma régua milimetrada.

O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 3 repetições por tratamento. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey.

3.2.2. Esporulação.

As placas foram preparadas de maneira semelhante à descrita no item 3.2.1, utilizando neste caso os meios BDA e de aveia.

Após 6 dias de incubação a 26°C, no escuro, foi avaliada a esporulação, retirando-se de cada placa 3 discos de 1,5 cm de diâmetro, amostrando o centro e as duas extremidades do raio das placas fazendo-se a suspensão dos esporos em 10 ml de água destilada. Após filtração em camada dupla de gaze, a contagem do número de conídios foi realizada mediante o emprego de hemocitômetro.

O delineamento experimental utilizado para cada patógeno foi o inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 (meios) x 6 (isolados) com 3 repetições, cada uma constituída por uma placa.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste de Tukey para a comparação das médias.

3.3. Patogenicidade de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em plantas de nove genótipos de algodoeiro.

Neste experimento foi avaliada a patogenicidade de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em nove genótipos de algodoeiro, através da pulverização de suspensão do inóculo em plantas, em casa de vegetação.

Os isolados utilizados, relacionados na Tabela 1, foram inoculados individualmente em cada um dos genótipos : BR-1, CNPA-2H, IAC-12-2, IAC-17, IAC-19, IAC-20, IAPAR-4-PR-1, EPAMIG-3 e Nu-15-79/117. As plantas foram cultivadas em vasos de alumínio de 15 cm de diâmetro, contendo cerca de 1,5 kg de uma mistura esterilizada em autoclave de solo, areia e matéria orgânica, respectivamente nas proporções de 2:1:1 em volume.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 3 repetições por tratamento, cada uma delas constituída por um vaso contendo 3 plantas. O esquema experimental foi o fatorial 6 (isolados) x 9 (genótipos).

A inoculação consistiu da pulverização de uma suspensão de esporos, preparada de acordo com o item 3.1, quando as plantas tinham 30 dias de idade. A pulverização foi realizada ao final da tarde, através de

um pulverizador manual "UNI-SPRAY" modelo 2000, procurando-se atingir principalmente a parte apical da planta.

Após a inoculação as plantas permaneceram em câmara úmida, proporcionada por uma cobertura plástica, por 48 horas, para garantir a umidade adequada para ocorrer a infecção.

Como testemunha, 3 vasos, contendo 3 plantas de cada genótipo, foram pulverizados com água destilada esterilizada.

A avaliação foi efetuada 25 dias após a inoculação, determinando-se a severidade da doença em cada planta por sintomas visuais, através da atribuição de notas de 1 a 5, conforme escala utilizada por CARVALHO et alii (1985), descrita a seguir :

Nota 1 - Ausência de sintomas.

Nota 2 - Apenas lesões necróticas nas folhas.

Nota 3 - Plantas com internódios superiores curtos, com ou sem superbrotamento.

Nota 4 - Superbrotamento acentuado; redução do porte da planta.

Nota 5 - Excessivo superbrotamento; porte reduzido, de maneira mais acentuada do que no caso anterior.

A partir dessa escala de notas foi calculado o índice de doença (ID), pela fórmula sugerida por McKINNEY (1923):

$$ID (\%) = \frac{\sum (f.v)}{n.x} . 100, \text{ onde :}$$

ID = índice de doença

f = número de plantas com determinada nota

v = nota observada

n = número total de plantas avaliadas

x = nota máxima

Os dados obtidos, transformados para $\text{arc sen } \sqrt{ID/100}$, foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste de Tukey para a comparação das médias.

As temperaturas mínima, máxima e média observadas na casa de vegetação durante o período em que foi realizado o experimento foram de 14, 39 e 28,7°C, respectivamente.

3.4. Transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5 (genótipos) x 2 (estádios de desenvolvimento), com cinco repetições por tratamento. Cada repetição foi constituída por um vaso de plástico de 23 cm de diâmetro e capacidade aproximada de 4,5 kg, contendo o substrato mencionado no item 3.3.. Em cada vaso foram cultivadas

três plantas.

Foram utilizados os cultivares IAC-20, IAC-12-2, IAPAR-4-PR-1, EPAMIG-3 (padrão de resistência) e a linhagem Nu-15-79/117 (padrão de suscetibilidade).

Foi preparado o inóculo, com culturas puras dos 8 isolados do fungo relacionados na Tabela 1, com 8 dias de idade, desenvolvidas em meio de aveia. Foram preparadas suspensões de esporos de cada isolado, na concentração de 1×10^5 esporos/ml, mediante a técnica já descrita no item 3.1. Volumes iguais de cada suspensão foram misturados, de modo a se obter a mistura de isolados.

As plantas foram inoculadas através de pulverizador manual "UNI-SPRAY" mod. 2000, em dois estádios de crescimento : aos 30 dias após a semeadura (plantas jovens) e quando a maioria das maçãs estava formada. As pulverizações foram realizadas ao final da tarde, procurando-se atingir principalmente a parte apical das plantas.

Após as inoculações as plantas permaneceram em câmara úmida, proporcionada por uma cobertura plástica, por 48 horas.

Como testemunha, 5 vasos contendo 3 plantas de cada genótipo foram pulverizadas com água destilada esterilizada.

As avaliações da severidade da doença nas

plantas foram efetuadas 30 dias após as inoculações, mediante a escala de notas de 1 a 5, adotada por CARVALHO et alii (1985), com as quais foram calculados os índices de doença, de modo semelhante ao descrito no item 3.3.

AS temperaturas mínima, máxima e média observadas na casa de vegetação durante a condução do experimento foram, respectivamente, 05, 39 e 22,1 °C.

As plantas desenvolveram-se até a fase de maturidade, sendo as sementes colhidas e submetidas aos testes relacionados a seguir:

3.4.1. Análise de sanidade das sementes.

As sementes colhidas foram previamente deslintadas com ácido sulfúrico comercial concentrado (96-98%), na proporção de 200 ml para cada 1 kg de sementes. As sementes em contato com o ácido foram revolvidas com um bastão de vidro durante cerca de 5 minutos e a seguir lavadas várias vezes em água corrente e postas a secar à sombra (COSTA & SANTOS NETO, 1940).

A presença do patógeno foi detectada através do teste de sanidade utilizando incubação em papel de filtro (NEERGAARD, 1979). O método consistiu na incubação das sementes em placas de Petri de plástico, de 9 cm de diâmetro, contendo 3 folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada. As placas, contendo cada uma 10

sementes equidistantes entre si, foram colocadas durante 7 dias a 20-22°C, fotoperíodo de 12 horas de escuro e 12 horas de luz, fornecida por duas lâmpadas GE 40 watts, UNIV F 40 SD (super luz do dia), distantes 25 cm uma da outra e a 40 cm das placas.

O delineamento estatístico foi o inteiramente ao acaso, com 4 repetições de 50 sementes por tratamento. O esquema experimental foi o fatorial 5 (genótipos) x 2 (estádios de desenvolvimento).

A avaliação foi efetuada observando-se a presença de estruturas do fungo sobre as sementes e plântulas, com o auxílio de um estereomicroscópio.

A análise de variância foi efetuada com os dados, em porcentagem, transformados para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, utilizando-se o teste de Tukey para a comparação das médias.

3.4.2. Transmissão do patógeno semente-plântula.

Para verificar a transmissão do patógeno para as plântulas, as sementes, deslindadas com ácido sulfúrico, de acordo com o item 3.4.1., foram semeadas em caixas plásticas de 45x30x11 cm, contendo o substrato mencionado no item 3.3., em casa de vegetação. Em cada caixa foram distribuídas 25 sementes.

O delineamento estatístico foi o

inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 (genótipos) x 2 (estádios de desenvolvimento) com 4 repetições por tratamento, cada uma delas constituída por 2 caixas (50 sementes). Como testemunha foram utilizadas sementes obtidas de plantas não inoculadas.

Na avaliação, realizada 14 dias após a semeadura, foram contadas as plântulas sobreviventes. Todas as plântulas foram retiradas do substrato e examinadas quanto à presença de lesões no colo, haste e folhas, calculando-se a porcentagem de plântulas sobreviventes com sintomas.

A porcentagem de redução da emergência referente a cada tratamento foi calculada pelo confronto da sua emergência com a da respectiva testemunha, utilizando-se a fórmula:

$$PRE = \frac{ET - ETr}{ET} \cdot 100, \text{ onde:}$$

PRE = porcentagem de redução da emergência

ET = emergência da testemunha

ETr = emergência do tratamento

Relacionando-se os dados obtidos para porcentagem de plântulas sobreviventes com sintomas e porcentagem de sementes com o patógeno, foi calculada a porcentagem de transmissão semente-plântula.

Os dados obtidos foram transformados para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

3.5. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

Foram utilizadas sementes do cultivar CNPA-2H, deslindadas com ácido sulfúrico, conforme o item 3.4.1., e submetidas a assepsia superficial com hipoclorito de sódio a 1% durante 3 minutos, seguida de secagem ao ar, em papel absorvente, durante 24 horas.

Os seis isolados de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* relacionados na Tabela 1 foram utilizados como inóculo.

3.5.1. Métodos utilizados.

3.5.1.1 Método 1 - Contacto das sementes com colônias dos fungos durante 24 horas e secagem por 24 horas.

Como inóculo foram utilizadas culturas dos dois patógenos desenvolvidas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com BDA, durante 8 a 10 dias, em condição ambiente de laboratório, com a temperatura variando entre 25 a 28°C. Em cada placa foram colocadas 50 sementes em contacto com a superfície das colônias, num procedimento semelhante ao descrito por TANAKA et alii (1987). As

placas foram agitadas manualmente para que as sementes entrassem em contacto com as colónias, permitindo maior adesão do inóculo à sua superfície. A incubação foi realizada em condições de laboratório, durante 24 horas. Como testemunha as sementes permaneceram em contacto com a superfície de BDA em placas de Petri durante 24 horas.

Após a inoculação e antes de serem utilizadas, as sementes foram postas a secar ao ar e à sombra, durante 24 horas, sobre papel absorvente.

3.5.1.2. Método 2 - Imersão das sementes em suspensão de conídios durante 30 minutos e secagem por duas horas.

As sementes foram imersas em uma suspensão de esporos do fungo, na concentração de 1×10^5 esporos/ml, obtida da maneira descrita no item 3.1, durante 30 minutos. Para cada 100 sementes foram utilizados 100 ml da suspensão. Como testemunha, as sementes foram imersas em água destilada esterilizada durante 30 minutos.

Após a inoculação, antes de serem utilizadas, as sementes foram postas a secar ao ar e à sombra, durante 2 horas, sobre papel absorvente.

