

# EFEITO DA TEMPERATURA E DE FUNGICIDA NA TRANSMISSÃO DE *Bipolaris sorokiniana* DA SEMENTE PARA PLÂNTULAS DE CEVADA\*

JAVIER TOLEDO BARBA<sup>1</sup>, ERLEI M. REIS<sup>2</sup> & CARLOS A. FORCELINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT), Santa Cruz, Bolívia; <sup>2</sup>Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Fitopatologia, Universidade de Passo Fundo, Cx. Postal 611, 99001-970, Passo Fundo, RS

(Aceito para publicação em 14/05/2002)

Autor para correspondência: Erlei Melo Reis

TOLEDO, J., REIS, E.M. & FORCELINI, C.A. Efeito da temperatura e de fungicida na transmissão de *Bipolaris sorokiniana* da semente para plântulas de cevada. Fitopatologia brasileira 27:500-507. 2002.

## RESUMO

A transmissão de patógenos a partir de sementes e seu estabelecimento e desenvolvimento no hospedeiro são influenciados pelas condições ambientais, sendo a temperatura e a umidade do solo os fatores mais importantes. No presente trabalho, avaliou-se o efeito da temperatura e de fungicida na transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para os órgãos aéreos e radiculares de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare*). Foram, também, quantificadas a transmissão do fungo em função do tempo e o potencial de esporulação nas extremidades apicais dos coleóptilos. Compararam-se dois tratamentos: sementes sem e com fungicida (iminocadina 70 g i.a./100 kg semente), semeadas em solo natural não esterilizado e mantidas sob diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25 e 30 °C).

Trabalho complementar sobre a evolução da transmissão para coleóptilos (35 dias), em função do tempo, foi conduzido sob temperatura de 25 °C e substrato de areia. A transmissão foi mais eficiente na faixa térmica de 18 a 25 °C. A relação temperatura-transmissão foi representada por equações quadráticas com transmissão máxima entre 18,1 e 21,3 °C, onde as relações estudadas seguiram tendências polinomiais quadráticas. A esporulação foi máxima a 19,3 °C. Coleóptilos infetados por *B. sorokiniana* tornaram-se evidentes aos dez dias após a semeadura. Por mais de 28 dias, o número de coleóptilos infetados e a esporulação foram crescentes.

**Palavras-chave adicionais:** *Hordeum vulgare*, patologia de sementes, helmintosporiose.

## ABSTRACT

### Effect of temperature and fungicide on the transmission of *Bipolaris sorokiniana* from seeds to barley plants

The transmission of seed-borne pathogens and the infection of the host plants are influenced by ambient conditions, mainly temperature and soil moisture. This research studied the effects of temperature and fungicide on the transmission of *Bipolaris sorokiniana* from seeds to above and below ground barley (*Hordeum vulgare*) plant parts. The rate of transmission and the potential for fungus sporulation on the apice of coleoptiles were also quantified. These studies involved two seed samples (treated or not treated with the fungicide iminocadine at 70 g a.i./100 kg seed) sown in non-

sterilized field soil at five temperatures (10, 15, 20, 25, and 30 °C). An additional trial was conducted in sand soil, at 25 °C, to follow the fungus transmission over a period of 35 days. The relationships of temperature to transmission were represented by quadratic model equations. The observed and estimated fungus transmissions were higher at 18 - 25 °C and 18.1 - 21.3 °C, respectively. The fungus sporulation was also influenced by temperature and reached its maximum at 19.3 °C. The infection of barley coleoptiles initiated ten days after planting and increased steadily for more than 28 days.

## INTRODUÇÃO

Os parasitas necrotróficos, em sua maioria, servem-se da semente como veículo de disseminação e como abrigo e meio de sobrevivência. Por conseguinte, as sementes são importantes fontes de inóculo primário desses patógenos (Reis, 1987; Reis & Forcelini, 1993). No Brasil, os fungos mais importantes associados às sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.) são *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. [*Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drech. ex Dastur] e *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. [*Pyrenophora teres* (Died.)

Drech.] (Luz & Minella, 1982; Diehl & Minella, 1985). Em algumas situações, a incidência da infecção em sementes pode alcançar valores próximos a 100% (Lima *et al.*, 1999; Picinini & Fernandes, 1999).

Os danos causados por *B. sorokiniana* nas sementes de cevada são devidos à diminuição da germinação, à redução de rendimento e de qualidade dos grãos e do malte. Além disso, o fato de o parasita ter a capacidade de infetar e ser transmitido pela semente torna o fungo de importância potencial para a cultura da cevada, sobretudo quando as condições ambientais se apresentam favoráveis ao desenvolvimento da doença. Estudos realizados sobre a eficiência de transmissão de *B. sorokiniana* a partir de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) relatam que a passagem do fungo para

\*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade de Passo Fundo (2001).

os órgãos da planta é altamente eficiente, sendo de até 88% para o coleóptilo (Reis & Forcelini, 1993), de 68% para o mesocótilo (Forcelini, 1992) e de 38% para a plúmula (Toledo *et al.*, 1996).

