

EFEITO DO DESLINTAMENTO QUÍMICO SOBRE A OCORRÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE *Colletotrichum gossypii* ASSOCIADO ÀS SEMENTES DE ALGODOEIRO*

LUIZ G. CHITARRA**, JOSÉ C. MACHADO, GILMA S. CHITARRA & MARIA DAS GRAÇAS G. C. VIEIRA

Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 37, 37.200-000, Lavras, MG, fax (035) 3829-1100

(Aceito para publicação em 26/11/2001)

Autor para correspondência: Luiz G. Chitarra

CHITARRA, L.G., MACHADO, J.C., CHITARRA, G.S. & VIEIRA, M.G.G.C. Efeito do deslincamento químico sobre a ocorrência e desenvolvimento de *Colletotrichum gossypii* associado às sementes de algodoeiro. Fitopatologia Brasileira 27:128-133. 2002.

RESUMO

A primeira fase do trabalho objetivou avaliar o efeito do tempo de deslincamento químico, 1:30 e 4:30 min, sobre o nível de infecção de *Colletotrichum gossypii* inoculado artificialmente em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). Sementes de algodoeiro com línter foram inoculadas com *C. gossypii*, mediante contato das mesmas com colônias do fungo em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, por 30 h. Os parâmetros avaliados foram a ocorrência de fungos e o poder germinativo das sementes. Na segunda fase, o objetivo foi avaliar a influência do exsudato de sementes de algodoeiro, em função do tempo da duração do deslincamento com ácido sulfúrico, considerando-se as frações de sedimentação de sementes e diferentes condições de envelhecimento artificial sobre o desenvolvimento de *C. gossypii*, em condições de laboratório. As sementes foram deslincadas quimicamente com ácido sulfúrico

comercial concentrado pelos períodos de 1:30 e 4:30 min, separadas em frações de sedimentação em água e submetidas ao envelhecimento artificial por 0, 72 e 96 h. Os substratos foram obtidos a partir do exsudato resultante da embebição contendo os eletrólitos lixiviados das sementes. O desenvolvimento de *C. gossypii* na presença do exsudato das sementes foi avaliado em meio agarizado, através da medição do crescimento micelial e da esporulação do fungo. O deslincamento químico, pelo período de 1:30 min, propiciou aumento do percentual de ocorrência de *C. gossypii* em sementes não-desinfestadas superficialmente, e o crescimento micelial e a esporulação do fungo foram favorecidos pelo substrato proveniente de sementes deslincadas por 4:30 e 1:30 min, respectivamente.

Palavras-chave adicionais: inoculação artificial, esporulação, crescimento micelial.

ABSTRACT

Effects of chemical delinting on the level of occurrence and development of *Colletotrichum gossypii* associated with cotton seeds

The present work was conducted in two phases. The first phase evaluated how the length of time of chemical delinting, 1:30 and 4:30 min, effected the level of infection by *Colletotrichum gossypii* on artificially inoculated cotton (*Gossypium hirsutum*) seeds. Non-delinted cotton seeds were artificially inoculated with *C. gossypii* by contact with fungal colonies in Petri dishes for 30 h. The parameters evaluated were quality of health and the germination ratio. The second phase aimed at evaluating the influence of cotton seed exudates on the development of *C. gossypii* in function of the chemical delinting time with sulphuric acid, considering the sedimentation fractions in water and artificial aging periods of 0, 72 and 96 h in laboratory conditions.

The seeds were delinted with sulphuric acid for 1:30 and 4:30 min, separated into sedimentation fractions in water and submitted to artificial aging for 0, 72 and 96 h. The substrates were obtained from the exudates containing the electrolytes leaked from the cotton seeds. The development of *C. gossypii* in seed exudates was evaluated in agar medium, measuring the mycelial growth and sporulation of the fungus. The results showed that chemical delinting for 1:30 min provided an increase in the incidence of *C. gossypii* in seeds, without superficial disinfestation. The mycelial growth and sporulation of the fungus were favoured on the substrates containing exudates of delinted seeds for 4:30 and 1:30 min, respectively.

