

Efeito de restritores hídricos sobre a germinação, comprimento da radícula e níveis de detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão

Alderi Emídio de Araújo^{1*}, José Otávio Machado Menten²; Carlos Tadeu dos Santos Dias³, Ana Beatriz Costa Czermainski⁴; José Wellington dos Santos¹ Maria Heloísa Duarte Moraes²

¹Embrapa Algodão, CP 174, CEP 58428-095, Campina Grande-PB. ²ESALQ/USP, Departamento de Fitopatologia, Laboratório de Patologia de Sementes; ³ESALQ/USP, Departamento de Ciências Exatas, Av. Pádua Dias, 11, CP 9, CEP 13418-900, Piracicaba-SP; ⁴Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento, 515, CP 130, CEP: 95700-000, Bento Gonçalves-RS. *Parte de Tese de Doutorado do primeiro autor apresentado à Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Bolsista CNPq.

Autor para correspondência: Alderi Emídio de Araújo (alderi@cnpa.embrapa.br)

Data de chegada: 13/02/2008. Aceito para publicação em: 02/01/2012.

1571

RESUMO

Araújo, A.E.; Menten, J.O.M.; Dias, C.T.S.; Czermainski, A.B.C.; Santos, J.W.; Moraes, M.H.D. Efeito de restritores hídricos sobre a germinação, comprimento da radícula e níveis de detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão. *Summa Phytopathologica*, v.38, n.1, p.79-83, 2012.

O fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, agente causal da ramulose do algodoeiro, é transmitido pela semente que se constitui em uma das mais importantes fontes de inóculo inicial e de introdução da doença em áreas indenes. Para que se possa identificar sua presença em lotes de sementes, é importante que se empreguem métodos de detecção rápidos e seguros. O mais empregado é o do papel de filtro, que se baseia na avaliação de sinais do patógeno desenvolvidos sobre as sementes, seguida da sua identificação morfológica. O método apresenta a desvantagem do crescimento das plântulas no período de incubação das sementes que pode favorecer o desenvolvimento de outros fungos e prejudicar a caracterização do patógeno. Para minimizar este problema vem sendo empregada a técnica da restrição hídrica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de três solutos em dois

potenciais osmóticos, comparados ao tratamento padrão de água destilada, ao congelamento e ao 2,4 D, sobre a germinação, comprimento da radícula e detecção do agente causal da ramulose, durante o teste de sanidade. Os solutos Manitol e NaCl foram mais eficientes em inibir a germinação e favorecer a incidência do patógeno no potencial osmótico de -0,8 MPa. O KCl mostrou-se eficiente em inibir a germinação nos dois potenciais osmóticos testados, -0,6 e -0,8 MPa, porém reduziu a incidência do patógeno no potencial de -0,8 MPa. Os solutos Manitol, nos potenciais osmóticos de -0,8 e -0,6 MPa e o NaCl no potencial osmótico de -0,8 foram eficientes em reduzir o comprimento da radícula, sem interferir negativamente nos níveis de detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, podendo ser recomendados para uso em análises sanitárias de rotina.

Palavras-chave adicionais: Fungo, Restrição Hídrica, Incidência, Potencial Osmótico, Ramulose

ABSTRACT

Araújo, A.E.; Menten, J.O.M.; Dias, C.T.S.; Czermainski, A.B.C.; Santos, J.W.; Moraes, M.H.D. Effect of water restrictors on the germination, radicle length and detection levels of *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* in cotton seeds. *Summa Phytopathologica*, v.38, n.1, p.79-83, 2012.

The fungus *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, causal agent of ramulosis of cotton, is transmitted by seeds and is one the most important source of inoculum and the introduction of disease in health areas. To detect the pathogen in the cotton seeds it is important the use of a safe and quick method. The common method is the blotter test which is based on the evaluation of pathogen growing on the seeds and the morphological identification of pathogens. The method presents the disadvantage of seedlings growing during the seeds incubation period, which can be favorable to development of contaminants fungi and to difficult the identification of main pathogen. To avoid this problem the water restriction technique had been used. The objective of this research to study the effect of water restriction in the blotter method with manitol, NaCl and

KCl, in two osmotic potential, -0,6 and -0,8, compared to pattern of distilled water and 2,4 D added to the substrate and the freezing technique, in relation to seed germination, radicle elongation and incidence of the pathogen on the seeds. The manitol and NaCl, with osmotic potential of -0,8 MPa were more efficient to inhibit the germination and promoted higher incidence of the pathogen. The KCl was efficient to inhibit the germination in the two osmotic potentials of -0,6 and -0,8, but the incidence of the pathogen was reduced. The manitol and NaCl in the osmotic potential of -0,8 MPa were efficient to reduce the germination and radicle elongation but not reduced the incidence of the pathogen on the seeds. This technique can be used in routine health test to detect *C. gossypii* var. *cephalosporioides* in seed cotton.