A transmissão de um patógeno pela semente pode ser influenciada por uma série de fatores, como: espécie cultivada (resistência varietal), condições ambientais (umidade ambiental e do solo, temperatura, vento, chuva e luz), inóculo (viabilidade, localização na semente, tipo), práticas culturais (tipo de solo, pH, população de plantas, profundidade de semeadura e época de plantio, fertilização, etc.), sobrevivência do inóculo, vigor da semente, microflora do solo e da semente, entre outros. Tais fatores podem reduzir ou incrementar significativamente a passagem do patógeno para os órgãos foliares e/ou radiculares da planta hospedeira, refletindo no desenvolvimento da doença na lavoura (Neergaard, 1983; Agarwal & Sinclair, 1997). Forcelini (1992), em estudos sobre a influência da incidência e da profundidade de semeadura na transmissão de *B. sorokiniana* em sementes de trigo, concluiu que a temperatura tem efeito na passagem do fungo para as raízes ou órgãos aéreos da planta, tendo quantificado que a transmissão ao coleóptilo foi mais acentuada entre 20 e 25 °C, ao passo que, a temperaturas inferiores, a passagem do fungo foi maior para o sistema radicular. Outros fatores estudados, tais como a profundidade de semeadura, o tempo de armazenamento e a microflora do solo, tiveram pouco ou nenhum efeito na transmissão.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura na transmissão de *B. sorokiniana* das sementes para os órgãos aéreos e radiculares de plântulas de cevada, além de quantificar a evolução da transmissão do fungo em função do tempo e o potencial de esporulação nas extremidades apicais dos coleóptilos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Temperatura vs. transmissão

Utilizaram-se sementes de cevada da cultivar BR 2 com aproximadamente 54% de incidência por *B. sorokiniana* (com uma variação de 30 a 66%). Os tratamentos constaram de semente com fungicida, empregando-se a iminocadina 20% EC (70 g i.a./100 kg de sementes), misturado via úmida às sementes com 2% de água e sementes sem fungicida (Testemunha), utilizando-se 100 g de sementes em Erlenmeyer (500 ml). Em seguida, acrescentou-se o fungicida + água e agitou-se a mistura num vortex durante 5 min até se obter cobertura homogênea das sementes, exceto para o tratamento testemunha. Previamente à semeadura, e com a finalidade de determinar percentagem de infecção do fungo na amostra de cada ensaio, foram distribuídas 200 sementes em placas de Petri em meio seletivo de Reis (Reis, 1983). As sementes foram incubadas em sala de crescimento sob fotoperíodo de 12 h à temperatura de 25 ± 2 °C, durante dez dias. Decorrido o tempo de incubação as sementes foram examinadas sob microscópio estereoscópico, com magnitude de 50 ×, mediante a observação da frutificação de *B. sorokiniana*. Considerou-

se infetada a semente sobre a qual o fungo produziu, no mínimo, um conidióforo com um conídio.

Nos ensaios *in vivo*, os tratamentos descritos anteriormente foram submetidos a diferentes condições de temperatura (10 ± 2; 15 ± 0,5; 20 ± 0,5; 25 ± 2 e 30 ± 2 °C), perfazendo cinco ensaios. A unidade experimental foi constituída de uma moldura de madeira de 41 × 28 × 10 cm de altura, encaixada numa bandeja de alumínio de 46 × 31 × 5 cm de altura, contendo solo sem esterilizar e com pH corrigido para 6,0. Empregou-se solo de horta sem o cultivo de cereais de inverno, para evitar a presença de conídios dormentes no solo (Reis, 1983), de modo que a semente fosse a única fonte de inóculo. O substrato foi umedecido 24 h antes da semeadura, com água de torneira + adubo foliar (Niphokan 1 ml/l de água). Em cada caixa, perfuraram-se 100 orifícios de 2,5 cm de profundidade e 0,7 cm de diâmetro com um bastão de vidro. Cada orifício recebeu uma semente. No caso do ensaio com temperatura de 30 °C, com a finalidade de evitar problemas de tombamento induzidos por *Sclerotium rolfsii* Sacc., o que foi constatado no experimento a 25 °C, logo após a semeadura e cobertura da semente com solo, colocou-se uma camada de areia de rio lavada e peneirada, de aproximadamente 0,5 cm, para evitar o crescimento rápido do fungo indesejável.

As caixas foram mantidas em câmara climatizada, com temperatura e luminosidade (fotoperíodo de 12 h) controladas, e com a umidade relativa do ar variando de 70 a 100%, medida através de um termohigrógrafo. A umidade do solo foi mantida na capacidade de campo mediante irrigações periódicas, sendo esta feita por absorção de água pelo substrato através do fundo da bandeja. Cada tratamento foi repetido três vezes.

Na avaliação da transmissão após a emergência das plântulas, os coleóptilos, bainhas e plúmulas foram examinados a cada cinco dias (tendo sido marcadas com um palito de dente pintado com cores diferenciadas aquelas que apresentaram sintomas de descoloração ou de lesões pardas, assim como as plântulas que morreram prematuramente). Das plântulas mortas foram feitos isolamentos em meio de cultura de batata sacarose ágar para determinar o agente causal. Finalmente, aos 35 dias após a semeadura, as extremidades apicais e regiões subterrâneas dos coleóptilos (50% da população de plântulas), assim como os mesocótilos (os outros 50% da população de plântulas), bainhas e plúmulas de cada uma das plântulas (100% da população de plântulas) foram removidos e cortados. As extremidades apicais dos coleóptilos, bainhas e plúmulas foram plaqueados imediatamente e sem desinfestação em meio seletivo de Reis (Reis, 1983). Entre cada operação de remoção de um coleóptilo flambava-se a pinça e a tesoura. As partes subterrâneas dos coleóptilos e mesocótilos foram retiradas cuidadosamente, lavadas com água esterilizada e desinfestadas com hipoclorito de sódio (0,5%) para, finalmente, serem plaqueadas em placas de Petri contendo meio seletivo de Reis. Os coleóptilos (extremidades apicais e regiões subterrâneas) e mesocótilos removidos foram classificados em sintomáticos e assintomáticos. As placas

foram mantidas por dez dias em sala de crescimento, com fotoperíodo de 12 h. Considerou-se infetado o órgão ou região sobre a qual ocorreu a esporulação do fungo em exame sob microscópio estereoscópico. Os dados obtidos foram expressos em porcentagem de transmissão.

Aproveitando-se uma parte (50%) das plântulas das unidades experimentais, procedeu-se a quantificação do número de esporos produzidos na extremidade apical por coleóptilo e da incidência de coleóptilos com esporulação (%) sobre o número total de coleóptilos removidos.