INTRODUÇÃO

Um dos principais fungos patogênicos associados às sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é o *Colletotrichum gossypii* Southworth, causador da antracnose, doença responsável por consideráveis perdas econômicas. O

C. gossypii pode ser disseminado por sementes contaminadas ou infestadas por e, dependendo das condições climáticas predisponentes, essas sementes poderão originar plântulas com sintomas de tombamento (Pizzinato, 1988), podendo ocorrer a morte das mesmas (Pizzinato, 1987).

O deslincamento químico é uma prática realizada visando melhorar o desempenho das sementes de algodoeiro. No entanto, as práticas de beneficiamento utilizadas podem provocar alterações nas estruturas protetoras das sementes

* Parte da Tese de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal de Lavras (1996)

**Bolsista da CAPES

aumentando os vazamentos de constituintes químicos (Carvalho & Nakagawa, 2000) ou se constituindo via de acesso a microrganismos (Machado, 2000).

De uma maneira geral, o início da atividade biológica dos propágulos (esporos, estruturas de resistência ou hifas dormentes) dos fungos fitopatogênicos é estimulada por componentes do exsudato produzido pela planta hospedeira (Schroth & Snyder, 1960; Agrios, 1978; Dhingra & Sinclair, 1985). Entre espécies, como *Rhizoctonia solani* Kuehn (Agrios, 1978) e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Coley-Smith & King, 1969), a capacidade infetiva dos propágulos é adquirida somente após a absorção de determinadas substâncias químicas, em geral, açúcares (Schroth & Snyder, 1960; Redington & Peterson, 1971) e aminoácidos (Schroth & Snyder, 1960). Em outras situações o exsudato produzido pelo vegetal pode exercer ação inibitória ou mesmo deletéria a certos grupos de patógenos (Agrios, 1978; Dhingra & Sinclair, 1985).

Considerando, portanto, esses aspectos, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito do deslincamento químico sobre o nível de infecção de *C. gossypii* inoculado artificialmente em sementes de algodoeiro, e avaliar a influência do exsudato das sementes sobre o desenvolvimento desse fungo "in vitro".

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - Lavras, MG, no período de agosto a outubro de 1995.

Efeito do deslincamento químico no nível de ocorrência de *Colletotrichum gossypii* em sementes de algodoeiro artificialmente inoculadas

Foram utilizadas sementes de algodoeiro, cultivar IAC-20, da safra 1994/1995, oriundas da região de Capinópolis - MG, e um isolado de *C. gossypii* obtido de sementes deslincadas que foram incubadas pelo emprego do "blotter test" (Brasil, 1992).

O isolado do patógeno foi multiplicado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) contido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, por oito dias à temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ em regime alternado de 12 h luz fluorescente branca / 12 h escuro.

As sementes com línter foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio 1%, lavadas em água destilada esterilizada por três vezes e postas a secar por aproximadamente 24 h à temperatura ambiente. Em seguida, as sementes (80 por placa) foram colocadas e mantidas durante 30 h sobre as colônias do fungo em crescimento ativo na superfície do meio de cultura, dispostas de maneira a constituir uma única camada. As sementes, retiradas das placas e postas a secar sobre papel toalha, à temperatura ambiente, por 24 h, foram submetidas ao deslincamento químico com ácido sulfúrico comercial concentrado (96-98%) por períodos de

1:30 e 4:30 min, sendo lavadas em água corrente e postas a secar sobre papel toalha durante 24 h.

As avaliações foram realizadas por meio dos testes de sanidade (método de incubação em papel de filtro) e teste de germinação, conforme Brasil (1992). Para o primeiro, foram utilizadas placas de Petri de 15 cm de diâmetro contendo três folhas de papel de filtro esterilizadas, umedecidas com água destilada contendo 5 ppm de 2,4 Diclorofenoxiacetato de sódio. Por amostra foram analisadas 400 sementes, sendo a metade desinfestada superficialmente com hipoclorito de sódio a 1% durante 5 min. O teste foi realizado utilizando 25 sementes por placa em oito repetições, por tratamento. As sementes foram incubadas por um período de sete dias, a $21 \pm 2^\circ\text{C}$, sob regime alternado 12 h luz fluorescente branca/12 h escuro, sendo em seguida examinadas ao microscópio estereoscópio para determinação dos fungos a elas associados.

