

INÊS ROEDER NOGUEIRA MENDES

**PRÁTICAS AGRÍCOLAS NO MANEJO DA MANCHA DE RAMULÁRIA NO
ALGODOEIRO**

TANGARÁ DA SERRA – MT, BRASIL

2018

INÊS ROEDER NOGUEIRA MENDES

**PRÁTICAS AGRÍCOLAS NO MANEJO DA MANCHA DE RAMULÁRIA NO
ALGODOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: D. Sc. Dejânia Vieira de Araújo

TANGARÁ DA SERRA – MT, BRASIL

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte

M538p Mendes, Inês Roeder Nogueira.
Práticas Agrícolas no Manejo da Mancha de Ramulária no
Algodoeiro. /

Inês Roeder Nogueira Mendes. 2018.

66 f.

Orientador: Dr(a). Dejânia Vieira de Araujo.

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ambientes e
Sistemas de Produção Agrícola. Universidade do Estado de Mato Grosso –

Bibliotecária: Suzette Matos Bolito – CRB1/1945.

INÊS ROEDER NOGUEIRA MENDES

“PRÁTICAS AGRÍCOLAS NO MANEJO DA MANCHA DE RAMULÁRIA EM
ALGODOEIRO”

Dissertação apresentada à
Universidade do Estado de Mato
Grosso, como parte das exigências
do Programa de Pós-graduação
Stricto Sensu em Ambiente e
Sistemas de Produção Agrícola para
obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2018.

Banca Examinadora



Prof. Dra. Dejânia Vieira de Araújo
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT
Orientadora



Prof. Dra. Solange Maria Bonaldo
Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT
Membro externo



Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT
Membro interno

TANGARÁ DA SERRA/MT- BRASIL

2018

DEDICATÓRIA

À minha família, que sempre apoiou e incentivou minha vida acadêmica. Aos colegas e a minha orientadora, pelo árduo esforço e dedicação aos experimentos. Ao João Paulo, pelo apoio e auxílio durante as horas mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a DEUS, por ter me concedido o dom da vida, e por ter me abençoado com esta oportunidade de seguir na vida acadêmica com pessoas muito especiais.

À minha família pelo amor e apoio incondicional, sempre ao meu lado.

Ao João Paulo Ascari, que sempre me incentivou, apoiou e auxiliou, com paciência e ternura.

À professora Dejânia, não só pela orientação desde a graduação, mas também pela amizade e companheirismo.

A todos os colegas, de laboratório e de turma, pelo auxílio na condução dos experimentos e pela convivência de todo dia. Também aos colegas que ajudaram na finalização deste trabalho Cristiane e Beatriz.

À Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, em especial ao Campus de Tangará da Serra – MT, ao Programa de Pós-Graduação Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola – PPGASP pela oferta e oportunidade de realização do curso do mestrado. Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa de estudos, que sem a qual, talvez não teria chegado até o fim dessa etapa.

“E no final você vai olhar para trás e agradecer por cada tropeço. Acredite, Deus não falha”.

“O que as suas mãos tiverem que fazer, que o façam com toda a sua força, pois na sepultura, para onde você vai, não há atividade nem planejamento, não há conhecimento nem sabedoria”.

Eclesiastes, 7:9-10

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO GERAL -----	09
INTRODUÇÃO GERAL -----	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	16
ARTIGO I -----	19
Introdução -----	21
Material e Métodos -----	22
Resultados e Discussão -----	24
Conclusões -----	31
Referências -----	31
ARTIGO II -----	36
Introdução -----	38
Material e Métodos -----	40
Resultados e Discussão -----	44
Conclusões -----	55
Referências Bibliográficas -----	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS -----	59
ANEXO I -----	60