Os valores obtidos foram submetidos à análise de distribuição normal, de variância e à regressão polinomial.

### Evolução da transmissão e potencial de esporulação

Neste experimento, empregaram-se sementes da cultivar BR-2, com 30% de infecção por *B. sorokiniana*. As sementes foram semeadas individualmente nos mesmos recipientes do experimento anterior. O substrato empregado foi areia de rio lavada e peneirada sem esterilizar. Um total de 300 sementes, distribuídas em três repetições, foi semeado de modo a se viabilizar as avaliações a cada sete dias e por um período de seis semanas. Este experimento foi conduzido em câmara climatizada, com temperatura ( $25 \pm 2$  °C) e luminosidade (fotoperíodo de 12 h) controladas e umidade relativa variando de 80 a 95%. A umidade do substrato foi mantida mediante a absorção de água pelo substrato através do fundo da bandeja. Semanalmente, removeram-se, individual e assepticamente, as extremidades apicais de coleóptilos (50% da população de plântulas), aproximadamente 1 a 1,5 cm de comprimento acima do nível do solo, plaqueando-se, imediatamente e sem desinfestação, em meio seletivo de Reis, do mesmo modo como foi exposto no experimento anterior. Previamente ao plaqueamento, os coleóptilos foram classificados em assintomáticos e sintomáticos. Os dados foram expressos em porcentagem de coleóptilos colonizados e porcentagem de transmissão. Os valores de transmissão (%) foram ajustados ao modelo monomolecular (Bergamin Filho & Amorin, 1996), uma vez que a doença só apresentou ciclo primário com inóculo inicial proveniente da semente.

Com o restante da amostra de plântulas (50%) de cada unidade experimental, procedeu-se à remoção dos coleóptilos, que foram transferidos para tubos de ensaio contendo 5 ml de

água esterilizada + duas gotas de Tween/l, previamente classificados em: completamente sintomáticos, parcialmente sintomáticos e assintomáticos. Antes de serem transferidos para os tubos, as extremidades foram examinadas individualmente, por meio de microscópio estereoscópico, com a finalidade de quantificar o número desses órgãos com esporulação e, assim, poder estabelecer, com maior aproximação, o número de esporos por coleóptilo, bem como a incidência da esporulação sobre o total de órgãos removidos. Os coleóptilos nos quais foi constatada a presença de esporos, separadamente, segundo a classificação mencionada, foram levados ao laboratório, onde se procedeu a agitação num vortex, por 60 seg, para, em seguida, realizar a contagem do número de conídios presentes em cinco gotas da suspensão de volume conhecido (30  $\mu$ l), mediante varredura do campo microscópico (lamínula de 24  $\times$  32 mm). Procurou-se, dessa maneira, quantificar a esporulação nos ápices dos coleóptilos expostos à luz em função do tempo, após a semeadura. Os dados foram expressos em número de esporos por coleóptilo e incidência de coleóptilos com esporulação (%). Os dados foram submetidos à análise de distribuição normal, de variância e à regressão linear simples.

## RESULTADOS

### Temperatura vs. transmissão

Os dados obtidos nas parcelas com fungicidas, independentemente do órgão afetado, apresentaram níveis de incidência e transmissão zero em todas as condições de temperatura, demonstrando o elevado grau de fungitoxicidade que o fungicida iminocadina (70 g i.a./100 kg sementes) apresenta contra *B. sorokiniana*. *In vitro*, a incidência do fungo na semente tratada oscilou entre 0 e 0,3%. Em função desse fato, todos os dados expostos a seguir correspondem às parcelas testemunhas.

Os dados de transmissão, tanto ao coleóptilo (extremo apical e região subterrânea) como ao mesocótilo, evidenciam a supremacia da transmissão sintomática sobre a assintomática em todas as condições de temperatura (Tabela 1). Ao mesmo tempo, todos os dados de transmissão obtidos nos diferentes órgãos da plântula (coleóptilo, mesocótilo, bainha e plúmula) demonstram que a mesma seguiu um padrão semelhante, incrementando-se progressivamente à medida que a

**TABELA 1 - Valores médios de transmissão de *Bipolaris sorokiniana* (%) da semente aos órgãos aéreos e radiculares de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare*) em função da temperatura**

Temperatura (°C)	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (%) <sup>1</sup>	Transmissão (%)							
		Coleóptilo (extremidade apical)		Bainha	Plúmula	Coleóptilo (região subterrânea)		Mesocótilos	
		sintomático	assintomático			sintomático	assintomático	sintomático	assintomático
10	65,5	10,7	2,5	0,0	0,0	29,0	14,8	1,0	2,0
15	53,0	11,9	4,1	4,7	1,9	37,7	11,3	18,2	1,9
20	65,0	31,3	1,2	14,6	3,9	56,4	7,7	16,4	7,2
25	57,0	38,6	0,0	31,6	8,1	48,1	1,2	28,1	0,0
30	30,0	4,7		2,3	0,0	13,3	0,0	11,3	0,0
		2,0							

<sup>1</sup>Incidência de *B. sorokiniana* na semente, determinado em laboratório (25° C).

temperatura aumentava até 25 °C para, posteriormente, diminuir na temperatura de 30 °C. Os maiores níveis de transmissão foram obtidos a 25 °C, para coleóptilos (40%), extremidade apical e região subterrânea (38,6 e 48,1, respectivamente), bainhas (31,6%), plúmulas (8,1%) e mesocótilos 28,1%. Em geral, os valores de transmissão registrados na região subterrânea dos coleóptilos foram maiores do que os registrados para as extremidades apicais em todas as temperaturas testadas.