No teste de germinação, para cada tratamento foram usadas oito repetições de 25 sementes, semeadas em rolos de papel toalha, marca Germitest, umedecidos com água na proporção de 2,3:1 (duas vírgula três vezes o volume de água para uma parte do peso de papel); após a distribuição das sementes foram colocadas em germinador com temperatura regulada a 25°C , sendo a avaliação realizada no quarto dia após a instalação do teste.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e oito repetições por tratamento, para efeito de análise de variância, e os resultados obtidos em percentagem, foram transformados por arc seno $\sqrt{\frac{x}{50}}$

Efeito do exsudato de sementes de algodoeiro sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum gossypii* em substratos agarizados

Foram utilizados dois lotes de sementes de algodoeiro, variedade IAC-21, da safra 1993/94, produzidos nas regiões de Capinópolis, MG e Itumbiara, GO.

As sementes foram inicialmente homogeneizadas e submetidas ao deslincamento com ácido sulfúrico comercial concentrado (96-98%), na proporção de 180 ml de ácido para 1 Kg de sementes, em dois períodos de exposição das sementes ao ácido sulfúrico: 1:30 e 4:30 min. Após estes períodos, as sementes foram lavadas em água corrente por 3 min e em seguida, colocadas em uma solução de bicarbonato de cálcio (1%), durante 1 min, lavadas novamente em água corrente por 30 s e postas a secar à sombra. As sementes foram homogeneizadas e divididas pelo método das divisões sucessivas (Brasil 1992). Parte das sementes foi colocada em um recipiente com água destilada, por 1 min, com a finalidade de separar em duas classes de sedimentação: fração flutuante, com densidade menor que $1,00 \text{ g/cm}^3$, e fração sedimentada, com densidade maior que $1,00 \text{ g/cm}^3$. Posteriormente foram secadas à sombra até a umidade de aproximadamente 12%, colocadas em sacos de papel Kraft e armazenadas em câmara seca e fria (12°C , 45% umidade

relativa). Os tratamentos definidos, portanto, foram dois tempos de deslincamento (1:30 e 4:30 min), três frações de sedimentação [não-fracionada (integral), fração flutuante e fração sedimentada], e três períodos de envelhecimento artificial (zero, 72 e 96 h), totalizando 18 tratamentos + três testemunhas (não-deslincadas e envelhecidas artificialmente nos tempos acima referidos).

O envelhecimento artificial foi realizado utilizando caixas plásticas “gerbox” com compartimento individual (minicâmaras adaptadas), possuindo, no seu interior, uma bandeja de tela de alumínio, onde foram distribuídas as sementes (Handbook of Vigour Test Methods, ISTA 1995). As caixas “gerbox” foram acondicionadas em câmara BOD e mantidas por um período de 72 h e 96 h, a uma temperatura de 42 ± 1 °C e 100% de umidade relativa.

Para obtenção dos exsudatos, foram tomadas duas sub-amostras de 650 sementes, as quais foram colocadas em dois copos plásticos de 500 ml contendo, cada um, 180 ml de água deionizada. Os copos contendo as sub-amostras foram mantidos à temperatura ambiente por 24 h, sendo, após este período, removida as sementes e efetuado o recolhimento do exsudato, coado em gaze.

Os substratos foram preparados com a seguinte composição: 20 g de dextrose mais 20 g de ágar mais o exsudato das sementes provenientes dos diversos tratamentos completando-se com água destilada – volume de 1000 ml. Foi determinado o pH com o auxílio de um peagâmetro (micronal, pH-metro, B371). Posteriormente os substratos foram submetidos à autoclavagem à 121 °C por 20 min. Para cada tratamento foram preparadas quatro placas de Petri de 9 cm de diâmetro, cada uma recebendo 15 ml de substrato. Após a solidificação do meio, foi colocado ao centro da placa, sobre o substrato, um disco de ágar com o micélio do fungo retirado da periferia da colônia, de cultura de sete dias de idade, desenvolvida em condições de incubação discutidas anteriormente.