3.5.1.3. Método 3 - Imersão das sementes em suspensão de conídios durante 2 horas e secagem por 16 horas.

As sementes foram imersas durante duas horas em uma suspensão de esporos na concentração de 1×10^5 esporos/ml, preparada conforme o item 3.1, colocando-se 100 sementes para cada 100 ml da suspensão. A seguir foram postas a secar ao ar e à sombra, sobre papel absorvente, durante 16 horas. Para a testemunha a suspensão de esporos foi substituída por água destilada esterilizada.

Antes e após a inoculação com cada método, uma amostra das sementes foi destinada à determinação do grau de umidade pelo método da estufa a 105°C (MARCOS FILHO et alii, 1987). Foi também determinado o grau de umidade das sementes só deslindadas e deslindadas com assepsia. Procedeu-se à nova determinação do grau de umidade das sementes inoculadas, após um mês de armazenamento em sacos de papel, à temperatura ambiente.

Os danos provocados pela presença dos patógenos em sementes e plântulas foram avaliados através dos testes mencionados a seguir.

3.5.2. Análise de sanidade das sementes.

A avaliação foi feita pelo teste de sani-

dade, incubação em papel de filtro, cuja técnica foi descrita no item 3.4.1. Foram analisadas 200 sementes por tratamento, sendo metade delas submetidas à assepsia superficial com solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 3 minutos.

Foi utilizado o delineamento estatístico inteiramente ao acaso, com 5 repetições de 20 sementes por tratamento, constituídas por 2 placas de 9 cm de diâmetro, cada uma delas contendo 10 sementes.

A análise de variância foi efetuada com os dados, em porcentagem, transformados para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, utilizando-se o teste de Tukey para a comparação das médias.

3.5.3. Emergência em casa de vegetação.

As sementes foram semeadas em caixas plásticas de 45x30x11cm, contendo o substrato mencionado no item 3.3., em número de 25 por caixa.

O delineamento estatístico foi o inteiramente ao acaso, com 4 repetições de 50 sementes por tratamento, cada uma constituída por 2 caixas.

Na avaliação, realizada 14 dias após a semeadura, foram consideradas a emergência e as plântulas sobreviventes com sintomas, de modo semelhante ao descrito para o item 3.4.2.

A análise de variância foi efetuada com os dados transformados para arc sen $\sqrt{x/100}$, utilizando-se o teste de Tukey para a comparação das médias.

As temperaturas mínima, máxima e média observadas na casa de vegetação durante a condução do experimento foram 15, 38 e 26,4 °C, respectivamente.

3.6. Patogenicidade de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii* a cinco genótipos de algodoeiro, através de inoculação de sementes.

Utilizando os genótipos IAC-12-2, IAC-20, IAPAR-4-PR-1, EPAMIG-3 (padrão de resistência à ramulose) e Nu-15-79/117 (padrão de suscetibilidade à ramulose) e os isolados de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, relacionados na Tabela 1, foi feita a inoculação das sementes pelo método 3, descrito no item 3.5.1.3.

O inóculo foi preparado de acordo com a técnica especificada no item 3.1, sendo preparada uma suspensão de esporos de cada isolado, na concentração de 1×10^5 esporos/ml. Para cada patógeno, volumes iguais de cada suspensão foram misturados para a obtenção da mistura de isolados, da qual foram utilizados 100 ml para 100 sementes.

Foram inoculadas 400 sementes de cada

genótipo, sendo metade delas utilizada para análise em laboratório e a outra metade, para verificar a emergência e sintomas em plântulas, em casa de vegetação.

3.5.1. Análise de sanidade das sementes

Em laboratório a patogenicidade foi avaliada pelo teste de sanidade, incubação em papel de filtro, cuja descrição e modo de avaliação constam no item 3.4.1.

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com 5 repetições de 20 sementes para cada tratamento, constituídas por duas placas, com 10 sementes cada.

A análise de variância foi realizada com os dados em porcentagem transformados para $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

3.6.2. Emergência em casa de vegetação.

As sementes foram distribuídas em caixas plásticas de 45x30x11 cm contendo o substrato mencionado no item 3.3.. Foram utilizadas 25 sementes em cada caixa, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições, cada uma delas constituída por duas caixas.

As avaliações e a análise de variância foram realizadas de modo semelhante ao descrito para o

item 3.4.2.

As temperaturas máxima, mínima e média observadas na casa de vegetação durante a condução do experimento foram, respectivamente, 13, 38 e 25,6°C.

4. RESULTADOS

No Apêndice encontram-se os valores da diferenças mínimas significativas (DMS), utilizadas nas comparações de médias.

As tabelas 6 a 23 referem-se a dados reais, tendo sido as comparações das médias realizadas após transformação.

4.1. Crescimento micelial e esporulação *in vitro* de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

4.1.1. Crescimento micelial.

Os resultados obtidos para o crescimento linear de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* encontram-se na Tabela 2.

A análise de variância mostrou serem significativas as diferenças entre o crescimento linear dos isolados utilizados. O isolado CR₃ apresentou maior crescimento em relação aos demais após 144 horas de incubação, porém não diferiu estatisticamente de CR₁ e CR₂. Os isolados CR₅ e CR₆ foram os que cresceram menos durante o mesmo

Tabela 2 - Crescimento micelial de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em BDA.

ISOLADOS	HORAS DE INCUBAÇÃO							
	38	48	62	72	86	96	144*	
	cm							
CR ₃	1,83	2,48	3,30	3,86	4,73	5,42	8,43	a
CR ₁	1,60	2,00	3,26	3,80	4,66	5,40	8,37	ab
CR ₂	1,70	2,10	3,23	3,68	4,54	5,33	8,33	ab
CR ₄	1,73	2,23	3,13	3,66	4,50	5,26	8,09	bc
CR ₅	1,46	1,96	2,96	3,43	4,36	5,10	8,00	c
CR ₆	1,40	1,80	2,73	3,20	4,07	4,73	7,80	c
CV (%) = 1,53								

* Médias obtidas após 144 horas de incubação, seguidas pela mesma letra, não diferiram entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

período, não diferindo estatisticamente de CR₄.

Para o crescimento de *C. gossypii* a análise de variância também mostrou diferenças significativas (Tabela 3). Os isolados CA₁, CA₄ e CA₃ apresentaram crescimentos estatisticamente semelhantes, diferindo dos demais. O isolado CA₆ foi o que menos cresceu durante as 144 horas de incubação, porém não diferiu estatisticamente do isolado CA₂, que por sua vez não diferiu de CA₅.

4.1.2. Esporulação.

Os dados obtidos quanto à esporulação dos dois patógenos em estudo, nos meios BDA e aveia encontram-se nas Tabelas 4 e 5.

Através da análise de variância foram observadas diferenças significativas entre os meios de cultura, entre isolados e para a interação meios x isolados, tanto para *C. gossypii* como para *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

O isolado CR₃ superou os demais quanto à esporulação, sendo seguido por CR₅, do qual não diferiu estatisticamente. O isolado CR₄ apresentou a mais baixa esporulação, ficando CR₁, CR₂ e CR₆ em posição intermediária.

Para todos os isolados a esporulação em meio de aveia foi superior àquela observada em BDA. Apenas para CR₄ a diferença entre as esporulações obtidas nos

Tabela 3 - Crescimento micelial de seis isolados de *C. gossypii* em BDA.

ISOLADOS	HORAS DE INCUBAÇÃO						
	38	48	62	72	86	96	144 *
	cm						
CA ₁	1,53	2,17	3,47	4,23	5,40	5,96	8,30 a
CA ₄	1,43	1,97	2,90	3,57	4,47	5,26	8,23 a
CA ₃	1,53	1,80	2,80	3,43	4,37	5,03	8,16 a
CA ₅	1,36	1,90	2,83	3,50	4,63	5,27	7,83 b
CA ₂	1,43	2,07	3,17	3,57	4,33	5,27	7,66 bc
CA ₆	1,26	1,83	2,83	3,40	4,23	5,20	7,47 c
CV (%) = 1,42							

* Médias obtidas após 144 horas de incubação, seguidas pela mesma letra, não diferiram entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 4 - Esporulação de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nos meios BDA e aveia.

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA		MEDIAS
	BDA	AVEIA	
----- conídios/ml x 10 ⁶ -----			
CR ₃	8,17a B	101,33 a A	54,75 a
CR ₅	5,66a B	91,83 ab A	48,75 ab
CR ₁	2,33a B	80,66 bc A	41,49 bc
CR ₂	1,66a B	82,33 bc A	42,00 bc
CR ₄	1,33a A	8,16 d A	4,75 d
CR ₆	1,17a B	66,67 c A	33,92 c
MÉDIAS	3,39 B	71,83 A	
CV (%) = 14,40			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 5 - Esporulação de seis isolados de *C. gossypii* nos meios BDA e aveia.

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA		MÉDIAS
	BDA	AVEIA	
----- conídios/ml x 10 ⁶ -----			
CA ₆	10,83a B	131,66 ab A	71,25 a
CA ₅	9,33a B	136,66 a A	73,00 a
CA ₃	7,17a B	118,33 abc A	62,75 a
CA ₂	5,33a B	100,77 c A	53,05 b
CA ₁	4,83a B	109,66 bc A	57,25 ab
CA ₄	1,66a A	7,17 d A	4,42 c
MÉDIAS	6,53 B	100,71 A	
CV (%) = 17,94			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

dois meios não foi significativa.

No desdobramento dos graus de liberdade da interação meios \times isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, a análise de variância revelou significância apenas para isolados dentro do meio de aveia (Tabela 4). Neste meio, os isolados diferiram entre si de modo semelhante ao observado para a média geral.

Também para *C. gossypii* (Tabela 5), a análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação meios \times isolados mostrou haver significância apenas para isolados dentro do meio de aveia, no qual se sobressairam os isolados CA₅, CA₆ e CA₃. Não foi acusada significância para os meios dentro de CA₄. Na média geral, os isolados CA₁, CA₃, CA₅ e CA₆ não diferiram estatisticamente entre si, sendo no entanto, superiores ao CA₄ e CA₂.

No estudo de correlação entre crescimento e esporulação foram obtidos os coeficientes de 0,37 e 0,49, não significativos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t, respectivamente para os isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

4.2. Patogenicidade de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em plantas de nove genótipos de algodoeiro.

Os sintomas iniciais da doença começaram a

se manifestar três a quatro dias após a inoculação, na forma de pequenas lesões necróticas no limbo foliar, nervuras, e ao longo dos pecíolos, com posterior necrose da parte apical, cuja intensidade variou com a suscetibilidade do genótipo.