RESUMO GERAL

O Estado de Mato Grosso destaca-se no cenário nacional com a maior área plantada e maior produtividade da cultura do algodão, sendo esta, uma das principais atividades econômicas do Brasil. A principal doença que acomete a cultura é a mancha de ramulária (*Ramularia areola*), que atualmente demanda aplicações de fungicidas semanais, acarretando danos ambientais irreparáveis. O patossistema *Ramularia areola*-algodão deve ser melhor explorado frente as novas técnicas de manejo como a utilização de coberturas de solo, são exemplos a crotalária (*Crotalaria ochroleuca*) e o milheto (*Pennisetum glaucum*). Este estudo teve por objetivo avaliar a dinâmica do patossistema *Ramularia areola* e algodão. O estudo foi realizado em condições de campo e de laboratório, conduzido durante as safras 2015/2016 e 2016/2017. Em campo foi utilizado o delineamento de blocos casualizados, em esquema de fatorial duplo 3x2, sendo três coberturas de solo (milheto, crotalária e pousio) e duas condições de aplicação de fungicida (com e sem), com quatro repetições. A severidade da doença foi avaliada em 12 plantas aleatórias, por parcela, utilizadas para calcular a área abaixo da curva da severidade (AACPS) da doença. Foi realizada a colheita de todas as plantas presentes na área útil, das quais foi obtido a produtividade em caroço e em fibra em kg ha⁻¹. Com os dados de produtividade das parcelas com e sem aplicação de fungicidas calculou-se o dano causado pelo patógeno. Na ausência de aplicação de fungicidas na safra 2015/2016, ocorreu a maior AACPS da mancha de ramulária no algodão cultivado sobre a palhada de milheto, não diferindo da crotalária na safra 2016/2017, sendo que nesta última safra o cultivo em pousio apresentou a maior AACPS da doença. Contudo, a produtividade de algodão em caroço e em fibra foi superior, quando cultivado sobre as duas coberturas de solo, em ambas as safras. Demonstrando a importância do manejo com coberturas de solo, que mesmo apresentando maior AACPS na primeira safra, ainda auxiliou no aumento da produtividade da cultura. Quanto as aplicações de fungicida, quando realizadas reduziram em média 50% da AACPS. Em laboratório foi avaliada a inoculação do patógeno em sementes, realizada em fatorial duplo 2x5, utilizando dois isolados (*Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*) e cinco tempos de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h). Foram realizados os testes de germinação, avaliando-se a porcentagem de germinação e o comprimento de parte aérea, teste de sanidade, avaliada a incidência do fungo sobre as sementes, e teste de emergência em substrato, onde se avaliou o índice de velocidade de emergência; o estande final; a massa seca das plantas; o comprimento de parte aérea e de raiz e a porcentagem de infecção em plantas assintomáticas, para verificar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes e a transmissão do patógeno para as plântulas. Cada teste foi repetido nas mesmas condições em dois anos. Os isolados *R. areola* e *M. areola* não diferiram em relação a germinação de sementes, porém, quanto maior o tempo de inoculação nas sementes menor foi a porcentagem de germinação das mesmas, demonstrando a influência do nível de inoculo do patógeno na qualidade das sementes. Na inoculação de sementes a porcentagem de infecção no teste de sanidade foi maior nos tempos de 48h e 72h para os isolados *R. areola* e *M. areola*, respectivamente, sendo que no segundo ano os isolados não diferiram estatisticamente, devido a perda da viabilidade de *M. areola*. Quanto a emergência em substrato, o isolado *M. areola* foi mais agressivo, diminuindo o índice de velocidade de emergência e influenciando em maior número de plântulas infectadas, no segundo ano observou-se sua influencia reduzindo o estande final de plântulas. O tempo de inoculação influenciou no IVE e

incidência em plântulas assintomáticas no primeiro ano, além destes influenciou também no altura de plantas e estande final no segundo ano, em todas essas variáveis os tempos de 24h e 96h foram desfavoráveis a inoculação do patógeno, não devendo ser utilizados em trabalhos de laboratório. Foram avaliadas, em laboratório, a persistência do fungo e a germinação de conídios em restos culturais (folhas) coletadas no campo, durante o período de safra (março) e dois meses após a destruição da soqueira (setembro), essas coletas se repetiram em duas safras (2015/2016 e 2016/2017), totalizando quatro coletas. Os tratamentos foram constituídos de dois locais de coleta, um com aplicação regular de fungicidas e outro sem aplicações de fungicidas. As variáveis analisadas foram a germinação média inicial e final de conídios e o tempo médio de permanência das estruturas do fungo nos restos culturais. Observou-se um tempo médio de sobrevivência do fungo de cinco semanas para as coletas realizadas durante as safras, e de quatro semanas quando realizadas após destruição de soqueira. A germinação média inicial dos conídios foi menor nas folhas coletadas em áreas com aplicação regular de fungicidas. Com esse estudo, verificou-se que as coberturas de solo foram benéficas a produção do algodão e que as aplicações de fungicidas influenciam na sobrevivência do patógeno nos restos culturais. Foi verificada a associação do patógeno com as sementes, promovendo a redução de sua qualidade fisiológica. O patossistema *Ramularia areola* - algodão vem evoluindo, causando maior dano em áreas cultivadas em sistema convencional e neste estudo foi possível provar sua associação com sementes de algodão e sobrevivência em folhas senescentes em processo de decomposição.