Nos órgãos aéreos (Figura 1), as relações entre temperatura vs. coleóptilo extremo apical e temperatura vs. bainhas, foram representadas por equações polinomiais quadráticas significativas ( $P < 0,05$ ). Na primeira relação, os dados demonstram um aumento crescente da transmissão de *B. sorokiniana* ao coleóptilo com o incremento da temperatura, atingindo o nível mais alto de transmissão a 20,5 °C; na segunda relação, a transmissão do fungo às bainhas alcançou o ponto máximo de transmissão com 21,3 °C.

De igual modo, nos órgãos radiculares (Figura 2), as relações temperatura vs. coleóptilo região subterrânea e temperatura vs. mesocótilos, foram representadas por equações de tipo polinomial quadrática significativa, revelando pontos máximos na eficiência de transmissão, correspondentes a 18,1 °C para os coleóptilos e 21,3 °C para os mesocótilos, corroborando as margens de temperatura que foram encontradas nos órgãos aéreos da plântula.

Por outro lado, as maiores variações entre os dados das três repetições aconteceram a 25 °C (Figuras 1 e 2), isso, ao que parece, como consequência da presença indesejável de *Sclerotium. rolfii*, que, ao ocasionar a morte prematura de plântulas, influenciou negativamente na uniformidade dos mesmos.

O número médio de esporos por coleóptilo evidenciou variações de acordo com a temperatura, incrementando-se de 171 esporos, a 10 °C, até 1046 esporos, a 20 °C para, posteriormente, diminuir progressivamente, sendo que a menor quantidade de esporos foi registrada a 30 °C (36 esporos). O número de esporos registrados a 15 °C (847 esporos) foi maior do que a 25 °C (485 esporos).

Ao analisar estatisticamente o efeito da temperatura sobre a esporulação do fungo nos coleóptilos, os dados adaptaram-se a uma relação de tipo polinomial quadrática significativa ( $P < 0,01$ ) (Figura 3), segundo a qual demonstrou-se um aumento crescente do número de esporos de *B. sorokiniana* nas extremidades apicais do coleóptilo, com o incremento da temperatura atingindo o nível máximo de esporulação a 19,3 °C, com 952 esporos. No caso dos coleóptilos procedentes das parcelas com fungicida, constatou-se a presença de descolorações, porém sem esporulação.

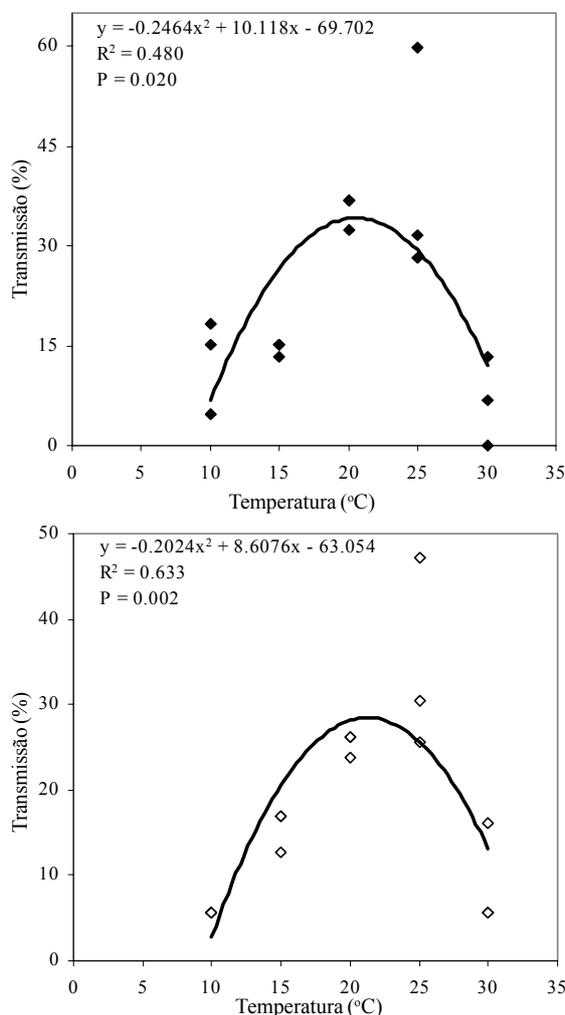
A incidência de esporulação nos coleóptilos com descoloração (Tabela 2) sobre o total de coleóptilos removidos (%) apresentou um comportamento ascendente até os 20 °C, temperatura na qual ocorreu a maior percentagem de coleóptilos com descoloração parda e com a presença de frutificação do fungo. Entre as temperaturas de 20 e 25 °C, a incidência foi decrescendo moderadamente para, posteriormente,

diminuir de forma drástica na temperatura de 30 °C.

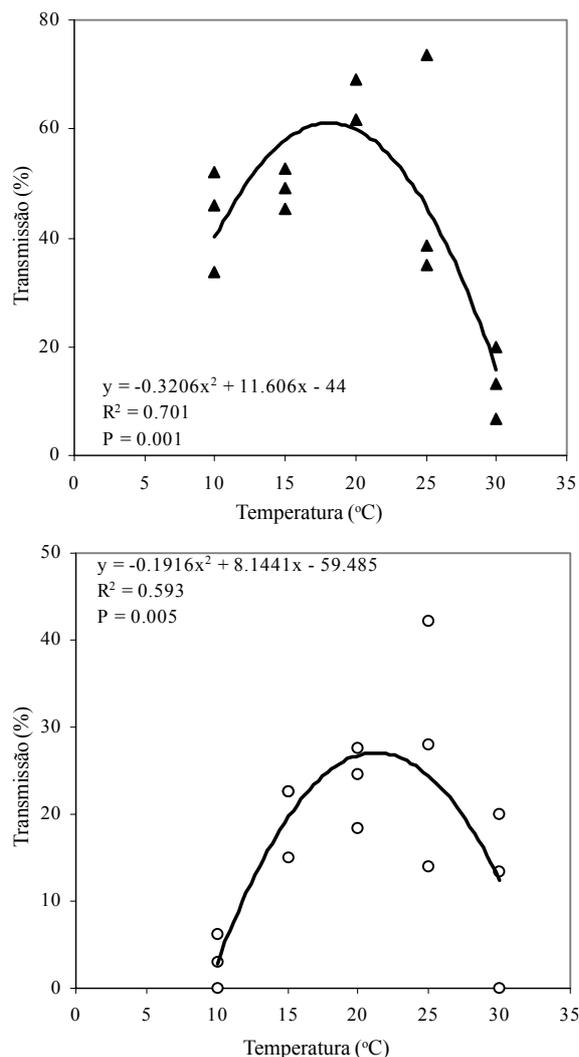
Os ensaios conduzidos permitiram obter informações adicionais quanto ao efeito da temperatura sobre a variabilidade no tempo requerido para a emergência das plântulas e para o surgimento dos primeiros coleóptilos com descoloração após a semeadura (Tabela 2). Os dados mostraram uma tendência decrescente à medida que a temperatura foi incrementada para ambos os casos.