As plantas testemunhas mantiveram-se sem sintomas da doença.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados das reações exibidas pelos genótipos de algodoeiro aos isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

A análise de variância mostrou diferenças significativas para genótipos, isolados e para a interação genótipos x isolados.

No desdobramento dos graus de liberdade da interação genótipos x isolados, a análise de variância mostrou existirem diferenças significativas para isolados dentro de genótipos, com exceção de isolados dentro do cultivar EPAMIG-3 (Tabela 6). Também foram observadas diferenças estatisticamente significativas para genótipos dentro de isolados, com exceção de genótipos dentro do isolado CR₆.

Na Tabela 6 observa-se que os isolados CR₃ e CR₅ destacaram-se como os mais patogênicos. Estes dois isolados foram estatisticamente iguais quanto à patogenicidade e diferiram dos isolados CR₁, CR₂ e CR₆, com patogenicidade intermediária, que, por sua vez, diferiram de CR₄, o menos patogênico.

Tabela 6 - Reações de nove genótipos de algodoeiro à inoculação com seis isolados de C. gossypii var. cephalosporioides, doença quantificada através do Índice de doença (ID%).

GENÓTIPOS	ISOLADOS						MÉDIAS
	CR ₁	CR ₂	CR ₃	CR ₄	CR ₅	CR ₆	
Nu-15-79/117	55,5 a ABC	62,2 ab AB	66,6 a AB	42,2 a C	68,8 ab A	53,3 a AB	58,1 a
IAPAR-4-PR-1	46,6 abc BC	46,6 bc BC	60,0 ab AB	40,0 a C	64,4 ab A	48,8 a BC	51,1 b
IAC-19	57,7 a A	35,5 c C	55,5 abc AB	37,7 ab BC	57,7 bc A	51,1 a AB	49,2 b
IAC-17	53,3 ab AB	64,4 a A	62,2 a A	28,8 ab C	40,0 d BC	42,2 a BC	48,1 b
IAC-12-2	37,7 bc C	35,5 c C	64,4 a B	26,6 ab C	75,5 a A	40,0 a C	46,6 bc
IAC-20	46,6 abc B	44,4 c B	48,8 bc B	26,6 ab C	62,2 ab A	44,4 a B	45,5 bc
CNPA-2H	33,3 c B	44,4 c AB	55,5 abc A	33,3 ab B	40,0 d AB	48,8 a A	42,6 cd
BR-1	53,3 ab A	42,2 c A	42,2 c A	24,4 b B	42,2 cd A	44,4 a A	41,5 cd
EPAMIG-3	33,3 c A	33,3 c A	46,6 bc A	33,3 ab A	37,7 d A	40,0 a A	37,4 d
MÉDIAS	46,4 B	45,4 B	55,8 A	32,6 C	54,3 A	45,3	

CV (%) = 8,54

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os nove genótipos de algodoeiro apresentaram diferentes níveis de reações quanto à sintomatologia resultante da inoculação com cada um dos seis isolados, conforme pode-se observar na Tabela 6. A linhagem Nu-15-79/117, o padrão de suscetibilidade utilizado, apresentou o mais alto índice de doença em média, sendo significativamente diferente dos demais. Os índices de doença apresentados por esta linhagem em relação a todos os isolados, apenas foram superados pelos dos genótipos IAC-19, IAC-17 e IAC-12-2 frente aos isolados CR₁, CR₂ e CR₅, respectivamente. Por outro lado, o cultivar EPAMIG-3 comportou-se como o genótipo mais resistente, com o menor índice de doença em média. Seguiram-se em ordem crescente de suscetibilidade os cultivares BR-1, CNPA-2H, IAC-20, IAC-12-2, IAC-17, IAC-19 e IAPAR-4-PR-1.

4.3. Transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento.

Decorridos três a quatro dias após a inoculação foram observados os primeiros sintomas da doença, na forma de pequenas manchas necróticas no limbo foliar e lesões alongadas nas nervuras e pecíolos. Essas lesões, com o tempo, provocaram enrugamento, deformações ou queda das folhas, e em progressão a parte apical foi atingida, com evolução para o superbrotamento em maior ou

menor grau, dependendo da suscetibilidade do genótipo.

As plantas testemunhas mantiveram-se sem sintomas da doença.

Na Tabela 7 encontram-se os dados referentes aos índices de doença apresentados pelos cinco genótipos testados quando inoculados com uma mistura dos seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, em dois estádios de desenvolvimento.

A análise de variância mostrou serem significativas as diferenças observadas entre genótipos, épocas de inoculação, e para a interação genótipos x épocas.

A linhagem Nu-15-79/117 e o cultivar IAPAR-4-PR-1 foram os genótipos que apresentaram os mais altos índices de doença em média, não diferindo estatisticamente entre si, porém diferindo dos cultivares com índice intermediário, IAC-12-2 e IAC-20. Estes, por sua vez, não diferiram entre si, diferindo no entanto do cultivar EPAMIG-3, o mais resistente.

Os índices de doença resultantes da inoculação realizada quando a maioria das maçãs estava formada foram, em média, estatisticamente inferiores àqueles obtidos quando a inoculação foi efetuada 30 dias após a semeadura.

No desdobramento dos graus de liberdade da interação genótipos x épocas, a análise de variância mostrou, dentro de cada época de inoculação, os mesmos

Tabela 7 - Índices de doença resultantes da inoculação de mistura de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em cinco genótipos de algodoeiro, em dois estádios de desenvolvimento.

GENÓTIPOS	ÉPOCA DE INOCULAÇÃO					
	30 DIAS APÓS SEMEADURA		MAÇÃS FORMADAS		MÉDIAS	
Nu-15-79/117	72,67	a A	68,67	a A	70,67	a
IAPAR-4-PR-1	67,33	a A	60,67	a A	64,00	a
IAC-20	55,33	b A	42,00	b B	48,67	b
IAC-12-2	48,67	b A	44,67	b A	46,67	b
EPAMIG-3	28,67	c A	27,33	c A	28,00	c
MÉDIAS	54,53	A	48,67	B		
CV (%) = 8,59						

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

resultados constatados para as médias dos genótipos. A linhagem Nu-15-79/117 e o cultivar IAPAR-4-PR-1 comportaram-se como os mais suscetíveis, IAC-20 e IAC-12-2, como intermediários e EPAMIG-3, como o mais resistente. Apenas para o cultivar IAC-20 houve diferença significativa entre os índices de doença observados para as duas épocas de inoculação.

4.3.1. Análise de sanidade das sementes.

As porcentagens de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, provenientes das plantas inoculadas 30 dias após a semeadura e quando a maioria das maçãs estava formada, encontram-se na Tabela 8.

Através da análise de variância foram observadas diferenças significativas entre genótipos, épocas de inoculação e para a interação genótipos x épocas.

As sementes dos cultivares IAC-12-2 e EPAMIG-3 apresentaram, em média, a maior e menor porcentagem do fungo, respectivamente.

Quando a inoculação foi efetuada no estágio em que a maioria das maçãs estava formada, foram detectadas nas sementes porcentagens de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, significativamente superiores aos valores observados quando se inoculou aos 30 dias (Tabela 8).

Na interação genótipos x épocas de inoculação observa-se que as sementes do cultivar IAC-12-2

Tabela 8 - Porcentagens de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* provenientes das plantas inoculadas em dois estádios de desenvolvimento (transmissão planta-semente).

GENÓTIPOS	EPOCA DE INOCULAÇÃO				
	30 DIAS APÓS SEMEADURA		MAÇÃS FORMADAS		MÉDIAS
IAC-12-2	5,00 a	B	11,50 a	A	8,25 a
IAC-20	3,50 ab	B	8,00 ab	A	5,75 a
Nu-15-79/117	3,00 abc	B	5,50 b	A	4,25 a
IAPAR-4-PR-1	1,50 bc	B	10,00 ab	A	5,75 a
EPAMIG-3	1,00 c	A	1,50 c	A	1,25 b
MÉDIAS	2,80 B		7,30 A		
CV (%) = 24,45					

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

e EPAMIG-3 apresentaram maiores e menores porcentagens do patógeno em ambas as épocas de inoculação, respectivamente (Tabela 8).

O desdobramento dos graus de liberdade da interação genótipos x épocas mostrou que apenas para o cultivar EPAMIG-3 não houve diferença significativa entre as porcentagens de sementes portadoras do patógeno nas duas épocas testadas.

4.3.2. Transmissão do patógeno semente-plântula.

Na Tabela 9 são apresentadas as porcentagens de redução da emergência das sementes originadas das plantas inoculadas nos dois estádios de desenvolvimento.

A análise de variância mostrou serem significativas as diferenças entre genótipos, épocas de inoculação e a interação genótipos x épocas.

A maior porcentagem de redução da emergência, em média, foi verificada para o cultivar IAC-12-2, que diferiu significativamente dos demais genótipos. A menor redução da emergência foi verificada para o cultivar EPAMIG-3, ficando os demais genótipos em posição intermediária.

O valor médio de redução da porcentagem de emergência quando da inoculação aos 30 dias foi estatisticamente inferior àquele obtido para o estádio de

Tabela 9 - Porcentagens de redução da emergência de sementes provenientes de plantas inoculadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em dois estádios de desenvolvimento.

GENÓTIPOS	ÉPOCA DE INOCULAÇÃO				
	30 DIAS APÓS SEMEADURA		MAÇÃS FORMADAS		MEDIAS
IAC-12-2	4,16	a B	8,84	a A	6,50 a
IAC-20	3,90	ab B	7,46	c A	5,68 bc
Nu-15-79/117	3,66	b B	8,40	ab A	6,03 b
IAPAR-4-PR-1	3,15	c B	7,93	bc A	5,54 c
EPAMIG-3	2,44	dA	4,14	dA	3,29 d
MEDIAS	3,46	B	7,35	A	
CV (%) = 1,82					

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

maças formadas (Tabela 9).

Na interação genótipos x épocas, na inoculação aos 30 dias, o cultivar IAC-12-2 apresentou a maior redução da emergência, não diferindo significativamente do cultivar IAC-20. O menor valor foi observado para o cultivar EPAMIG-3. Quando a inoculação foi efetuada com maçãs formadas, houve alteração nesta sequência. Neste caso, o cultivar IAC-12-2 apresentou maior redução da emergência, porém não diferiu significativamente de Nu-15-79/117. O cultivar EPAMIG-3 manteve-se com o mais baixo valor, ficando como intermediários os cultivares IAPAR-4-PR-1 e IAC-20 (Tabela 9).

Os cultivares IAC-12-2 e EPAMIG-3 apresentaram a maior e menor redução da emergência dentro de ambas as épocas, respectivamente. A emergência de todos os genótipos foi significativamente menor quando a inoculação foi efetuada no estágio de maçãs formadas (Tabela 9).