Durante o desenvolvimento do fungo foram realizadas, a cada 48 h, medições dos diâmetros das colônias em posições ortogonais entre si, na face inferior das placas, até o décimo dia, quando a área (πr^2) da colônia foi calculada. A taxa de crescimento micelial foi expressa em mm/24 h de incubação.

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 14 (substratos) versus três (tempos de envelhecimento artificial - 0, 72 e 96 h), totalizando 84 tratamentos, com quatro repetições por tratamento.

Para avaliação do número de esporos foram preparadas suspensões através da adição de 10 ml de água destilada e 50 ppm de Tween 80 em cada placa de Petri contendo a colônia fúngica. Com o auxílio de um pincel fino, foi feita a raspagem superficial em cada colônia, obtendo a liberação dos esporos. A contagem do número de esporos foi feita com o auxílio da câmara de Neubauer em microscópio óptico e os resultados foram expressos em n° de esporos/cm². A análise estatística foi realizada transformando os dados para $\sqrt{x + 0.5}$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do deslincamento químico sobre a incidência de fungos em sementes de algodoeiro inoculadas artificialmente com *Colletotrichum gossypii*

Para todos os tratamentos, igualmente ao verificado por Teixeira (1995), as maiores incidências de fungos ocorreram em sementes sem desinfestação superficial (Tabela 1). A maior incidência do *C. gossypii* ocorreu nas sementes inoculadas, sem desinfestação superficial, deslincadas por 1:30 min; e as menores incidências verificaram-se nas sementes não inoculadas. Quando se considerou o deslincamento químico, para sementes não-desinfestadas, observou-se maior incidência de *C. gossypii* nas sementes deslincadas por 1:30 min. Sementes deslincadas por 4:30 min não apresentaram diferenças quanto a incidência desse organismo em relação as sementes inoculadas não-deslincadas. Pode ser observado no entanto, que para *Fusarium* sp., houve uma redução na incidência deste organismo com o deslincamento com ácido sulfúrico e, *Penicillium* sp. apresentou tendência de aumento de incidência com o aumento do tempo de deslincamento. Estes resultados de certa forma vão ao encontro aos resultados de Sherbarkoff (1927) citado por Brown (1933), o qual afirma que o deslincamento químico com ácido sulfúrico elimina as bactérias e fungos da superfície das sementes. Os resultados evidenciam que o deslincamento químico faz com que as incidências dos fungos associados às sementes sejam variáveis possivelmente em função da posição do inóculo nas sementes e o tempo de exposição a esse tratamento.

Quanto à germinação, houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Tabela 2). As sementes inoculadas com *C. gossypii*, deslincadas ou não, apresentaram uma porcentagem de germinação significativamente menor em relação às sementes com línter e não-inoculadas. Apesar do deslincamento químico por um período de 4:30 min não ter alterado o nível de ocorrência do referido fungo (Tabela 1), a porcentagem de germinação (Tabela 2) foi menor, provavelmente em função dos danos que este tipo de tratamento possa ter provocado às sementes. Observa-se ainda (Tabela 1), que, apesar de não haver diferenças estatísticas nas incidências de *Penicillium* sp. e de *Aspergillus* sp., entre as sementes deslincadas e sementes não-deslincadas, os valores obtidos para os aumentos na incidência destes fungos foram mais elevados naqueles que sofreram o processo de deslincamento, o que deve ter contribuído para a deterioração das mesmas. Lima *et al.* (1984) verificaram o decréscimo no vigor e na porcentagem de germinação de sementes de algodoeiro inoculadas com fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Rhizopus* sp., quando comparadas com sementes não-inoculadas. Segundo Sobreira (1988), o línter que reveste as sementes de algodoeiro facilita a presença de microrganismos, principalmente fungos. O deslincamento químico com ácido sulfúrico tem alto poder desinfestante (McDonald *et al.*, 1947), e, conseqüentemente, proporciona maior percentual de germinação do que as sementes deslincadas mecanicamente (Kanawabe &

TABELA 1 - Incidência (%) de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), inoculadas artificialmente com *Colletotrichum gossypii* e deslincadas com ácido sulfúrico. UFLA - LAVRAS-MG, 1995