Palavras-chave: *Ramularia areola*, cotonicultura, coberturas de solo.

RELATIONSHIP PATHOGEN, HOST AND ENVIRONMENTAL: STUDY OF THE RAMULARIA LEAF SPOT IN COTTON

Abstract: The State of Mato Grosso stands out with the greater planted area and greater productivity of the cotton crop, being this, one of the main economic activities of Brazil. The aim of this study was to evaluate the dynamics of the *Ramularia areola* and cotton. The study was conducted in field and laboratory conditions, conducted during the 2015/2016 and 2016/2017 harvests. In the field, a randomized complete block design was used in a 3x2 double factorial scheme, with three soil covers (millet, crotalaria and fallow) and two fungicide application conditions (with and without), with four replications. The severity of the disease was evaluated in 12 random plants, per plot, used to calculate the area under the disease progress (AUDPC). All the plants present in the useful area were harvested, from which the yield of seed and fiber in kg ha⁻¹ was obtained. With the productivity data of the plots with and without fungicide application, the damage caused by the pathogen was calculated. In the absence of application of fungicides in the 2015/2016 harvest, the highest AUDPC occurred on the RLS in the cotton cultivated on the straw of millet, not differing from the crotalaria in the 2016/2017 harvest, and in the latter crop the clean fallow presented the higher AUDPC of the disease. However, the yield of cotton seed and fiber was higher, when cultivated in both soil covers. Demonstrating the importance of soil cover management, which, even with higher AUDPC in the first harvest, also helped increase crop productivity. Regarding the fungicide applications, when performed, they reduced on average 50% of the AUDPC. In the laboratory, inoculation of the pathogen in seeds was carried out in a double 2x5 factorial, using two isolates (*Ramularia areola* and *Mycosphaerella areola*) and five inoculation times (0h, 24h, 48h, 72h and 96h). Germination tests were carried out, germination percentage and shoot length, sanity test, fungal incidence on seeds, and substrate emergency test were evaluated, where the rate of emergence was evaluated; the final booth; the dry mass of the plants; the aerial and root length and the percentage of infection in asymptomatic plants, to verify the physiological and sanitary quality of the seeds and the transmission of the pathogen to the seedlings. Each test was repeated under the same conditions in two years. The isolates *R. areola* and *M. areola* did not differ in relation to the germination of seeds, however, the longer the inoculation time in the seeds the lower the germination percentage of the seeds, demonstrating the influence of the level of inoculum of the pathogen on the quality of the seeds. In seed inoculation, the percentage of infection in the sanity test was higher in the 48h and 72h times for the *R. areola* isola and *M. areola* isolates, respectively, and in the second year the isolates did not differ statistically due to loss of viability *M. areola*. As for substrate emergence, the *M. areola* isola isolate was more aggressive, decreasing the rate of emergence and influencing a larger number of infected seedlings, in the second year its influence was observed reducing the final stand of seedlings. The time of inoculation influenced the IVE and incidence in asymptomatic seedlings in the first year, besides these also influenced the height of plants and final stand in the second year, in all these variables the times of 24h and 96h were unfavorable to inoculation of the pathogen and should not be used in laboratory work. The fungus persistence and germination of conidia in cultural remains (leaves) collected in the field, during the harvest period (March) and two months after the destruction of the soqueira (September) were evaluated in laboratory, these collections were repeated in two harvests (2015/2016 and 2016/2017), totaling four collections. The treatments consisted of two collection sites,

one with regular application of fungicides and the other with no fungicide applications. The analyzed variables were the initial and final mean germination of conidia and the mean time of permanence of the fungus structures in the cultural remains. A mean survival time of the five-week fungus was observed for the harvests collected during the harvests, and four weeks when harvested after destruction of the harvester. The initial average germination of the conidia was lower in the leaves collected in areas with regular application of fungicides. With this study, it was verified that soil covers were beneficial to cotton production and that fungicide applications influence the survival of the pathogen in the cultural remains. It was verified the association of the pathogen with the seeds, promoting the reduction of their physiological quality. The *Ramularia areola* - cotton patossystem has been evolving, causing greater damage in cultivated areas in conventional system and in this study it was possible to prove its association with cotton seeds and survival in senescent leaves in the process of decomposition.