Keywords: Fungus, Water Restriction; Incidence; Osmotic Potential, Ramulosis

A ramulose, causada por *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides* Costa, se constitui em uma das mais importantes doenças do algodoeiro no Brasil. O fungo é transportado e transmitido pela semente, a qual se constitui em importante fonte de inóculo primário.

A taxa de utilização de sementes de algodão é estimada em cerca de 56% (17). Essa taxa ainda é considerada baixa pela indústria de sementes, tendo em vista os benefícios obtidos pelo produtor quando da utilização de sementes melhoradas e certificadas. Um dos aspectos importantes no que se refere à utilização de sementes selecionadas diz respeito ao controle sobre sua qualidade fisiológica e sanitária, que assegura melhor germinação, maior vigor das plântulas e baixos índices de doenças iniciais, no que resulta em estande uniforme e baixa taxa de replantio.

A obtenção de sementes de algodoeiro com boa qualidade sanitária envolve uma série de práticas que devem resultar em um padrão de sanidade que evite os danos decorrentes da elevação do inóculo inicial pelo plantio de sementes que sejam veículo de disseminação de patógenos.

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

Neste sentido foram definidas, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento normas específicas e padrões de identidade para produção e comercialização de sementes de diversas culturas, incluindo o algodão (5). O padrão de sanidade em nível de campo para *C. gossypii* var. *cephalosporioides* é zero para as sementes C1 e C2 e 2% para as sementes S1 e S2.

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

O método empregado, normalmente, para a detecção do agente causal da ramulose é o do papel de filtro que se baseia na avaliação de sinais do patógeno desenvolvido sobre as sementes, seguida da sua identificação morfológica, e ou, sintomas nas plântulas (19), cujos resultados têm sido satisfatórios. Entretanto uma das desvantagens do método é o crescimento das plântulas durante o período de incubação das sementes que, muitas vezes, pode criar condições para o desenvolvimento de fungos indesejáveis e prejudicar a visualização e caracterização do patógeno (2, 9). Visando minimizar esse problema, assim como aumentar a sensibilidade do método têm sido utilizadas técnicas para inibir a germinação.

Essas técnicas constituem variações do método do papel de filtro e entre as mais utilizadas destacam-se o congelamento e o uso de solução de 2,4 D (13, 20). Entretanto o uso do 2,4 D apresenta a desvantagem da manipulação de um produto tóxico, enquanto o congelamento necessita de ampliação da logística do laboratório visando a utilização de freezer e a transferência de material incubado de um local para outro resulta em dispêndio de tempo e mão-de-obra. O uso da restrição hídrica tem se mostrado eficiente para inibir a germinação das sementes em testes de sanidade como alternativa aos métodos tradicionais (6, 8), e vem sendo empregado com sucesso em testes de sanidade de sementes de algodão (12,

14). Entretanto deve-se ressaltar que, em que pese a eficiência destas variações, é importante maximizar os benefícios de seu emprego, tendo em vista que as mesmas sempre representarão custos adicionais ao método do papel de filtro.

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

MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Patologia de sementes da ESALQ/USP. Utilizou-se o isolado 242 de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, obtido no estado de Goiás e pertencente à micoteca da Embrapa Algodão, Campina Grande-PB. O isolado foi repicado para placas de Petri com meio de cultura BDA onde se manteve em crescimento até dez dias.

Inoculação das sementes

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

Restritores hídricos

Utilizaram-se manitol, KCl e NaCl nas concentrações de -0,6 e -0,8 MPa. Para obtenção da quantidade de soluto empregado utilizou-se o software SPPM (18). O 2,4 D foi utilizado na concentração de 10µg/ml e o congelamento foi realizado como descrito em Brasil (4). No cálculo das soluções osmóticas foi utilizada a temperatura de 20°C.