Sementes Deslincadas e Inoculadas	Patógenos					
	<i>Colletotrichum gossypii</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
0 min ¹						
D ²	49,0 c	40,5 ab	0,5 a	1,0 a	12,0 a	11,5 a
ND	83,0 b	47,0 a	1,5 a	0,5 a	8,0 ab	8,5 ab
1:30 min						
D	38,5 c	14,5 c	2,5 a	0,0 a	12,0 ab	4,5 c
ND	98,0 a	16,0 c	2,5 a	0,0 a	22,0 a	5,5 abc
4:30 min						
D	36,0 c	16,5 c	2,5 a	0,0 a	8,5 ab	8,0 abc
ND	81,5 b	22,5 c	2,5 a	0,0 a	5,0 b	14,0 a
Sementes não-deslincadas e não-inoculadas						
D	7,0 d	14,5 c	0,0 a	0,0 a	3,5 b	1,5 c
ND	10,0 d	24,0 bc	0,5 a	0,0 a	3,5 b	2,0 bc

¹Duração do deslincamento.²D = sementes desinfestadas com hipocloreto de sódio 1%, ND = sementes não desinfestadas.

CV (%) 17,8.

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

Kashyarde, 1983; Paolinelli *et al.*, 1995). Também para o presente trabalho, o estágio de deterioração natural das sementes anterior ao tratamento químico pode ter influenciado sobremaneira na qualidade dessas (germinação inicial igual a 59%), provavelmente as predisuseram a um efeito negativo do tratamento, resultando em aumento na incidência dos fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.

Efeito do exsudato de sementes de algodoeiro sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum gossypii* em substratos agarizados

Os valores médios de pH dos exsudatos de sementes de algodoeiro submetidas a diversos tratamentos, variaram de 4,0 a 5,0, de 5,0 a 6,0 e 7,0 para sementes deslincadas por 1:30, 4:30 min e não deslincadas respectivamente.

O crescimento de *C. gossypii* foi mais acentuado em substratos contendo exsudato de sementes deslincadas (Tabela 3). Para sementes não envelhecidas (0 h), os substratos provenientes das sementes deslincadas, da fração sedimentada, proporcionaram maiores taxas de crescimento micelial de *C. gossypii*, independente do tempo de exposição das sementes ao ácido sulfúrico. O pH do exudato (7,2) e, provavelmente, a menor lixiviação de eletrólitos nas sementes não deslincadas podem ter afetado, negativamente, o desenvolvimento do fungo. No processo de embebição das sementes, os íons Ca, Mg, Mn, K, e Cl são lixiviados, ocasionando a elevação do pH do exsudato da semente. Em sementes deterioradas verifica-se maior lixiviação destes íons, porém lixiviam maior quantidade de H⁺, ocasionando um menor pH nos seus exsudatos (Loomis & Smith, 1980).

Durante o processo de envelhecimento das sementes, ocorre a perda da integridade das membranas celulares, resultando na exsudação de determinados íons como K⁺, Ca⁺², Mn⁺² e Mg⁺², certos açúcares, aminoácidos, enzimas e sais durante o processo de embebição (Woodstock, 1988). Outros

fatores podem afetar a exsudação, como, por exemplo, o grau de deterioração (Ching, 1972), incidência de danos causada pela velocidade de embebição (Powell, 1986), ocorrência de injúrias no tegumento das sementes (Loefler, 1981), e temperatura e tempo de embebição (Loefler *et al.*, 1988). No presente estudo, provavelmente a ação do ácido sulfúrico, por um período mais longo, favoreceu o rompimento das ligações glicosídicas e, conseqüentemente, propiciou maior lixiviação de solutos citoplasmáticos enriquecendo o substrato. O pH entre 5,0 e 6,0 destes exsudatos, também pode ter favorecido o desenvolvimento de *C. gossypii*.

Em relação ao crescimento micelial de *C. gossypii* em substrato agarizado contendo A.D.A. (exsudato de sementes de algodoeiro-dextrose-ágar) diluído, pôde-se observar que não houve diferença entre os tratamentos.