### Evolução da transmissão e potencial de esporulação

A presença do patógeno na extremidade apical do coleóptilo foi detectada aos dez dias após a semeadura (DAS) (Figura 4), sendo que, entre 10 a 17 DAS, os valores de transmissão aumentaram significativamente em, aproximadamente, 414% e 36% entre 17 e 24 DAS. Nas últimas duas



**FIG. 1 - Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* a partir de sementes naturalmente infetadas para ápices de coleóptilos (acima) e bainhas (abaixo) [dados transformados a arc sen  $((x + 1)/100)$ ] de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare*), em função da temperatura.**



**FIG. 2 -** Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* a partir de sementes naturalmente infetadas para a região subterrânea de coleóptilos (acima) e mesocótilos (abaixo) de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare*), em função da temperatura.

semanas (24 a 38 DAS) registrou-se incremento inferior a 18% e uma eficiência de transmissão próxima a 60%, aos 38 DAS. A evolução da transmissão do fungo aos extremos apicais dos coleóptilos, quando ajustada ao modelo monomolecular, evidenciou uma taxa de  $r_m = 0,029$ .

Por outro lado, a classificação dos coleóptilos em três categorias permitiu observar que o maior número de coleóptilos infetados por *B. sorokiniana* situou-se dentro do grupo dos fortemente manchados nos cinco períodos avaliados (Tabela 3). O número de coleóptilos assintomáticos foi muito reduzido (< 1 coleóptilo/período).

No decorrer das avaliações, observou-se que o número de plantas mortas foi aumentando com o transcorrer do tempo (Tabela 3), mas os estudos feitos *in vitro* demonstraram que aproximadamente 100 a 82% (dependendo do período avaliado) foram ocasionadas por *Fusarium* spp. Na última

**TABELA 2 -** Efeito da temperatura sobre outras características avaliadas sobre a transmissão de *Bipolaris sorokiniana* por sementes de cevada (*Hordeum vulgare*)

Temperatura (°C)	Emergência (DAS <sup>1</sup> )	Primeiros coleóptilos manchados (DAS <sup>1</sup> )	Incidência de esporulação em coleóptilos (%) <sup>2</sup>
10	11 - 12	20 - 22	0,6
15	7 - 8	11 - 13	1,9
20	4 - 5	8 - 10	9,6
25	3 - 4	9 - 11	8,7
30	2 - 3	4 - 5	1,4

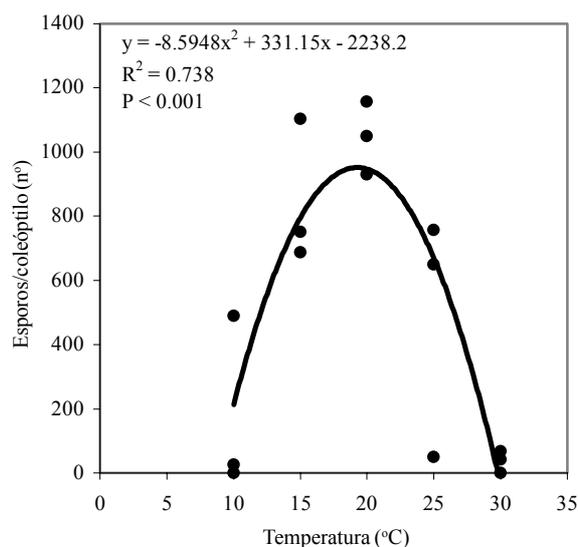
<sup>1</sup>DAS = dias após a sementeira.

<sup>2</sup> Percentagem calculada em função do total de coleóptilos removidos.

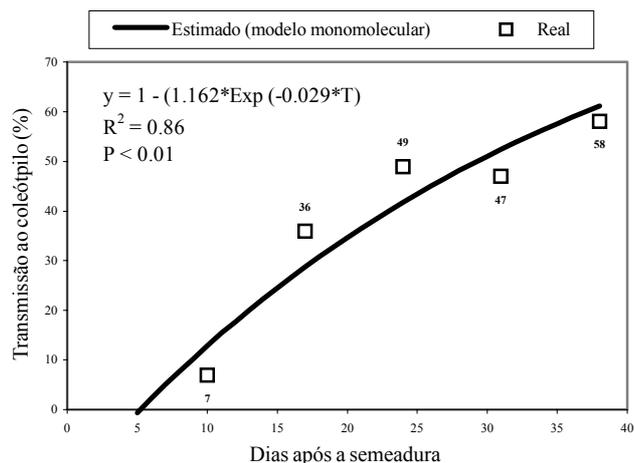
semana, apenas 18% das plântulas mortas foram causadas por *B. sorokiniana*.

A esporulação do fungo iniciou-se a partir dos 17 DAS, aumentando continuamente até aos 40 DAS (Figura 5a). Entre os 14 e 21 dias, ocorreu o maior incremento dentro do período de avaliação, com mais de 1.000%. Após os 35 dias, o número médio de conídios por coleóptilo foi maior do que 1.100. A incidência de coleóptilos com esporulação do fungo mostrou tendência similar ao número de conídios (Figura 5b).