Teste de sanidade

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

Delineamento experimental e análise estatística

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

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste *t* e de Tukey, através do procedimento GLM do software de estatística SAS® (22).

Os dados de percentagem de incidência foram transformados para $x^{(2,3)}$ visando atender aos pressupostos da análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de sanidade pelo método do papel de filtro sem o uso de restritores hídricos, realizado com o objetivo de verificar a eficiência da inoculação, a incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, foi de 96%. Esse resultado é compatível com aquele obtido por Tanaka & Menten (24), ratificando assim a eficiência do método. Mesmo após a assepsia superficial realizada com hipoclorito de sódio a 2%, por um minuto, os níveis de incidência do patógeno nas sementes permaneceram elevados, sendo reduzidos em 3% para 93%.

Não estava incluído nos propósitos deste trabalho, comparar a eficiência de métodos de inoculação, mas tão somente empregar um método que permitisse obter uma quantidade de inóculo nas sementes, necessário à avaliação do desempenho de inibidores de germinação, quanto à eficiência na detecção do patógeno. Entretanto convém ressaltar que, mais recentemente, utilizando a técnica de restrição hídrica, Machado et al. (16) obtiveram percentuais de incidência do patógeno nas sementes acima de 80%, quando utilizaram potencial osmótico de -0,8 MPa. Também Celano (7) obteve percentual de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, de cerca de 75%, quando inoculou sementes de algodoeiro empregando o método da restrição hídrica. Os autores argumentam que a inoculação por esse método permite a infecção pelo patógeno de maneira mais efetiva, evitando, assim, apenas a contaminação superficial.

Com base na análise de variância observou-se significância para os restritores hídricos, e para a interação restritores x potencial osmótico em relação às variáveis estudadas (Tabela 1). Os resultados dos contrastes entre os solutos e suas concentrações e os tratamentos adicionais separadamente, permitiram verificar que os solutos foram mais eficientes em reduzir o percentual de germinação e o comprimento da radícula, bem como induziram maior incidência do patógeno nas sementes em relação aos tratamentos Água destilada, Congelamento e 2,4D. As sementes submetidas ao congelamento não germinaram, porém a incidência do patógeno nesse tratamento foi baixa (Tabela 2). Os dados do presente trabalho concordam com aqueles obtidos por Machado (14) que observaram menor percentagem de germinação e menor comprimento de radícula, em teste de sanidade de sementes de

algodoeiro, empregando os solutos NaCl e Manitol, em relação à água destilada e ao 2,4 D.

O potencial osmótico de -0,8 MPa foi mais eficiente em inibir a germinação das sementes, em relação ao potencial de -0,6 MPa, tanto quando se empregou o soluto Manitol como restritor hídrico quanto o NaCl. O soluto KCl mostrou-se eficiente em inibir a germinação nos dois potenciais osmóticos utilizados (Tabela 2). Esses resultados também estão de acordo com aqueles obtidos por Machado (14) que empregando NaCl e Manitol nos potenciais osmóticos de -0,8 MPa observou maior redução na percentagem de germinação das sementes e comprimento das plântulas de algodoeiro, em relação ao potencial de -0,6 MPa e semelhante à obtida como uso de 2,4 D como inibidor de germinação. Neste trabalho, embora o soluto Manitol não tenha sido eficiente em reduzir a germinação no potencial osmótico de -0,6 MPa, mostrou-se eficiente em reduzir o comprimento da radícula, fator importante nos ensaios de detecção de patógenos nas sementes.

Braccini et al. (3), trabalhando com sementes de soja, verificaram que potenciais osmóticos inferiores a -0,3 MPa foram críticos para a germinação das sementes, enquanto Farias et al. (10), avaliando o efeito da restrição hídrica induzida por diferentes solutos sobre a germinação de sementes de trigo e milho, constataram que o percentual de germinação das sementes foi drasticamente reduzido com o aumento no nível de restrição hídrica aplicada ao substrato. O Manitol induziu níveis de germinação próximos a zero quando utilizado em potenciais osmóticos inferiores a -0,8

Assim como foi observado em sementes de milho e trigo por Farias et al. (10) que constataram redução nos níveis de germinação para zero e 1% respectivamente, neste trabalho o KCl foi eficiente na redução dos níveis de germinação das sementes de algodoeiro nos potenciais osmóticos de -0,8 e -0,6 MPa, porém não atingindo os níveis obtidos por aqueles autores.