Os resultados (Tabela 4) indicam uma tendência de maior produção de conídios por *C. gossypii* em substratos não diluídos, provenientes de sementes não deslincadas e

TABELA 2 - Germinação(%) de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) deslincadas com ácido sulfúrico e inoculadas artificialmente com *Colletotrichum gossypii*. UFLA - Lavras - MG, 1995

Tratamento	(%) germinação
Sementes com líter não-inoculadas	59 a
Sementes com líter inoculadas	29 b
Sementes deslincadas por 1:30 min e inoculadas	19 bc
Sementes deslincadas por 4:30 min e inoculadas	14 c

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

TABELA 3 - Taxas de crescimento micelial (mm/24 h) em diferentes períodos de desenvolvimento de *Colletotrichum gossypii* em substratos agarizados contendo exsudato de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), deslindadas com ácido sulfúrico, separadas por diferentes frações de sedimentação e envelhecidas artificialmente. UFLA-Lavras, MG, 1995

Tratamento	Duração do período de envelhecimento precoce (h/crescimento micelial)		
	0	72	96
SUBSTRATO NÃO DILUÍDO			
Sementes com línter	11,39 b	11,21 b	11,82 bc
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 1:30 min	12,36 ab	11,69 b	12,90 abc
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 1:30 min	12,38 ab	11,87 b	11,34 c
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 1:30 min	13,13 a	11,82 b	13,37 ab
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 4:30 min	12,49 ab	13,48 a	14,07 a
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 4:30 min	12,47 ab	12,24 ab	12,18 bc
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 4:30 min	12,95 a	11,53 b	12,99 abc
Médias	12,49	11,98	12,66
CV (%)	8,84	8,27	9,04
SUBSTRATO DILUÍDO			
Sementes com línter	7,94 a	8,58 a	9,37 a
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 1:30 min	8,64 a	9,12 a	9,25 a
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 1:30 min	8,88 a	8,60 a	9,53 a
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 1:30 min	8,23 a	8,52 a	9,20 a
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 4:30 min	8,40 a	8,64 a	9,50 a
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 4:30 min	8,22 a	8,91 a	9,54 a
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 4:30 min	8,02 a	8,55 a	9,35 a
Médias	8,33	8,70	9,39
CV (%)	9,96	10,51	5,58

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

deslindadas por 1:30 (sementes não fracionadas), sem envelhecimento precoce. A exceção de sementes com línter, houve uma tendência de maior produção de conídios para exsudatos de sementes envelhecidas por 96 h.

A esporulação de *C. gossypii* em substrato agarizado

diluído, não apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Houve tendência de uma maior esporulação em substrato contendo exsudato provenientes de sementes deslindadas por 1:30 min, fração flutuante não envelhecida. Para sementes envelhecidas por 72 e 96 h, o deslindamento

TABELA 4 - Esporulação (nº de conídios x 10⁵/cm² de colônia) de *Colletotrichum gossypii* em substratos agarizados contendo exsudato de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), deslindadas com ácido sulfúrico, separadas por diferentes frações de sedimentação e envelhecidas artificialmente. UFLA-Lavras, MG, 1995

Tratamento	Duração do período de envelhecimento precoce (h/crescimento micelial)		
	0	72	96
SUBSTRATO NÃO DILUÍDO			
Sementes com línter	12,47 a	8,10 ab	4,83 c
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 1:30 min	15,33 a	11,51 ab	21,00 ab
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 1:30 min	6,23 b	7,81 ab	26,59 a
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 1:30 min	5,62 b	4,10 b	11,83 bc
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 4:30 min	6,09 b	16,52 a	14,01 abc
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 4:30 min	5,01 b	5,72 b	12,20 bc
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 4:30 min	4,46 b	5,46 b	12,91 bc
Médias	7,89	8,46	14,76
CV (%)	19,78	17,81	10,80
SUBSTRATO DILUÍDO			
Sementes com línter	0,67 ab	0,77 ab	0,34 c
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 1:30 min	0,68 ab	1,12 a	1,34 ab
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 1:30 min	1,20 a	0,71 abc	1,19 ab
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 1:30 min	0,55 ab	0,26 c	1,29 ab
Sementes não-fracionadas, deslindadas por 4:30 min	0,62 ab	0,48 bc	1,47 ab
Sementes da fração flutuante, deslindadas por 4:30 min	0,58 ab	1,08 a	1,69 a
Sementes da fração sedimentada, deslindadas por 4:30 min	0,33 b	0,87 ab	0,65 bc
Médias	0,66	0,76	1,14
CV (%)	14,91	13,36	10,52