Ao relacionar o número de conídios por coleóptilo vs. tempo e a incidência de coleóptilos com esporulação vs. tempo (Figuras 5a e 5b, respectivamente), observou-se que, no primeiro caso, a esporulação nos coleóptilos aumenta em aproximadamente 43 conídios por dia, ao passo que, na



**FIG. 3 -** Esporulação de *Bipolaris sorokiniana* em extremidades apicais de coleóptilos a partir de sementes de cevada (*Hordeum vulgare*) naturalmente infetadas, em função da temperatura.



**FIG. 4 - Evolução no tempo da transmissão de *Bipolaris sorokiniana* da semente à extremidade apical de coleótipos de cevada (*Hordeum vulgare*).**

segunda relação, a presença de coleótipos com esporulação (incidência) aumenta a cada três dias, aproximadamente.

## DISCUSSÃO

### Temperatura vs. transmissão

A transmissão dos patógenos a partir de sementes e seu estabelecimento e desenvolvimento no hospedeiro são influenciados pelas condições ambientais, sendo a temperatura e a umidade os fatores mais importantes (Gabrielson, 1987; Agarwal & Sinclair, 1997). Os resultados obtidos relativos à temperatura nas quais *B. sorokiniana* passa eficientemente da semente para os órgãos aéreos e radiculares de plântulas de cevada mostraram uma estreita margem térmica, que oscilou entre 18,7 e 21,8 °C, sendo a média de 19,7 °C ( $\approx 20$  °C). Clark & Dickson (1958) reportam que o desenvolvimento de plântulas com sintomas de crestamento por *B. sorokiniana* e podridão de raízes pode ocorrer severamente numa ampla faixa de temperatura (8 a 28 °C); porém, o desenvolvimento máximo geralmente ocorre a 20 °C. Contudo, a literatura

mostra com bastante frequência que a temperatura ótima para que *B. sorokiniana* infete os órgãos verdes situa-se na faixa de 22 e 30 °C (Luz & Bergstrom, 1986). Esses resultados corroboram parcialmente os dados obtidos no presente trabalho, pois, ao se observar diretamente esses dados, evidencia-se que, na maioria dos casos, o maior nível de transmissão foi alcançado a 25 °C, diminuindo rapidamente à temperatura de 30 °C. Nesse sentido, é possível deduzir que, para que o processo de transmissão seja bem sucedido, as condições de temperatura não, necessariamente, devem ser as mesmas especificadas para a infecção dos órgãos aéreos, sendo provavelmente restritas a uma faixa térmica ligeiramente mais estreita e inferior, que poderia situar-se entre 18 e 25 °C. Por outro lado, os resultados alcançados não permitiram detectar influência alguma da temperatura na preferência de transmissão do fungo aos órgãos aéreos e/ou radiculares, como foi relatado por Forcelini (1992).

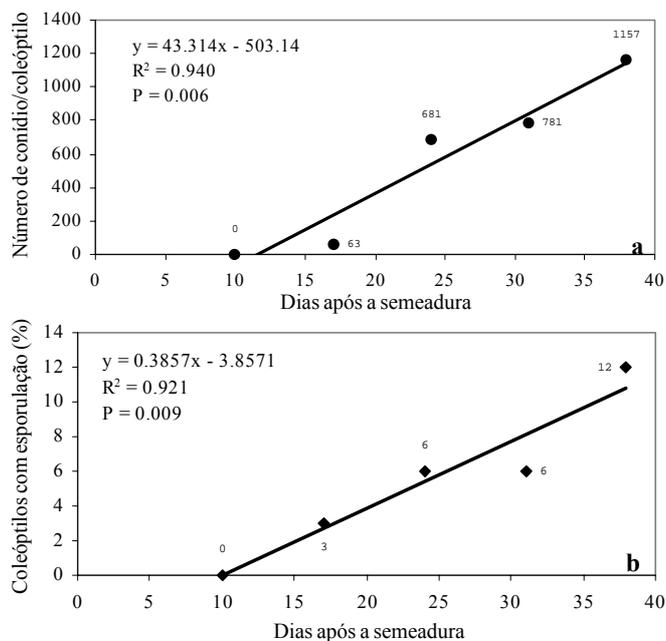
Em relação aos níveis máximos de transmissão alcançados nos diferentes órgãos (8,1 - 65,4%), nenhum valor superou a taxa encontrada em outros estudos executados por Toledo *et al.* (no prelo), nos quais a eficiência da transmissão de *B. sorokiniana* alcançou níveis próximos a 90%. As razões que explicariam essa diferença, considerando que se trabalhou com a mesma semente, poderiam ser resumidas a um aspecto fundamental, o substrato empregado (solo natural não esterilizado). Conseqüentemente, a microflora natural (antagonismo e supressão) presente no solo, como manifestam Baker & Smith (1966), Dhingra *et al.* (1980), Tanaka & Machado (1985), Agarwal & Sinclair (1997), pode reduzir a passagem do patógeno das sementes para os órgãos da planta. Esses

**TABELA 3 - Evolução da presença de descolorações em coleótipos de cevada (*Hordeum vulgare*) causada por *Bipolaris sorokiniana* em função do tempo**

DAS <sup>1</sup>	Incidência de coleótipos com <i>B. sorokiniana</i> (%)			Incidência de plantas mortas (%) <sup>2</sup>
	Fortemente manchados	Parcialmente manchados	Assintomáticos	
7	2,0	0,0	0,0	3,6
14	6,7	3,3	0,7	4,2
21	12,7	2,0	0,0	1,7
28	10,7	2,7	0,7	6,8
35	16,7	0,7	0,0	16,0

<sup>1</sup> Emergência ocorreu três dias após semeadura.