Coutinho et al. (8) também constataram que o NaCl e o KCl, utilizados nos potenciais osmóticos de -0,6 e -0,7 MPa, induziram ou retardaram a germinação de plântulas de arroz e feijão em teste de sanidade de sementes dessas espécies pelo método do papel de filtro.

O aspecto fundamental que faz o uso de restritores hídricos ganhar importância na realização de testes de sanidade de sementes é a germinação e o conseqüente crescimento da radícula durante o período de incubação, dificultando a visualização de patógenos associados às mesmas bem como, em alguns casos, aumentando a probabilidade da ocorrência de contaminações externas. Neste sentido, em que pese a

Tabela 1. Quadro de análise de variância do efeito de restritores hídricos sobre a Germinação, Incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e Comprimento da Radícula de sementes de algodoeiro.

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrados Médios		
		Germinação (%)	Incidência (%)	Comprimento de Radícula (cm ³)
Restritor hídrico (R)	2	216,126**	632,667**	32,264**
Potencial osmótico (P)	1	975,370**	266,667*	15,892**
R x P	2	338,625**	1538,667**	23,449**
Fatorial vs testemunhas	1	183,68**	1120,222**	26,028**
Entre testemunhas	2	12.417,33**	472,333**	1293,463**
Tratamentos	(8)	3387,903**	834,278**	342,5343**
Erro	27	20,212	39,370	1,994
Coefficiente de variação (%)		6,67	9,40	10,83

**Significativo a 1% de probabilidade

* Significativo a 5% de probabilidade

germinação ser uma variável importante, o comprimento da radícula ganha maior dimensão que àquela, no que se refere à exequibilidade do teste de sanidade.

Machado et al. (15) observaram redução crescente do comprimento da radícula em sementes de soja com a crescente elevação da restrição hídrica. Os mesmos resultados foram obtidos por Coutinho et al (8) que constataram aumento na inibição do crescimento da radícula em sementes de arroz e feijão, quando a restrição hídrica do substrato foi elevada, utilizando os solutos Manitol, NaCl e KCl.

O congelamento interferiu de maneira significativa na germinação das sementes de algodoeiro impedindo que esta ocorresse. Rey et al. (21), trabalhando com restritores hídricos para inibir a germinação de sementes de trigo e milho, também verificaram que o congelamento reduziu os níveis de germinação a zero. Problemas fisiológicos associados ao congelamento de sementes, provavelmente seja um fator de desestímulo ao seu emprego como inibidor de germinação em sementes de algodoeiro. Farias et al. (10) afirmam que o congelamento induz a morte das sementes pela ruptura das células, liberando exsudatos que são drenados no substrato de papel, podendo induzir contaminações por fungos secundários. Embora não quantificado, esse problema não foi observado no presente trabalho. Entretanto, os níveis de incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* foram muito baixos comparados aos demais tratamentos, tanto a água destilada e 2,4 D, quanto aqueles onde foram empregados os solutos.

A literatura é escassa no que se refere à avaliação comparativa do congelamento com outros métodos empregados para inibir a germinação de sementes no teste de sanidade. O método é rotineiramente utilizado na detecção de fungos em sementes de gramíneas como arroz, trigo, cevada e milho (8; 11, 25). Barba et al. (2) trabalhando com diferentes métodos de detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada, incluindo meios seletivos, não constataram diferenças na detecção do patógeno quando as sementes foram submetidas ao congelamento. Farias et al. (10) também não constataram diferenças entre o congelamento e a restrição hídrica na detecção de fungos associados a sementes de milho e trigo. Por outro lado Athayde Sobrinho et al. (1) trabalhando com sementes de feijão caupi e diferentes inibidores de germinação, verificaram que o congelamento inibiu a expressão de *Macrophomina phaseolina*, cujos valores foram significativamente inferiores aos tratamentos com NaCl, KCl e Manitol em concentrações que variaram de -0,6 MPa a -0,9 MPa. Neste trabalho, o congelamento foi eficiente para impedir a germinação das sementes, porém reduziu também os níveis de detecção do patógeno. Neste sentido, o método não é recomendável para a detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*