Os dados referentes às porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas, provenientes das sementes das plantas inoculadas podem ser vistos na Tabela 10.

A análise de variância mostrou existir efeito significativo para genótipos, épocas de inoculação e a interação genótipos x épocas.

Os cultivares IAC-12-2 e EPAMIG-3 apresentaram, em média, maior e menor porcentagem de plântulas sobreviventes com sintomas, respectivamente, diferindo

Tabela 10 - Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas, provenientes das sementes de plantas inoculadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em dois estádios de desenvolvimento (Transmissão semente-plântula).

GENÓTIPOS	EPOCA DE INOCULAÇÃO				
	30 DIAS APÓS SEMEADURA		MAÇÃS FORMADAS		MEDIAS
IAC-12-2	2,00 a	B	6,50 a	A	4,25 a
Nu-15-79/117	2,00 a	B	4,00 c	A	3,00 b
IAC-20	1,50 ab	B	5,00 b	A	3,25 b
IAPAR-4-PR-1	1,00 b	B	6,50 a	A	3,75 b
EPAMIG-3	0,50 c	A	1,00 d	A	0,75 c
MEDIAS	1,40 B		4,60 A		
CV (%) = 6,74					

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

significativamente dos demais cultivares.

Comparando os valores médios obtidos para as duas épocas de inoculação, observou-se que eles foram significativamente diferentes entre si, com a inoculação no estágio de maçãs formadas resultando em maiores porcentagens de plântulas com sintomas.

A interação genótipos x épocas mostrou que em ambas as épocas o cultivar EPAMIG-3 apresentou a menor porcentagem de plântulas com sintomas. (Tabela 10).

Com os resultados das Tabelas 8 e 10 foram calculadas as porcentagens médias de transmissão do patógeno pelas sementes, cujos resultados são apresentados na Tabela 11.

Os genótipos Nu-15-79/117 e EPAMIG-3 apresentaram a maior e menor porcentagem de transmissão semente-plântula, respectivamente.

4.4. Comparação de métodos de inoculação de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

4.4.1. Análise de sanidade das sementes.

Os resultados obtidos para incidência de cada isolado de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes inoculadas com os métodos 1, 2 e 3, encontram-se nas Tabelas 12, 13 e 14, respectivamente.

Tabela 11 - Porcentagens médias de transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro, cujas plantas-mãe foram inoculadas em dois estádios de desenvolvimento, em casa de vegetação.

GENÓTIPOS	ÉPOCA DE INOCULAÇÃO		
	30 DIAS APÓS SEMEADURA	MAÇÃS FORMADAS	MÉDIAS
Nu-15-79/117	67	73	70
IAPAR-4-PR-1	67	65	66
EPAMIG-3	50	67	59
IAC-20	43	63	53
IAC-12-2	40	57	49
MÉDIAS	53	65	
CV (%) = 28,30			

Teste F não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 12 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, resultantes da inoculação com o método 1 - contacto das sementes com culturas do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
CR ₅	98,00	83,00	90,50 a
CR ₃	98,00	80,00	89,00 a
CR ₁	96,00	74,00	85,00 ab
CR ₂	95,00	70,00	82,50 abc
CR ₆	84,00	65,00	74,50 bc
CR ₄	80,00	61,00	70,50 c
MÉDIAS	91,80 A	72,20 B	
CV (%) = 9,98			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 13 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var *cephalosporioides* resultantes da inoculação com o método 2 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem por 2 horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
CR ₃	79,00	23,00	51,00 a
CR ₅	75,00	20,00	47,50 ab
CR ₁	72,00	18,00	45,00 abc
CR ₂	69,00	15,00	42,00 abc
CR ₆	58,00	18,00	38,00 bc
CR ₄	55,00	14,00	34,50 c
MÉDIAS	68,00 A	18,00 B	
CV (%) = 12,65			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao mesmo nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tabela 14 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* resultantes da inoculação com o método 3 - imersão das sementes na suspensão de esporos durante 2 horas seguida de secagem por 16 horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
CR ₃	94,00	34,00	64,00 a
CR ₅	92,00	30,00	61,00 a
CR ₁	91,00	28,00	59,50 ab
CR ₂	90,00	26,00	58,00 ab
CR ₆	75,00	23,00	49,00 ab
CR ₄	63,00	22,00	42,50 b
MÉDIAS	84,20 A	27,20 B	
CV (%) = 18,50			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para todos os métodos testados a análise de variância mostrou serem significativas as diferenças entre isolados e assepsia, porém não para a interação isolados x assepsia.

Comparando os isolados em cada método, pode-se observar que no método 1 (Tabela 12), destacaram-se como mais patogênicos CR_5 e CR_3 , que não diferiram significativamente de CR_1 e CR_2 . O isolado CR_4 comportou-se como o menos patogênico.

Na tabela 13, verifica-se que pelo método 2 os isolados CR_3 e CR_4 destacaram-se como o mais e o menos patogênico, respectivamente, ficando os demais em posição intermediária.

No método 3 (Tabela 14), destacaram-se como mais patogênicos CR_3 e CR_5 e como menos patogênico CR_4 , de modo semelhante ao método 1.

As porcentagens de incidência do patógeno foram significativamente superiores nas sementes não submetidas à assepsia, sendo o método 1 o mais eficiente na obtenção de sementes infectadas, seguindo-se o método 3 (Tabela 15).

Nas Tabelas 16, 17 e 18 encontram-se os resultados referentes às porcentagens de sementes com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com os métodos 1, 2 e 3, respectivamente.

A análise de variância mostrou existirem diferenças significativas apenas para presença ou ausência

Tabela 15 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, inoculadas com 3 diferentes métodos, com ou sem assepsia superficial.

MÉTODOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
1	91,80 a A	72,20 a B	82,00 a
3	84,20 b A	27,20 b B	55,70 b
2	68,00 c A	18,00 c B	43,00 c
MÉDIAS	81,33 A	39,13 B	

CV (%) = 12,70

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 16 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 1 - contacto das sementes com culturas do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MEDIAS
CA ₅	97,00	76,00	86,50
CA ₁	94,00	79,00	86,50
CA ₄	94,00	79,00	86,50
CA ₃	93,00	84,00	88,50
CA ₂	90,00	73,00	81,50
CA ₆	90,00	75,00	82,50
MEDIAS	93,00 A	77,70 B	
CV (%) = 9,73			

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 17 - Porcentagens de semente do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 2 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem duas horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
CA ₄	81,00	19,00	50,00
CA ₁	80,00	21,00	50,50
CA ₂	79,00	14,00	46,50
CA ₅	76,00	10,00	43,00
CA ₃	73,00	16,00	44,50
CA ₆	72,00	14,00	43,00
MÉDIAS	76,80 A	15,70 B	
CV (%) = 18,95			

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 18 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, resultantes da inoculação com o método 3 - imersão das sementes na suspensão de inóculo durante duas horas seguida de secagem 16 horas.

ISOLADOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MEDIAS
CA ₅	94,00	30,00	62,00
CA ₄	92,00	41,00	66,50
CA ₁	90,00	36,00	63,00
CA ₃	89,00	33,00	61,00
CA ₆	89,00	28,00	58,50
CA ₂	84,00	44,00	64,00
MEDIAS	89,70 A	35,30 B	
CV (%) = 18,31			

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

de assepsia. Para todos os métodos testados, os valores médios mostraram que a assepsia resultou em menores porcentagens de incidência do fungo, significativamente diferentes daqueles observados para sementes sem assepsia.

Na Tabela 19 verifica-se, de modo semelhante ao observado para *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, a superioridade do método 1 na obtenção de sementes infectadas.

Os graus de umidade apresentados pelas sementes inoculadas com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foram de 13,0, 11,7 e 15,0% para os métodos 1, 2 e 3, respectivamente. E as sementes só deslintadas e deslintadas com assepsia estavam com umidade de 8,0 e 9,1%, respectivamente. Após um mês de armazenamento à temperatura ambiente em sacos de papel, os graus de umidade das sementes inoculadas pelos métodos 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 9,0, 7,9 e 11,2%.

4.4.2. Emergência em casa de vegetação.

Na Tabela 20 encontram-se os resultados obtidos para porcentagem de plântulas sobreviventes com sintomas e redução da porcentagem de emergência, resultantes da inoculação de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, por três diferentes métodos.

A análise de variância mostrou serem significativas as diferenças entre os isolados comparados

Tablala 19 - Porcentagens de sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii*, inoculadas com 3 diferentes métodos, com ou sem assepsia superficial.

MÉTODOS	SEM ASSEPSIA	COM ASSEPSIA	MÉDIAS
1	93,00 a A	77,70 a B	85,35 a
3	89,70 a A	35,30 b B	62,50 b
2	76,80 b A	15,70 c B	46,25 c
MÉDIAS	86,50 A	42,90 B	
CV (%) = 15,00			

Letras minúsculas comparam médias na vertical e maiúsculas na horizontal.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 20 - Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e redução da porcentagem de emergência em casa de vegetação, resultantes da inoculação das sementes do cultivar CNPA-2H com *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, utilizando três diferentes métodos

ISOLADOS	MÉTODO 1 <u>a/</u>		MÉTODO 2 <u>b/</u>		MÉTODO 3 <u>c/</u>	
	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA
CR ₃	37,00 a	31,76 a	27,25 a	18,30 a	31,75 a	26,22 a
CR ₅	35,75 a	26,37 ab	22,75 b	13,55 a	29,00 b	24,04 ab
CR ₁	33,75 a	23,98 abc	21,00 b	11,41 a	26,50 c	20,47 ab
CR ₂	24,25 b	17,26 bc	20,50 b	9,32 a	23,00 d	12,54 bc
CR ₆	22,50 b	20,47 bc	26,13 a	8,97 a	25,25 c	17,05 abc
CR ₄	20,25 b	15,76 c	15,25 c	6,00 a	20,25 e	7,93 c
MÉDIAS	28,92	22,60	22,13	11,26	25,98	18,04
CV (%)	15,82	10,92	6,14	27,19	4,04	17,90

a/ contacto das sementes com colônias do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas.

b/ imersão em suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem durante 2 horas.

c/ imersão em suspensão de inóculo durante 2 horas e secagem durante 16 horas.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

quanto aos parâmetros avaliados em cada método, exceto para redução da porcentagem de emergência no método 2.