<sup>2</sup> Percentagem calculada em função do total de plântulas. DAS = dias após a semeadura.



**FIG. 5 - Esporulação de *Bipolaris sorokiniana* em extremidades apicais de coleótipos infetados a partir de sementes de cevada (*Hordeum vulgare*) naturalmente infetadas.**

autores afirmam que a microflora do solo pode inibir ou ser antagonica aos patógenos veiculados por sementes, quando essas são semeadas no solo, pois entram em competição direta com os microorganismos presentes na microflora natural do solo, onde nem sempre são bem sucedidos, podendo ocorrer uma inibição ou eliminação deles. Resultados de pesquisa nessa área têm mostrado claramente que, quando sementes infetadas são semeadas em solo esterilizado, a incidência de doença é maior do que quando a semeadura é feita em solo não esterilizado (Tanaka & Machado, 1985). Relatos de antagonismo, por exemplo, entre *Fusarium* spp. e *B. sorokiniana*, são reportados por Gutiérrez (1975).

Um aspecto particular que merece consideração foi a presença de *S. rolfii* no ensaio conduzido a 25 °C, onde esse fungo infetou um número de plântulas de até 10%, ocasionando a morte prematura e, conseqüentemente, interferindo no processo de transmissão de *B. sorokiniana*. Provavelmente, essa seja a causa pela qual a eficiência da transmissão alcançada nesse ensaio, principalmente na parte subterrânea dos coleóptilos, foi inferior à quantificada a 20 °C.

Com relação à influência da temperatura sobre a esporulação de *B. sorokiniana* nos coleóptilos, os resultados mostraram que o ponto ótimo situou-se em torno de 20 °C, quando foi alcançado o maior número de esporos por coleóptilos (> 1000 conídios), assim como a maior incidência de coleóptilos com esporulação (10%). Esses resultados são confirmados pelo trabalho desenvolvido por Kararah *et al.* (1981), os quais observaram que a esporulação ocorre com temperaturas que se encontram em torno de 20 °C. Por outro lado, sob condições de 25 °C, foi possível observar a presença de alguns coleóptilos com alta incidência de conidióforos, mas sem ou com poucos conídios, situação que provavelmente seja atribuída à temperatura.

### **Evolução da transmissão em função do tempo e potencial de esporulação**

A presença de *B. sorokiniana* na extremidade apical dos coleóptilos, registrada a partir da primeira semana após a emergência das plântulas (10 DAS), demonstra que, sob condições ambientais favoráveis (25 °C e UR > 80%), a transmissão do fungo pode se efetuar eficientemente nos primeiros estádios de desenvolvimento das plântulas de cevada, assegurando, desde muito cedo, a presença do fungo na lavoura. Em estudos semelhantes, Reis & Forcelini (1993) relatam que o fungo foi detectado em coleóptilos de plântulas de trigo, a partir da segunda semana após a semeadura, diferença que, provavelmente, pode ser atribuída ao fato de que esse trabalho foi desenvolvido sob condições semicontroladas, sobretudo de temperatura (casa de vegetação), o que possivelmente contribuiu para o retardamento do surgimento dos primeiros coleóptilos infetados. Em relação ao incremento ou evolução da transmissão, a tendência observada no presente experimento mostra similaridade com os resultados encontrados por esses autores, trabalho em que o incremento contínuo da transmissão foi evidente até aos 28 dias após a semeadura para, depois, manter-se estável entre os dias 28 e

42 dias e, finalmente, declinar aos 49.

Quanto à eficiência máxima de transmissão (58%) ocorrida aos 35 dias após a emergência no segundo experimento (substrato areia), diferiu significativamente do obtido por Toledo *et al.* (no prelo) em trabalhos de controle de *B. sorokiniana* na semente, através do uso de solventes orgânicos como veículos de fungicida, nos quais a eficiência da transmissão alcançou níveis próximos a 90%. A constatação da presença de *Fusarium* spp. (predominantemente *F. graminearum* Schw., teleomorfo *Giberella zeae* Petch), tanto em plântulas mortas (incidência > 80%) como em coleóptilos com sintomas pronunciados de descoloração (em ambos os casos transmitidos pela semente), parece indicar a razão pela qual o nível de transmissão não atingiu valores mais elevados. Scardaci & Webster (1981) reportam a ocorrência de antagonismo entre *F. graminearum* e *B. sorokiniana*, quando ambos infetam simultaneamente os tecidos da cevada, resultando em baixos níveis de crestamento de plântulas e podridões de raízes. Segundo esses autores, ambos os patógenos competem com igual eficiência pelo substrato quando conseguem infetar juntamente os tecidos. Porém, quando um deles infeta primeiro, o seu isolamento resulta mais freqüente, demonstrando a importância da colonização e da posse inicial do substrato. Relatos de antagonismo entre *Fusarium culmorum* e *B. sorokiniana* já tinham sido observados por Ledingham em 1942 (Scardaci & Webster, 1981). Gutiérrez (1975) reporta a existência de antagonismo entre *Fusarium* sp. e *H. sativum* Pam. King & Bake sob condições de laboratório (*in vitro*). Por outro lado, a literatura relata a possibilidade da existência de um tipo de "sinergismo" entre *B. sorokiniana* e *F. acuminatum*, em que o primeiro pode se tornar ainda mais agressivo na presença do outro (Fernandez *et al.*, 1985).