Uma preocupação recorrente em testes de sanidade empregando-se a restrição hídrica é quanto à possibilidade de inibição do crescimento

fúngico prejudicar a sua detecção. Entretanto, neste trabalho, o potencial osmótico de -0,8 MPa, tanto para o Manitol quanto para o NaCl, mostrou-se mais eficiente em favorecer a incidência do patógeno nas sementes e, por conseguinte, a sua detecção, em relação ao potencial osmótico de -0,6 MPa (Tabela 2). Farias et al. (10) verificaram que a restrição hídrica induzida em sementes de milho e trigo por NaCl, KCl e Manitol não prejudicou a detecção de fungos como *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* e *Penicillium*.

Trabalhando com uma amplitude maior de potenciais osmóticos, Machado (14) observou que a restrição hídrica induzida por NaCl, em potenciais osmóticos variando entre -0,6 e -1,2 MPa, não afetou a detecção de *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro

Do mesmo modo Machado et al. (16) avaliaram o efeito da restrição hídrica imposta por Manitol em potenciais osmóticos variando entre -0,4 e -1,0 MPa e constataram que o crescimento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* não foi afetado.

Neste trabalho, o KCl, reduziu a incidência do patógeno nas sementes no potencial osmótico de -0,8 MPa. Os contrastes entre a média da incidência do patógeno obtida com este tratamento e as médias dos tratamentos padrões permitiram verificar que só houve significância quando se comparou com a água destilada, demonstrando que apenas neste caso o patógeno se expressou com maior intensidade. Os percentuais de incidência do fungo obtidos com o emprego desse soluto foram compatíveis com aqueles alcançados quando se utilizou o 2,4 D, de acordo com o contraste entre as médias desses tratamentos. O efeito deletério desse último sobre o crescimento fúngico foi relatado por Sobreira (23) que observou redução na incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodoeiro a partir de 10ppm. Coutinho et al. (8) constataram que a restrição hídrica proporcionada pelos solutos NaCl, KCl e Manitol e com potenciais osmóticos de -0,8 e -0,9 MPa em sementes de arroz, não interferiu no crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, *Phoma sorghuina*, *Pyricularia grisea*, *Gerlachia oryzae* e *Rhizoctonia solani*. Por outro lado Rey et al. (21) avaliaram o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, em meio de cultura Mathur, sob diferentes potenciais osmóticos de NaCl e Sacarose, e concluíram que a restrição hídrica pode ser empregada como inibidor de germinação de sementes de feijoeiro, em testes de sanidade para a detecção do patógeno, sem afetar o seu desenvolvimento. Neste trabalho, o KCl reduziu a incidência de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* enquanto os solutos Manitol e NaCl, no potencial osmótico de -0,8 MPa não afetaram a sua detecção.

Farias et al. (10) afirmam que, para ser utilizado em análises de rotina, o soluto deve ser de fácil aquisição, baixo custo e deve promover a inibição ou retardamento da germinação em potenciais osmóticos

Tabela 2. Efeito de restritores hídricos em diferentes potenciais osmóticos sobre a Germinação, Comprimento da Radícula e Incidência de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em teste de sanidade de sementes de algodoeiro pelo método do papel de filtro. Piracicaba, 2007

Restritor hídrico	Germinação (%)		Comprimento da Radícula (cm)		Incidência (%)	
	-0,6	-0,8	-0,6	-0,8	-0,6	-0,8
Manitol	81,0aA	65,3bB	9,48aA	11,40aA	62,0aA	92,0aB
NaCl	86,5aA	59,0bB	14,86bA	9,95aB	62,5aA	86,5aB
KCl	64,0bA	62,5bA	15,41bA	13,51bA	67,5aA	62,5bA

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

menos negativos, para diminuir a quantidade de soluto necessário ao preparo da solução. Com base nessa premissa, embora Machado (14) afirme que Manitol e NaCl, no potencial osmótico de -1,0 MPa, não interferiram no desenvolvimento e detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, os resultados deste trabalho sugerem que o potencial osmótico de -0,8 MPa, também avaliado pelo autor, deva ser utilizado para detectar o agente causal da ramulose em sementes de algodoeiro, em análises de rotina.