Os resultados obtidos para porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas evidenciaram, em todos os métodos, a maior patogenicidade do isolado CR₃, embora no método 1 os isolados CR₅ e CR₁ tenham apresentado resultados semelhantes, sem diferenças significativas entre si. No método 2, destacaram-se os isolados CR₃ e CR₆, que se apresentaram com patogenicidade semelhante. Para o parâmetro em questão, em todos os 3 métodos, o isolado CR₄ foi o menos patogênico, sendo que apenas no método 1 os valores obtidos para este isolado não foram significativamente inferiores a todos os demais (Tabela 20).

Considerando as reduções da porcentagem de emergência, verifica-se na Tabela 20 que, embora a análise de variância não tenha evidenciado efeito significativo para o método 2, nos três métodos utilizados o isolado CR₃ foi o mais patogênico. Nos métodos 1 e 3 pode-se observar que o isolado CR₃ não diferiu significativamente de CR₅, CR₁ e CR₆.

Para *C. gossypii*, os resultados referentes às porcentagens de plântulas com sintomas e redução das porcentagem de emergência encontram-se na Tabela 21.

Através da análise de variância foram observadas diferenças significativas entre os valores obtidos para os parâmetros avaliados nos três métodos.

Tabela 21 - Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e redução da porcentagem da emergência em casa de vegetação, resultantes da inoculação das sementes do cultivar CNFA-2H com C. gossypii utilizando três diferentes métodos.

ISOLADOS	MÉTODO 1 <u>a/</u>			MÉTODO 2 <u>b/</u>			MÉTODO 3 <u>c/</u>		
	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	
CA ₃	41,75 a	56,94 a	31,50 a	27,61 a	32,75 a	46,64 a			
CA ₂	40,75 a	45,88 ab	17,25 b	11,85 bc	28,00 b	26,27 bcd			
CA ₅	38,00 b	42,00 bc	30,75 a	17,10 b	33,50 a	28,20 bc			
CA ₁	35,50 c	30,63 cd	26,00 a	11,35 bc	33,00 a	25,04 bcd			
CA ₄	33,30 d	29,79 cd	18,75 b	13,73 bc	24,25 c	21,48 cd			
CA ₆	33,00 d	21,52 d	17,75 b	10,16 c	22,25 d	16,24 d			
MÉDIAS	37,08	37,81	23,67	15,27	28,96	27,71			
CV (%)	11,02	9,53	26,64	27,49	3,61	9,23			

a/ Contacto das sementes com colônias do fungo durante 24 horas e secagem durante 24 horas.

b/ Imersão em suspensão de inóculo durante 30 minutos e secagem durante 2 horas.

c/ Imersão em suspensão de inóculo durante 2 horas e secagem durante 16 horas.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

No método 1, os isolados CA₂ e CA₃ destacaram-se como os mais patogênicos, tanto para porcentagem de plântulas com sintomas como para a redução da porcentagem de emergência.

No método 2, também o isolado CA₃ foi o mais patogênico. Este isolado não diferiu significativamente de CA₅ e CA₁ para o parâmetro porcentagem de plântulas com sintomas.

No método 3, também foi evidenciada a maior patogenicidade do isolado CA₃ nos dois parâmetros avaliados, sendo que para porcentagem de plântulas com sintomas este isolado não diferiu significativamente de CA₁ e CA₅.

Pela Tabela 21 pode-se observar que, embora nem sempre ao nível estatístico, o isolado CA₆ comportou-se como o menos patogênico.

A análise de correlação entre a variável independente, esporulação (Tabela 4), as variáveis dependentes, índice de doença (Tabela 6), porcentagem de redução da emergência (Tabela 20), porcentagem de plântulas com sintomas (Tabela 20) e porcentagem de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Tabela 14), apresentou, respectivamente, os coeficientes de correlação: 0,96, 0,86, 0,86 e 0,95, significativos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste t. Tendo como variável independente o crescimento micelial, somente houve correlação significativa com a variável dependente porcen-

tagem de sementes com o patógeno ($r = 0,58$), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

4.5. Patogenicidade de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* a cinco genótipos de algodoeiro, através da inoculação de sementes.

4.5.1. Análise de sanidade das sementes.

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 22.

A análise de variância mostrou existirem diferenças significativas entre os valores obtidos para os parâmetros avaliados, para os dois patógenos.

Os cultivares testados comportaram-se de maneira semelhante quanto às porcentagens de sementes mortas por ambos os patógenos, ou seja, os cultivares IAC-12-2 e IAC-20 apresentaram os maiores valores, diferindo significativamente dos demais, que por sua vez, não diferiram entre si.

Quanto às porcentagens de raízes apodrecidas, a inoculação com ambos os patógenos resultou em menores valores para os cultivares IAC-12-2 e IAC-20. A linhagem Nu-15-79/117 e o cultivar IAPAR-4-PR-1 foram os genótipos mais afetados por *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. Por outro lado, na inoculação com *C. gossypii* a linhagem Nu-15-79/117 e os cultivares IAPAR-4-PR-1 e EPAMIG-3 foram

Tabela 22 - Porcentagens de sementes mortas, raízes apodrecidas e incidência total de C. gossypii var. cephalosporioides e C. gossypii em cinco genótipos de algodoeiro, resultantes da inoculação das sementes pelo método 3*.

GENÓTIPOS	<u>C. gossypii</u> var. <u>cephalosporioides</u>				<u>C. gossypii</u>				
	SEMENTES MORTAS	RAÍZES APODRECIDAS	INCIDÊNCIA TOTAL	SEMENTES MORTAS	RAÍZES APODRECIDAS	INCIDÊNCIA TOTAL	SEMENTES MORTAS	RAÍZES APODRECIDAS	INCIDÊNCIA TOTAL
IAC-12-2	42,00 a	54,00 c	96,00 a	37,00 a	62,00 bc	99,00 a			
IAC-20	36,00 a	56,00 c	92,00 ab	44,00 a	48,00 c	92,00 ab			
EPAMIG-3	12,00 b	63,00 bc	75,00 b	10,00 b	72,00 ab	82,00 b			
IAPAR-4-PR-1	11,00 b	78,00 ab	89,00 ab	18,00 b	76,00 ab	94,00 ab			
Nu-15-79/117	9,00 b	85,00 a	94,00 a	15,00 b	82,00 a	97,00 a			
MÉDIAS	22,00	67,20	89,20	24,80	68,00	92,80			
CV (%)	16,89	10,54	11,30	13,72	9,69	7,67			

*Método 3 - Imersão na suspensão de inóculo 2 horas e secagem durante 16 horas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Tukey.

os mais afetados, não diferindo significativamente entre si (Tabela 22).

A porcentagem de incidência total de ambos os patógenos foi significativamente maior no cultivar IAC-12-2 e na linhagem Nu-15-79/117, que não diferiram significativamente dos cultivares IAC-20 e IAPAR-4-PR-1. Por outro lado, a menor incidência foi observada para o cultivar EPAMIG-3 (Tabela 22).

4.5.2. Emergência em casa de vegetação.

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 23.

A análise de variância mostrou existirem diferenças significativas entre os valores obtidos para ambos os parâmetros estudados, para os dois patógenos.

Observou-se que para *C. gossypii* var. *cephalosporioides* os genótipos IAC-12-2 e Nu-15-79/117 comportaram-se como os mais suscetíveis para ambos os parâmetros estudados, não tendo diferido significativamente entre si. O cultivar EPAMIG-3 mostrou-se o mais resistente, enquanto que IAC-20 e IAPAR-4-PR-1 foram intermediários (Tabela 23).

Na inoculação com *C. gossypii*, o cultivar EPAMIG-3 comportou-se como o mais resistente em ambos os parâmetros. Para porcentagem de plântulas com sintomas o maior valor foi observado para a linhagem

Nu-15-79/117, que não diferiu significativamente do cultivar IAC-12-2. Quanto à porcentagem de redução da emergência, o cultivar IAC-20 e a linhagem Nu-15-79/117 apresentaram os maiores valores, sendo estatisticamente semelhantes entre si e entre os cultivares IAC-12-2 e IAPAR-4-PR-1 (Tabela 23).

Tabela 23 - Porcentagens de plântulas sobreviventes com sintomas e de redução da emergência, em casa de vegetação, resultantes da inoculação de sementes de cinco genótipos de algodoeiro com C. gossypii var. cephalosporioides, utilizando o método 3*.

GENÓTIPOS	<u>C. gossypii</u> var. <u>cephalosporioides</u>		<u>C. gossypii</u>	
	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA	PLÂNTULAS SOBREVIVENTES COM SINTOMAS	REDUÇÃO DA EMERGÊNCIA
IAC-12-2	28,75 a	33,83 a	33,25 a	22,86 ab
Nu-15-79/117	28,25 a	32,42 ab	34,00 a	38,05 a
IAPAR-4-PR-1	24,50 b	22,95 abc	28,75 c	35,01 ab
IAC-20	22,25 c	15,00 bc	30,25 b	36,25 a
EPAMIG-3	13,00 d	9,13 c	20,50 d	15,22 b
MÉDIAS	23,35	22,67	29,15	29,48
CV (%)	4,76	18,98	5,95	22,46

*Método 3 - Imersão na suspensão de inóculo 2 horas e secagem durante 16 horas. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

5. DISCUSSÃO.

5.1. Crescimento micelial e esporulação *in vitro* de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

Utilizando o meio BDA observou-se que houve variação no crescimento linear dos isolados dos dois patógenos em função dos intervalos de leitura. Ao final de 144 horas de incubação foi possível detectar, através da análise de variância, diferenças significativas tanto entre os isolados de *C. gossypii* como de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Tabelas 2 e 3).

Quanto à esporulação, o meio de aveia foi superior ao BDA para ambos os patógenos (Tabelas 4 e 5). Esse meio, de preparo relativamente fácil, possibilita a obtenção de grande quantidade de inóculo para utilização em testes que necessitem da inoculação de plantas ou sementes.

O crescimento linear não foi correlacionado com a esporulação para ambos os patógenos, isto é, nem sempre o isolado que apresentou maior crescimento foi o que mais esporulou e vice-versa.

Comparando o crescimento dos diferentes

isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (Tabela 2) com os dados das Tabelas 6, 14 e 20, verificou-se que não houve correlação com a patogenicidade dos mesmos. O isolado CR₃, embora com patogenicidade semelhante à de CR₅, apresentou um crescimento mais rápido em função dos intervalos de leitura. O isolado CR₆, com crescimento mais lento, não foi o menos patogênico. Por outro lado, CR₄, o menos patogênico, não apresentou o crescimento mais lento. A ausência de correlação entre o crescimento e os dados das Tabelas 6 e 20, confirmam essas observações.

Para os isolados de *C. gossypii* observou-se a mesma tendência. O isolado CA₁, com crescimento maior em comparação com os demais (Tabela 3), não foi, no entanto, o mais patogênico (Tabela 21).