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

por 1:30, classe de sementes não fracionadas e deslincamento por 4:30, classe de sementes fração flutuante, propiciaram tendência de maior esporulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology 2nd ed. New York; Academic Press. 1978.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Regras para Análise de Semente. Brasília. AGIPLAN. 1992.
- BROWN, A.H. Effects of sulphuric acid delinting on cotton seeds. Botanical Gazette 94:755-770. 1933.
- CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal. FUNEP. 2000.
- CHING, T.M. Aging stress on physiological and biochemical activities of crimson clover (*Trifolium incarnatum* L. var Dixie) seeds. Crop Science 12:415-418. 1972.
- COLEY SMITH, J.R. & KING, J.E. The production by species of Allium of alkyl sulphides and their effect on germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. Annual Applied Biological 64:289-301. 1969.
- DHINGRA, O.D. & SINCLAIR, J.B. Basic Plant Pathology Methods. Boca Raton. CRC Press. 1985.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. Handbook of vigour test methods. 3rd ed. Zurich. 1995.
- KANAWABE, L.R. & KASHYARDE, M.M. Effects of delinting and size on germination of cotton seed. Journal of Maharashtra Agricultural Universities 8:262-264. 1983.
- LIMA, E.F., VIEIRA, R.M., CARVALHO & J.M.F.C. Influência de *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* na deterioração de sementes de algodoeiro armazenadas. Fitopatologia Brasileira 9:555-560. 1984.
- LOEFLER, T.M., TEKRONY, D.M. & EGLI, D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. Journal of Seed Technology 12:37-53. 1988.
- LOEFLER, T.N. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. (Tese de Mestrado). Lexington. University of Kentucky. 1981.
- LOOMIS, E.L. & SMITH, O.E. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mn, K and Cl in imbibing cabbage seed. Journal of the American Society for Horticultural Science 105:647-650. 1980.
- ACHADO, J.C. Tratamento de Sementes no Controle de Doenças. Lavras. LAPS / UFLA / FAEPE. 2000.
- McDONALD, D., FIELDING, W.L. & RUSTON, D.F. Experimental methods with cotton. III-Sulphuric acid treatment of cotton seed and its effect on germination, development and yield. Agricultural Science 37:291-296. 1947.
- PAOLINELLI, G.P., BRAGA, S.J. FALLIERI, J. & SARAIVA, H.A.B. Efeito comparativo de diferentes processos de deslincamento sobre a qualidade de sementes de algodoeiro herbáceo. Informativo ABRATES 5:64. 1995. (edição especial).
- PIZZINATO, M.A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: Soave, J. (Ed.) Patologia de Sementes. Campinas. Fundação Cargill. 1987. pp. 331-357.
- PIZZINATO, M.A. Relação entre densidade e qualidade de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. latifolium Hutch.) e patogenicidade de *Fusarium* spp. Link ex Fr. (Tese de Doutorado). Piracicaba. ESALQ. 1988.
- POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity relation to the quality of seed for sowing. Journal of Seed Technology 10:81-100. 1986.
- REDINGTON, C.B. & PETERSON, J.L. Influence of environment on *Albizzia julibrissin* root exudation and exudate effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *perniciosum* in soil. Phytopathology 61:812-815. 1971.
- SCHROTH, M.N. & SNYDER, W.C. Effect of host exudates on chlamydospore germination of the bean root rot fungus, *Fusarium solani* f. *phaseoli*. Phytopathology 51:389-393. 1960.
- SOBREIRA, D.G. Qualidade e detecção de fungos em alguns lotes de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) produzidas no Estado de Minas Gerais, safra 1985/86 (Tese de Mestrado). Lavras. ESAL. 1988.
- TEIXEIRA, H. *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.): Transmissibilidade e controle. (Tese de Mestrado). Lavras. UFLA. 1995.
- WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. Journal of Seed Technology 12:1-15. 1988.