A presença de esporos do fungo a partir dos 14 dias após a emergência (> 17 DAS), da mesma forma que a manifestação dos primeiros coleóptilos infetados, parece ter sido fortemente influenciada principalmente pela temperatura em que se desenvolveu o ensaio. Segundo Andersen (1952) e Clark & Dickson (1958), a temperatura ótima para a germinação de conídios, crescimento micelial e esporulação de *H. sativum* encontra-se na faixa de 24 a 28 °C, sendo o ponto máximo de esporulação a 25 °C (Patil *et al.*, 1987). Reis & Forcelini (1993) observaram os primeiros sinais de esporulação a partir da terceira semana após da semeadura. Segundo esses autores, o ponto máximo foi alcançado na quarta semana, quando foram quantificados 1509 conídios por coleóptilo, tendo posteriormente declinado. Tal redução, segundo esses autores, provavelmente seja conseqüência do avançado estado de decomposição e de exaustão nutricional dos tecidos do coleóptilo. Em contraste, a tendência observada no presente ensaio foi sempre ascendente até a última semana de avaliação, na qual foram contabilizados aproximadamente 1100 conídios por coleóptilo. O número de avaliações realizadas não permitiu estabelecer o momento em que a produção de esporos começa a diminuir.

Em geral, Reis & Forcelini (1993) salientam que a

importância da semente como fonte de inóculo primário decorre da eficiência da transmissão e do potencial de esporulação do parasita a partir do momento em que a plântula atinge a superfície do solo. Finalmente, deve ser mencionado que a transmissão de *B. sorokiniana* é tão eficiente que, muitas vezes, supõe-se que o inóculo venha de fontes de inóculo externas e trazido pelo vento, quando, na verdade, vem da própria semente.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, V.K. & SINCLAIR, J.B. Principles of seed pathology. 2<sup>da</sup> Ed. CRC Press. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida. 1997.
- ANDERSEN, N.A.L. Development of wheat head-blight incited by *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology* 42:453-456. 1952.
- BAKER, K.F. & SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 3:311-334. 1966.
- BERGAMIN FILHO, A. & AMORIM, L. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. Agronômica Ceres. São Paulo, SP. 1996.
- CLARK, R.V. & DICKSON, J.G. The influence of temperature on disease development in barley infected by *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology* 48:305-310. 1958.
- DHINGRA, O.D., MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ FILHO, J. da. Tratamento de sementes (controle de patógenos). Viçosa, MG. Ed. Universitária UFV. 1980.
- DIEHL, J.A. & MINELLA, E. Flora fitopatogênica associada a sementes de cevada no Rio Grande do Sul, 1982-83. *Fitopatologia Brasileira* 10:443-446. 1985.
- FERNANDEZ, J.A., WOFFORD, D.S. & HORTON, J.L. Augmentation of wheat common root by *Fusarium acuminatum*. *Mycopathologia* 90:177-179. 1985.
- FORCELINI, C.A. Incidência, transmissão e controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo (Tese de Mestrado). Piracicaba, SP. ESALQ. 1992.
- GABRIELSON, R.L. Certification schemes for reduction of elimination of seed-borne inoculum. In: Nasser, L.C., Wetzel, M.M. & Fernandes, J.M. (Eds.). Proceedings Seed Pathology International Advanced Course. Abrates/Copasem/Embrapa/CNPT/CNPq. Passo Fundo, RS. 1987. pp.232-244
- GUTIÉRREZ, C.G.M. Estudio del antagonismo entre *Fusarium* sp. y *Helminthosporium sativum* in vitro: influencia del substrato y temperatura. *Anales Científicos, Universidad Nacional Agraria* 13:23-29. 1975.
- KARARAH, M.A., EL-SHEHEDI, A.A. & EL-SALAMONI, I.A. Physiological studies on *Helminthosporium sativum* P., K. & B., the causal organism of leaf spot of wheat in Egypt. *Agricultural Research Review* 59:127-148. 1981.
- LIMA, M.I.P.M., FERNANDES, J.M.C., MINELLA, E. & ÁRIAS, G. Determinação de patógenos em sementes de cevada - ensaio final 1998. Anais, XIX Reunião Anual de Pesquisa de Cevada. Passo Fundo. Embrapa-Trigo. 1999. pp.437-442.
- LUZ, W.C. da & BERGSTROM, G.C. Temperature-sensitive development of spot blotch in spring wheat cultivars differing in resistance. *Fitopatologia Brasileira* 11:197-204. 1986.
- LUZ, W.C. da & MINELLA, E. Microorganismos das sementes de cevada em diferentes locais do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 7:387-391. 1982.
- NEERGAARD, P. Seed pathology. v.1. London. The Macmillan Press. 1983.
- PATIL, I.S., KULKARNI, S. & HEGDE, R.K. Studies on the leaf blight of barley (*Hordeum vulgare* L.) caused by *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. and Jain. II. Host-parasite relationship studies of *D. sorokiniana*. *Mysore Journal of Agricultural Sciences* 21:43-46. 1987.
- PICININI, E.C. & FERNANDES, J.M. Efeito de fungicidas no controle "in vitro" e "in vivo" de *Bipolaris sorokiniana* e de *Fusarium graminearum*. In: Anais, XIX Reunião Anual de Pesquisa de Cevada. Passo Fundo. Embrapa-Trigo. 1999. pp. 418-422.
- REIS, E.M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. *Plant Disease* 67:68-70. 1983.
- REIS, E.M. Patologia de sementes de cereais de inverno. São Paulo, SP. CND. 1987.
- REIS, E.M. & FORCELINI, C.A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopatologia Brasileira* 18:76-81. 1993.
- SCARDACI, S.C. & WEBSTER, R.K. Antagonism between the cereal root rot pathogens *Fusarium graminearum* and *Bipolaris sorokiniana*. *Plant Disease* 65:965-967. 1981.
- TANAKA, M.A.S. & MACHADO, J. da C. Patologia de sementes. Informe Agropecuário 11:40-46. 1985.
- TOLEDO, J., ROCA, R.H. & ESCÓBAR, R.E. Transmisión, persistencia y control químico de *Bipolaris sorokiniana* causante de la punta negra del grano en trigo. In: Informe Técnico. Proyecto de Investigación Trigo. CIAT. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. 1996. pp. 87-106.