Por outro lado, os dados da Tabela 4, comparados com aqueles das Tabelas 6, 14 e 20, mostram que a esporulação dos isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foi diretamente correlacionada com a sua patogenicidade.

LIMA (1981), comparando dois isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, um de intensa e outro de baixa esporulação, verificou que eles estavam associados a alto e baixo índice de tombamento, respectivamente. Embora o autor não tenha observado correlação entre esporulação e patogenicidade para todos os isolados testados, os dados do presente trabalho confirmam em parte aqueles resultados.

5.2. Patogenicidade de seis isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em plantas de nove genótipos de algodoeiro.

As variações de sintomas apresentadas pelos genótipos do hospedeiro indicaram a grande variabilidade dos isolados testados, como pode ser observado na Tabela 6.

Foi observado que os isolados utilizados apresentaram patogenicidade variável em função do genótipo no qual foram inoculados (Tabela 6). De modo geral, o isolado CR₄ foi o menos patogênico. Os isolados CR₃ e CR₅ comportaram-se como os mais patogênicos, e os demais, como intermediários.

Esses resultados estão de acordo com LIMA (1981), que, ao testar treze isolados de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em três cultivares e sete linhagens de algodoeiro, observou haver variabilidade entre os isolados quanto à capacidade de provocar sintomas de superbrotamento. Ficou evidenciado que os genótipos também variam na sua reação aos diferentes isolados, levando o autor a sugerir a provável existência de raças do patógeno.

Os genótipos testados no presente trabalho também variaram na sua reação diante da inoculação com os diferentes isolados (Tabela 6). Os valores médios obtidos da inoculação dos seis isolados, separadamente, em cada um dos nove genótipos destacou o cultivar EPAMIG-3 como o

mais resistente e a linhagem Nu-15-79/117 como a mais suscetível. Esses dados, obtidos em casa de vegetação, concordam com resultados relatados por CIA et alli (1982b; 1988a e 1988b), PIZZINATTO & CIA (1987) e PIZZINATTO (1988), em avaliações da incidência de ramulose através de inoculações em campo, utilizando os mesmos genótipos.

Confirmaram-se, portanto, as considerações de LIMA (1981), ao afirmar que provavelmente a inoculação de plantas em casa de vegetação, empregando técnicas padronizadas, seja perfeitamente adequada à seleção visando resistência ao patógeno. Alia-se a estas observações o fato de que o ambiente em casa de vegetação é mais controlado, as regas são equilibradas e evita-se a contaminação das plantas testemunhas, que frequentemente ocorre em experimentos de campo, mascarando as informações obtidas.

No entanto, deve-se considerar que no campo, além da variação da temperatura ser menor do que no interior da casa de vegetação, há a ocorrência de orvalho, que pode ter um importante papel na manifestação da doença.

Segundo VAN DER PLANK (1968; 1975; 1984) a existência ou não de significância da interação diferencial entre variedades do hospedeiro e isolados do patógeno, permite a distinção entre dois tipos de raças patogênicas : raças virulentas e raças agressivas. As raças virulentas são caracterizadas pela significância

dessa interação, ou seja, pela impossibilidade de ordenamento dos isolados segundo sua patogenicidade, independentemente das variedades, ou destas segundo sua resistência, independente dos isolados. A inexistência dessa interação diferencial significativa caracteriza, por sua vez, as raças agressivas. A resistência vertical e horizontal são consequência da presença de raças virulentas e agressivas, respectivamente.

No presente trabalho, cinco dos seis isolados utilizados diferiram significativamente em sua patogenicidade, expressa pelo índice de doença. Por sua vez, os genótipos, com exceção do cultivar EPAMIG-3, diferiram significativamente na resistência à infecção pelos diferentes isolados. A impossibilidade de ordenamento dos isolados em relação aos genótipos e destes, em relação aos isolados, caracterizou a existência de raças virulentas de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e resistência vertical incompleta em algodoeiro (VAN DER PLANK, 1984).

Essa afirmação é reforçada pelo fato da resistência do algodoeiro à ramulose ser monogênica (CARVALHO et alii, 1988) e por VAN DER PLANK (1968) ter caracterizado a resistência vertical como sendo geralmente mono ou oligogênica, sustentado pela teoria gene-a-gene de Flor.

Em trabalhos visando seleção de plantas resistentes à ramulose em condição de campo, normalmente se

utiliza mistura de isolados coletados em diversos locais onde ocorre a doença. Tal procedimento visa selecionar plantas sem resistência raça-específica, porém o resultado não indica necessariamente a natureza da resistência, pois variantes que poderiam quebrá-la podem não ter sido incluídos na mistura, por mais abrangente que tenha sido a coleta dos isolados. Desta maneira, evita-se a possibilidade de se usar um isolado com alta ou baixa patogenicidade, que poderia levar à interpretações errôneas.

Em decorrência disso e com base nos resultados do presente trabalho, nos experimentos seguintes, realizados com o objetivo de testar a resistência de diferentes genótipos ao patógeno, foram utilizadas misturas dos isolados.

5.3. Transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes de cinco genótipos de algodoeiro inoculados em dois estádios de desenvolvimento.

Por transmissão entende-se a transferência do patógeno da planta-mãe para a semente (transmissão planta-semente) ou da semente para a plântula (transmissão semente-plântula). Por se tratar de uma associação biológica, a taxa de transmissão é bastante influenciada pelo ambiente e pelas características inerentes do patógeno e ao hospedeiro.

Conforme comenta MACHADO (1988), a consta-

ção de plantas doentes leva a se supor que o patógeno seja transportado pelas sementes produzidas, proporcionalmente à incidência e à severidade de ocorrência da doença. No entanto, relatos de literatura têm demonstrado que nem sempre existe essa correlação positiva.

Os resultados do presente trabalho mostraram que, embora a inoculação 30 dias após a semeadura tenha resultado em maiores índices de doença, a incidência do patógeno nas sementes foi maior quando a inoculação foi efetuada em plantas com maçãs formadas (Tabelas 7 e 8).

Esses resultados estão de acordo LIMA et alii (1985) que, inoculando plantas de algodoeiro em quatro épocas diferentes, também verificaram ausência de correlação entre severidade da doença e porcentagem de sementes portadoras do patógeno. Foi observado que as sementes das plantas inoculadas com maçãs formadas transportaram o patógeno em maiores proporções do que quando a inoculação foi efetuada nas demais épocas. Os autores concluíram que a semente adquire o patógeno através do seu contacto com tecidos da maçã colonizados pelo fungo. Essa hipótese foi sustentada pelo fato do patógeno ter sido isolado de pequenas lesões encontradas na superfície das maçãs.

Essas lesões, mencionadas por LIMA et alii (1985), foram observadas nas maçãs das plantas inoculadas no presente trabalho, com mais frequência quando a

inoculação foi efetuada no estágio de maçãs formadas. Em câmara úmida, pôde-se observar estruturas do patógeno nessas lesões, consubstanciando a hipótese de que as sementes foram infectadas ou contaminadas pelo contacto com tecidos infectados da maçã.

Essa é uma possível explicação para os resultados encontrados, uma vez que as sementes produzidas nas maçãs com lesões provavelmente tiveram muito mais oportunidade de entrar em contacto com o patógeno e transportá-lo.

Esta hipótese é reforçada pelo fato da maioria dos fungos que infectam as plantas atingirem as sementes pela atuação ativa sobre os tecidos do fruto ou da própria semente (MACHADO, 1988).

As sementes produzidas pelas plantas inoculadas no estágio de maçãs formadas resultaram em maiores porcentagens de redução da emergência e de plântulas sobreviventes com sintomas (Tabelas 9 e 10). A inoculação nesse estágio resultou em maior transmissão semente-plântula. Tal resultado era esperado, uma vez que essas sementes apresentaram maiores porcentagens do patógeno.

Dentre os genótipos testados o cultivar IAC-12-2, embora tenha ocupado o penúltimo lugar no ordenamento quanto à suscetibilidade (Tabela 7) foi o que produziu sementes com maior incidência do fungo. Como consequência, para este cultivar foram observadas maiores

porcentagens de redução da emergência e de plântulas com sintomas (Tabelas 9 e 10).

A inoculação das plantas no estágio de maçãs formadas resultou, para todos os genótipos, em maiores porcentagens de transmissão do patógeno pelas sementes em comparação com a inoculação aos 30 dias após a semeadura (Tabela 11). As porcentagens de transmissão podem ser consideradas altas, mesmo para o cultivar EPAMIG-3, o genótipo mais resistente.

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, pode ser de grande valor em trabalhos de inspeção sanitária de campos. Essas informações permitem determinar em que época a incidência da doença na planta pode significar maiores riscos de contaminação ou infecção das sementes (MACHADO, 1988).

A linhagem Nu-15-79/117, o genótipo mais suscetível (Tabela 7), apresentou a maior porcentagem de transmissão pela semente. Porém, contrariamente ao esperado, a porcentagem de transmissão mais baixa não foi observada para o cultivar EPAMIG-3, o genótipo mais resistente, e sim, para o cultivar IAC-12-2.

Segundo MENTEN (1986), generalizando, quanto maior a resistência da planta-mãe, menor será a transmissão do patógeno para a semente, como também menor será a transmissão dessa semente para a plântula. No entanto,

os mecanismos de infecção das sementes e de transmissão podem ser independentes da suscetibilidade da planta-mãe.

Pela Tabela 9 verifica-se que para o cultivar IAC-12-2 a presença do patógeno nas sementes originou maior redução da porcentagem de emergência, em relação aos demais genótipos. Ou seja, para este cultivar o efeito do fungo é imediato, matando a plântula. Em decorrência disso, os genótipos com menor redução da emergência deram origem a plântulas sobreviventes com sintomas em maiores proporções do que as obtidas para o cultivar IAC-12-2, o que se verifica comparando as Tabelas 8 e 10. E como a porcentagem de transmissão foi calculada baseada nos dados destas duas tabelas, evidencia-se a coerência dos resultados obtidos, aparentemente contraditórios, para o cultivar IAC-12-2.

PIZZINATTO et alii (1988), utilizando os genótipos EPAMIG-3, IAC-12-2, IAC-10 e Nu-15-70/117, inoculados com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em condições de campo, verificaram que o cultivar IAC-12-2, embora tenha dado origem a sementes com maiores porcentagens do patógeno, apresentou a mais baixa taxa de transmissão, calculada através da porcentagem de plantas adultas com sintomas notas 4 e 5. Pelos resultados do presente trabalho, pode-se supor que a presença do patógeno nas sementes do cultivar IAC-12-2 resultou em maior redução da emergência do que nos demais genótipos. Nestes, a maior sobrevivência de plântulas infectadas pode

ter originado, proporcionalmente, maior número de plantas adultas com sintomas, que foram consideradas no cálculo da taxa de transmissão, originando os resultados encontrados.