AGRADECIMENTOS

Aos Eng^{os}. Agrônomos José Saul Martus e Wanderley K. Oishi, da MDM Sementes de Algodão, por ceder as sementes para a realização dos experimentos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Athayde Sobrinho, C.; Brunelli, K., Moraes, M.H.D., Menten, J.O.M. Efeito do congelamento e da restrição hídrica como inibidores da germinação de sementes sobre a detecção de *Macrophomina phaseolina* (Tass) Goid. Em sementes de caupi (*Vigna unguiculata* L). **Informativo Abrates**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 231, 2003. (Resumo)
- Barba, J.T.; reis, E.M., Forcelini, C.A. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 389-394, 2002.
- Braccini, A.L., Ruiz, H.A., Braccini, M.C.L., Reis, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 18, n. 1, p.10-16, 1996.
- Brasil, **Regras para análise de sementes**. Brasília, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária 1992. 365p.
- Brunetta, E.; Brunetta, P.S.F.; Freire, E.C. Produção de sementes de Algodão. In: Freire, E.C. (ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**. Brasília, Abrapa, 2007. cap 9, p. 319-343.
- Camargo, R. de **Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L)**. 1998. 108p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Celano, F.A.O. **Desempenho de sementes de algodão durante o armazenamento, após inoculação com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pela técnica de restrição hídrica**. 2004. 83p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia. Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Coutinho, W.M., Machado, J.C., Vieira, M.G.G.C., Guimarães, R.M., Ferreira, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio agar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 127-135, 2001.
- Dhingra, O.D.; Acuña, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 119p.
- Farias, C.J.; Del Ponte, E.M.; Dal Magro, T.; Pierobom, C.R. Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em teste de sanidade em substrato de papel. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n.2, p. 141-144, abr./jun. 2003.
- Garcia Júnior, D.; Vechiato, M.H.; Menten, J.O.M.; Lima, M.I.P.M. Influência de *Fusarium graminearum* na germinação de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n.2, p. 157-162, 2007.
- Guimarães, R.M. **Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais de estresse térmico, hídrico e salino**. 1991. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Limonard, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Wageningen v. 33, p. 343-513, 1968.
- Machado, A.Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro**. Lavras, UFLA, 2002. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Machado, J.C.; Oliveira, J.A.; Vieira, M.G.G.C., Alves, M.C. Controle da germinação de sementes de soja em testes de sanidade pelo uso da restrição hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, p. 77-81, 2003.
- Machado, J.C.; Oliveira, J.A.; Vieira, M.G.G.C.; Alves, M.C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 62-67, 2004.
- Menten, J.O.M.; Rugai, A.; Araújo, A.E. Lima, L.C.S.F.; Zuppi, M.; Moraes, M.H.D. Utilização de sementes sadias e/ou adequadamente tratadas no manejo de doenças do algodoeiro. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 5., 2005, Salvador. **Fitopatologia: trabalhos...**Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 1 CD-ROM
- Michel, B.E.; Radcliffe, D.A. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 1, p. 126-130, Jan/Feb.. 1995.
- Neergaard, P. **Seed Pathology**. London: Macmillan Press, 1979. v. 1. 839p.
- Rego, A.M. Análise sanitária na produção de sementes de hortaliças. In: ZAMBOLIN, L.(ed). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV; DFP, 2005, p. 267-294.
- Rey, M.S.; Lima, N.B.; Santos, J.; Farias, C.R.J.; Pierobom, C.R. Crescimento micelial de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* sob diferentes potenciais hídricos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 309-313, 2005.
- SAS Institute. **SAS Technical report SAS/STAT Software**. Cary Nc: SAS Institute, 2003.
- Sobreira, D.G. **Qualidade fisiológica e detecção de fungos em algumas amostras de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L) produzidas no estado de Minas Gerais, safra 1985/86**. Lavras, UFLA, 1988. 70p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Tanaka, M.A.S.; Menten, J.O.M. Comparação de métodos de inoculação de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 219-226, jul./dez. 1991.
- Teixeira, H.; Arias, S.M.S.; Chitarra, L.G.; Machado, J.C. Eficiência comparativa de lâmpadas fluorescentes na detecção e quantificação de fungos em sementes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.2, p. 259-268, mar./abr. 2002.