5.4. Comparação de métodos de inoculação de sementes com *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*.

A assepsia superficial permitiu verificar se os patógenos estavam interna ou externamente associados às sementes, e portanto, a eficiência do método na obtenção de sementes infectadas. Para esta finalidade, o método 1, que consistiu no contacto das sementes com colônias do fungo, mostrou-se o mais eficiente, seguindo-se os métodos 3 (imersão 2 horas e secagem 16 horas) e 2 (imersão 30 minutos e secagem 2 horas), conforme as tabelas 15 e 19.

Na natureza, a maneira mais comum de associação de patógenos com as sementes é o transporte interno, com o inóculo presente nas camadas mais internas ou no embrião. É, portanto, de grande interesse a obtenção de sementes infectadas, de maneira semelhante à que ocorre naturalmente, para serem utilizadas em trabalhos sobre transmissão ou epidemiologia.

Os métodos 2 e 3, com algumas variações, têm sido usados com relativa frequência para inocular sementes de algodão com *Colletotrichum* (BALMER et alii,

1966; HALFON-MEIRI & VOLCANI, 1977; LIMA, 1981; FOLLIN & MANGANO, 1983). O método 1, já utilizado por COSTA (1939), e avaliado com mais detalhes por TANAKA et alii (1987), não tem sido utilizado.

Considerando que o grau de umidade das sementes deslindadas e com assepsia (condição antes da inoculação) era de 9,1%, a inoculação com os métodos 1, 2 e 3 elevou essa umidade em 3,9, 2,6 e 5,9 pontos percentuais, respectivamente. Após armazenamento durante um mês em condições de laboratório, em sacos de papel, a umidade das sementes inoculadas pelos métodos 1 e 2 estava praticamente idêntica à das sementes que sofreram apenas assepsia. As sementes inoculadas pelo método 3, após o mesmo período de armazenamento encontravam-se com 11,2% de umidade, portanto 2,1 pontos percentuais acima da umidade das sementes não inoculadas.

Conseqüentemente ressalta-se como desvantagem do método 3 um acréscimo no grau de umidade das sementes, provocado pela imersão das mesmas na suspensão de inóculo durante duas horas. Essa elevação da umidade pode provocar a perda da viabilidade das sementes e impossibilitar o seu armazenamento. No entanto, essa desvantagem não é relevante se as sementes forem utilizadas logo após a inoculação, como aconteceu no presente trabalho. E como vantagens deste método podem ser citadas a possibilidade de se utilizar inóculo com concentração conhecida e desejada, além da eficiência na obtenção de sementes infectadas.

O método 2, por sua vez, embora não apresente o inconveniente da elevação do grau de umidade e permita padronizar o inóculo na concentração desejada, foi o menos eficiente na obtenção de sementes infectadas.

O método 1 apresenta como vantagens a facilidade de execução, a eficiência na infecção nas sementes e a pequena elevação do grau de umidade, permitindo o armazenamento das sementes infectadas e não restringindo o seu uso para logo após a inoculação. Nos outros dois métodos, principalmente no método 2, grande parte do inóculo fica em associação externa com as sementes, com menor possibilidade de ocorrer infecção da plântula que dela será originada. Além disso, a semente apenas molhada na suspensão de inóculo, ao ser secada ao ar, poderá resultar na morte da maioria dos conídios por ressecamento. Evidencia-se como desvantagem do método 1 a impossibilidade de padronização do inóculo, o que inviabiliza a sua utilização quando é necessário misturar diferentes isolados em quantidades iguais e na mesma concentração.

5.5. Patogenicidade de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* a cinco genótipos de algodoeiro, através de inoculação das sementes.

Para esta etapa do trabalho, embora o método 1 tenha se mostrado o mais eficiente na obtenção de

sementes infectadas, o método 3 foi escolhido por permitir a infecção das sementes em nível satisfatório e utilização do inóculo na concentração desejada.

Comparando os dois patógenos, em valores médios, o efeito de *C. gossypii* sobre os parâmetros avaliados foi maior, apesar desta comparação não ter sido feita ao nível estatístico (Tabelas 22 e 23). Estes dados confirmam observações feitas por FOLLIN & MANGANO (1983), que consideraram *C. gossypii* muito mais patogênico que *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, em virtude do primeiro ter provocado sintomas mais severos e com maior rapidez. Os citados autores afirmaram que a infecção por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* resulta em menor porcentagem de plântulas mortas, provenientes de sementes inoculadas por método bastante semelhante ao do presente trabalho, num período de dez dias de observação. No entanto, essas afirmações foram baseadas em apenas um isolado de cada patógeno.

Pelos resultados das Tabelas 12 a 21 observa-se que houve grande variação na patogenicidade dos isolados testados. Se nesta etapa do trabalho tivessem sido utilizados os isolados CA₃ de *C. gossypii* (o mais patogênico) e CR₄ de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (o menos patogênico), ao invés de uma mistura de isolados de cada patógeno, provavelmente os resultados se aproximassem ainda mais daqueles de FOLLIN & MANGANO (1983).

Confrontando os resultados da Tabela 23,

referentes a *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, com aqueles das Tabelas 9 e 10, observa-se que a inoculação artificial das sementes resultou em efeito muito mais drástico do patógeno do que a associação natural, através da planta doente. Verifica-se, porém, que o comportamento dos genótipos testados seguiu a mesma tendência. Assim, o cultivar EPAMIG-3 comportou-se como o mais resistente no estágio de plântula, enquanto que o cultivar IAC-12-2 e a linhagem Nu-15-79/117, como os mais suscetíveis. Os cultivares IAC-20 e IAPAR-4-PR-1 ficaram, de modo geral, em posição intermediária.

Os resultados das Tabelas 9, 10 e 23 podem ser comparados com aqueles da Tabela 7, que retrata o comportamento dos mesmos genótipos quanto ao superbrotamento em plantas adultas. Observa-se que o cultivar EPAMIG-3 e a linhagem Nu-15-79/117 foram os genótipos mais resistente e mais suscetível, respectivamente, também em planta adulta. Os cultivares IAC-20 e IAPAR-4-PR-1, de modo análogo, permaneceram em posição intermediária. No entanto, o cultivar IAC-12-2 comportou-se como moderadamente resistente ao superbrotamento, tendo sido o mais suscetível no estágio de plântula.

Este resultado pode ser interpretado de modo semelhante ao adotado para os dados da Tabela 9. Ou seja, a associação do patógeno com as sementes do cultivar IAC-12-2 tem um efeito imediato, matando as plântulas.

Esses resultados confirmam evidências encontradas por LIMA (1981) que, trabalhando com o mesmo patógeno, inoculado em três cultivares e sete linhagens de algodoeiro, concluiu que provavelmente uma planta resistente ao tombamento não é, necessariamente resistente ao superbrotamento, e vice-versa.

6. CONCLUSÕES.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram extrair as seguintes conclusões :

- A patogenicidade dos isolados testados, de ambos patógenos, não foi correlacionada com o seu crescimento linear, havendo, no entanto, correlação positiva entre a esporulação e a patogenicidade.

- Existe variação fisiológica e patogênica entre isolados de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e variação na resistência exibida por diferentes genótipos de algodoeiro aos patógenos.

- Evidenciou-se a ocorrência de raças virulentas de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* e resistência vertical incompleta no hospedeiro.

- A inoculação no estágio de maçãs formadas, comparada à inoculação 30 dias após a semeadura, resultou em maior associação do patógeno com as sementes produzidas.

- Nem sempre a resistência à ramulose em planta adulta foi correlacionada com a resistência no estágio de plântula, com a porcentagem do patógeno nas sementes, ou com a porcentagem de transmissão semente-plântula.

- O método de inoculação de sementes que consistiu no contacto das mesmas com culturas dos fungos durante 24 horas, seguidas de secagem por 24 horas, apresentou maior eficiência na obtenção de sementes infectadas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ABRAHÃO, J. Manifestação tardia da ramulose ou superbrotamento do algodoeiro. *O Biológico*, São Paulo, 18:135-138, 1952.
- ABRAHÃO, J. Combate à ramulose tardia do algodoeiro. *O Biológico*, São Paulo, 27:121-123, 1961.
- ABRAHÃO, J. & COSTA, A.S. Instruções para o reconhecimento da "ramulose" do algodoeiro. *O Biológico*, São Paulo, 15:59-60, 1949.
- ARANTES, E.M.; FUZATTO, M.G.; CHIAVEGATO, E.J.; CIA, E. Comportamento de variedades nacionais de algodoeiro em Mato Grosso, na presença de ramulose. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 4., Belém, 1986. Resumo. Belém, EMBRAPA, 1986. p.25.
- ARAÚJO, F.E.; CAVALCANTE, R.D.; CAVALCANTE, M.L.S. Ocorrência de ramulose em algodoeiro herbáceo no Ceará. *Fitossanidade*, Fortaleza, 2:89, 1978.
- ARNDT, C.H. Effect of storage conditions on survival of *Colletotrichum gossypii*. *Phytopathology*, St. Paul, 36:24-29, 1946.

BALMER, E.; SALGADO, C.L.; CIA, E.; CAMPOS, H. Efeito do potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. sobre o tombamento das mudinhas do algodoeiro. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 23:325-338, 1966.

CARVALHO, I. Aspectos fisiológicos do fungo *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* Costa. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 4:1-2, 1971.

CARVALHO, L.P.; CARVALHO, J.M.F.C.; LIMA, E.F.; CAVALCANTE, F.B. Influência da concentração de esporos na patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* A.S. Costa e avaliação da resistência de cultivares e linhagens de algodoeiro herbáceo à ramulose. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 6:395-402, 1981a.

CARVALHO, L.P.; CAVALCANTE, F.B.; LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C. Determinação de método de amostragem na avaliação de ramulose no algodoeiro em condições de campo sob infecção natural. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 6:403-407, 1981b.

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

CARVALHO, L.P.; LIMA, E.F.; RAMALHO, F.S.; LUKEFAHR, M.J.; CARVALHO, J.M.F.C. Influência da pilosidade do algodoeiro na expressão de sintomas de ramulose. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 10:649-654, 1985.

- CARVALHO, J.M.F.C.; LIMA, E.F.; CARVALHO, O.S.; CARVALHO, L.P. Identificação de fonte de resistência à ramulose em linhagens de algodoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 4., Belém, 1986. Resumo. Belém, EMBRAPA-CNPA, 1986. p.105.
- CARVALHO, L.P.; LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; MOREIRA, J.A.N. Herança da resistência à ramulose do algodoeiro (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*). Fitopatologia Brasileira, Brasília, 13:10-15, 1988.
- CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. Summa Phytopathologica, Piracicaba, 3:187-193, 1977.
- CIA, E.; GRIDI-PAPP, I.L.; FUZATTO, M.G. Avaliação de linhagens e variedades para resistência múltipla à doenças do algodoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 2., Salvador, 1982. Resumo. Campina Grande, EMBRAPA - CNPA, 1982a. p.239.
- CIA, E.; FUZATTO, M.G.; GRIDI-PAPP, I.L.; SOAVE, J.; CIONE, J. Avaliação da incidência de ramulose do algodoeiro através de inoculação artificial. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 2., Salvador, 1982. Resumo. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 1982b. p.241.
- CIA, E.; FUZATTO, M.G.; GRIDI-PAPP, I.L.; CHIAVEGATO, E.J.; DUDIENAS, C.; CAMARGO, A.P.; CAMPANA, M.P.; LELIS, L.G. Comportamento dos materiais genéticos estudados nos ensaios nacional e regional paulista de variedades em 1986/87 em face de doenças e nematóides. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 5., Campina Grande, 1988. Resumo. p.27. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 1988a. p.27.

CIA, E.; FUZZATTO, M.G.; GRIDI-PAPP, I.L.; CHIAVEGATO, E.J.; DUDIENAS, C.; CAMARGO, A.P.; CAMPANA, M.P.; LELIS, L.G.L.; BORTOLETTO, N.; PAULO, E.M.; KASAI, F.S. Comportamento de materiais genéticos estudados nos ensaios nacional e regional paulista de variedades em 1987/88 em face das doenças e nematóides. In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 5., Campina Grande, 1988. Resumo. p.28. Campina Grande, EMBRAPA/CNPA, 1988b. p.28.

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

COSTA, A.S. Investigações sobre a ramulose. Relatório da Seção de Algodão do Instituto Agronômico de Campinas. 42p., 1941.

COSTA, A.S. & FRAGA JÚNIOR, C.G. Superbrotamento ou ramulose do algodoeiro. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 12:249-252, 1937.

COSTA, A.S. & FRAGA JÚNIOR, C.G. Sobre a natureza da ramulose ou superbrotamento do algodoeiro. *Jornal de Agronomia*, Piracicaba, 2:151-160, 1939.

COSTA, A.S. & SANTOS NETO, J.A. O deslincamento das sementes de algodão pelo ácido sulfúrico em comparação com outros tratamentos. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 15:120-132, 1940.

DHINGRA, O.D. & KUSHALAPPA, A.C. No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in been by *Isariopsis griseola*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 5:149-152, 1980.

- DHINGRA, O.D.; FERNANDEZ, C.M.A.; KUSHALAPPA, A.C. Lack of relationship between field incidence of bean anthracnose and production of seeds, transmitting *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 11:95-101, 1986.
- FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico*, São Paulo, 33:9-13, 1967.
- FOLLIN, J.C. & MANGANO, V. Etude sur la ramulose du cotonnier. *Cotton et Fibres Tropicales*, Paris, 38:209-215, 1983.
- GOMES, I.C. Avaliação da reação de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) a raça alfa de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. e transmissão do patógeno por sementes. Viçosa, 1979. 118p. (Mestrado-Universidade Federal de Viçosa/UFV).
- HALFON-MEIRI, A. & VOLCANI, Z. A combined method for detecting *Colletotrichum gossypii* and *Xanthomonas malvacearum* in cotton seed. *Seed Science and Technology*, Zurich, 5:129-139, 1977.
- KIMATI, H. Doenças do algodoeiro - *Gossypium* spp. In: GALLI, F., ed *Manual de Fitopatologia*. São Paulo, Editora Ceres, 1980. Vol. II, p.29-48.
- KUROZAWA, C.; NAKAGAWA, T.; DOI, T.; MELOTTO, E. Comportamento de 13 cultivares de gergelim (*Sesamum indicum*) à *Cercospora sesami*, sua transmissibilidade por sementes e controle. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10:117-122, 1985.

- LASCA, C.C.; ROLIM, P.R.R.; BRIGNANI NETO, F.; ROSTON, A.J. Estudos preliminares sobre a relação entre ocorrência de antracnose em cultura de feijão e infecção de sementes por *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 5:412, 1980.
- LIMA, E.F. Variabilidade de *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* A.S. Costa e avaliação da resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose. Viçosa, 1981. 47p. (Mestrado-Universidade Federal de Viçosa/UFV).
- LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P.; SANTOS, E.O.; CARVALHO, J.M.F.C. Avaliação de germoplasma de algodoeiro para resistência à ramulose causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 9:561-565, 1984.
- 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, 10:99-109, 1985.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P.; CARVALHO, J.M.F.C. Seleção para resistência à ramulose em algumas cultivares e linhagens de algodoeiro (*G. hirsutum* L. r. *latifolium* HUTCH). In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 4., Belém, 1986. Resumo. Belém, EMBRAPA, 1986. p.104.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P. Sobrevivência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium*). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 13:247-248, 1988.

- LUDWIG, C.A. Studies of anthracnose infection in cotton seed. *Phytopathology*, St. Paul, 14:52, 1924.
- MACHADO, J.C. *Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações*. Brasília, Ministério da Educação, ESAL/FAEPE, 1988. 107p.
- MALAGUTTI, G. La escobilla del algodón en Venezuela. *Agronomia Tropical*, Maracay, 5:73-83, 1955.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. Avaliação da qualidade das sementes. FEALQ, Piracicaba, 230p., 1987.
- MATHIESON, J.T. & MANGANO, V. Ramulose, a new cotton disease in Paraguay caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 11:115-118, 1985.
- McKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Jour. Agric. Res.*, Washington, 26:195-219, 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.17-9.
- NEERGAARD, P. *Seed Pathology*. London, McMillan Press, 2 ed., 1979. 1190p.
- PIZZINATTO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J. & WEIZEL, M.M.V.S., ed. *Patologia de Sementes*. Campinas, Fundação Cargill, 1987, p.331-346.

- PIZZINATTO, M.A. & CIA, E. Relação entre incidência de ramulose do algodoeiro em campo e detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 13:15, 1987.
- PIZZINATTO, M.A.; CIA, E.; FUZATO, M.G. Estudos preliminares sobre a transmissão de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* por sementes de algodão e sua disseminação em campo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 13:111, 1988.
- TANAKA, M.A.S. Doenças do algodoeiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 02:70-73, 1982.
- TANAKA, M.A.S.; MARIANO, M.I.A.; MENTEN, J.O.M. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição. *Summa Phitopathologica Jaguariúna*, 15:232-237, 1989.
- TÓFFANO, W.B. & SILVEIRA, A.P. Fusariose e ramulose do algodoeiro. Campinas, Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, DATE/SIR, série D/n^o 8. 16p., 1964.
- VAN DER PLANK, J.E. *Disease Resistance in Plants*. New York, Academic Press, 1968. 206p.
- VAN DER PLANK, J.E. *Principles of Plant Protection*. New York, Academic Press, 1975. 216p.
- VAN DER PLANK, J.E. *Disease Resistance in Plants*. 2.ed. Orlando, Academic Press, 1984. 194p.
- WATKINS, G.M. *Compendium of Cotton Diseases*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1981. 87p.

8. APÊNDICE.

Apêndice 1 - Diferenças mínimas significativas (DMS), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey, utilizadas nas médias das Tabelas 2 a 23.

TABELAS	MÉDIAS COMPARADAS	DMS ^a
2	Isolados incubados após 144 h.	0,29
3	Isolados incubados após 144 h.	0,19
4	Isolados	9,66
4	Meios de cultura	3,73
4	Isolados dentro de meios de cultura	13,66
4	Meios dentro de isolados	9,13
5	Isolados	17,12
5	Meios de cultura	6,60
5	Isolados dentro de meios de cultura	24,21
5	Meios dentro de isolados	16,18
6	Genótipos	3,87
6	Genótipos dentro de isolados	9,47
7	Genótipos	6,21
7	Épocas de inoculação	2,34
7	Genótipos dentro de épocas	7,38
7	Épocas dentro de genótipos	6,22
8	Genótipos	4,17
8	Épocas de inoculação	1,86

(Continua ...)

Continuação

TABELAS	MEDIAS COMPARADAS	DMS
8	Genótipos dentro de épocas	5,90
8	Épocas dentro de genótipos	4,15
9	Genótipos	0,37
9	Épocas de inoculação	0,37
9	Genótipos dentro de épocas	0,53
9	Épocas dentro de genótipos	0,36
10	Genótipos	0,91
10	Épocas de inoculação	0,40
10	Genótipos dentro de épocas	1,28
10	Épocas dentro de genótipos	0,90
12	Isolados	9,12
12	Assepsia	3,09
13	Isolados	6,83
13	Assepsia	2,67
14	Isolados	11,14
14	Assepsia	4,35
15	Métodos	2,90
15	Assepsia	1,90
15	Métodos dentro de assepsia	4,90
15	Assepsias dentro de método	3,32
16	Assepsia	3,54
17	Assepsia	4,19
18	Assepsia	5,32
19	Métodos	3,62
19	Assepsia	2,39
19	Métodos dentro de assepsia	5,12
19	Assepsias dentro de método	4,14
20	Plântulas com sintomas (método 1)	0,85
20	Redução da emergência (método 1)	6,90

(Continua ...)

Continuação

TABELAS	MÉDIAS COMPARADAS	DMS
20	Plântulas com sintomas (método 2)	1,18
20	Redução da emergência (método 2)	11,22
20	Plântulas com sintomas (método 3)	0,84
20	Redução da emergência (método 3)	9,88
21	Plântulas com sintomas (método 1)	0,87
21	Redução da emergência (método 1)	8,06
21	Redução da emergência (método 2)	5,66
21	Plântulas com sintomas (método 3)	0,79
21	Redução da emergência (método 3)	6,52
22	Sementes mortas (ramulose)	8,55
22	Radículas apodrecidas (ramulose)	11,13
22	Incidência total (ramulose)	15,75
22	Sementes mortas (antracnose)	7,51
22	Radículas apodrecidas (antracnose)	10,10
22	Incidência total (antracnose)	10,94
23	Plântulas com sintomas (ramulose)	0,76
23	Redução da emergência (ramulose)	12,04
23	Plântulas com sintomas (antracnose)	0,54
23	Redução da emergência (antracnose)	14,02

^a Valores referentes às Tabelas 2 a 5, para comparar dados reais e referentes às demais, para comparar dados transformados.