Key words: *Ramularia areola*, cottonculture, soil covers.

INTRODUÇÃO GERAL

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das principais plantas produtoras de fibra, sendo o Brasil um dos cinco principais produtores dessa planta e o Estado de Mato Grosso com maior área cultivada concentra 72% da produção nacional. Na safra 2016/2017, a área plantada no estado foi de 939,1 mil ha e a produtividade média de 2.445 kg ha⁻¹, com estimativa de aumento de 11,9% em área para a safra 2017/2018 (CONAB, 2018).

A cotonicultura é conhecida pelas extensas áreas cultivadas em sistema de monocultura, intenso *input* de tecnologias e aplicações de agrotóxicos. Em Mato Grosso a principal forma de cultivo é a sucessão de monoculturas, sendo que em 70% da área, o algodão é cultivado após a cultura da soja. Algumas formas de manejo vêm sendo implementadas como alternativas para diminuir os impactos ambientais do cultivo de algodão, tais como cultivo com palhada de milho para melhoria das condições de solo e fertilidade (MEHTA et al., 2016; FERREIRA et al., 2010).

Segundo o International Cotton Advisory Committee - ICaC (2015), o Brasil lidera o ranking de produção de algodão sustentável, sendo que este é reconhecido mundialmente, e leva em consideração fatores ambientais, sociais e econômicos da produção. Esse fato se deve as implantações de novas formas de cultivo, tais como a utilização de coberturas de solo. Entretanto, alguns problemas fitossanitários elevam os custos com aplicações de agrotóxicos, além de dificultar mudanças no manejo e ameaçam a produção sustentável (MEHTA et al., 2016).

Um dos fatores que proporciona aumento no custo de produção, sendo também o principal entrave para o aumento da produtividade, é a doença mancha de ramulária (*Ramularia areola* Atkinson) sendo responsável por perdas de até 36% na produção. A doença não tem atingido níveis de controle adequados em Mato Grosso, observa-se que está sendo apenas parcialmente controlada com massivas aplicações de fungicidas, contribuindo para a insustentabilidade ambiental do cultivo de algodão (GIROTTO et al., 2013; PIZZATO et al., 2014; VOLPONI et al., 2014; GILIO et al., 2017).

A mancha de ramulária foi relatada inicialmente nos Estados Unidos por Atkinson (1890). Posteriormente, verificou-se a ocorrência em quase todas as regiões produtoras de algodão no mundo, incluindo grandes países produtores como

Madagascar, Índia e Brasil, afetando as quatro espécies de algodão cultivadas comercialmente, *Gossypium arboreum*, *G. herbaceum*, *G. hirsutum* e *G. barbadense* (BELL, 1981). Novaes et al. (2011) e Volponi et al. (2014) relataram que, no estado de Mato Grosso, a doença é favorecida por condições climáticas semelhantes às que favorecem o cultivo do algodão, considerando temperaturas entre 12 e 32 °C, associada à umidade relativa superior a 80 %, ideais tanto para o cultivo quanto para o desenvolvimento do patógeno (CURVELO et al., 2010).

Segundo Bell (1981), o ciclo de vida o fungo *R. areola* apresenta três estágios, sendo o primeiro, o estágio conidial, em que o fungo se desenvolve nas folhas do hospedeiro vivo. No segundo, o fungo passa para o estágio espermogonial, este se adapta nas folhas caídas para a sobrevivência do patógeno. Por último desenvolve-se um estágio de ascógeno, onde há formação de estruturas da forma teleomórfica (*Mycosphaerella areola* Ehrlich & Wolf) nos restos culturais.

Mehta et al. (2016) relataram a ocorrência da fase sexual do fungo (*M. areola*) no estado de Mato Grosso. Anterior a este relato, Gouws et al. (2001) encontraram ascos em áreas de algodão irrigado na África do Sul, comprovando a persistência do patógeno na área e a variabilidade genética em diferentes campos de produção.

Contudo, até o momento não há evidências sobre a transmissão deste patógeno por sementes. Havis et al. (2014) encontraram evidências de transmissão do fungo *Ramularia collo-cygni* via semente na cultura da cevada, desenvolvendo-se de forma assintomática no hospedeiro, até que este alcance a fase reprodutiva da cultura, onde iniciam-se os sintomas do patógeno na planta. Esse comportamento em campo é semelhante ao que ocorre na cultura do algodão, podendo ser um indicativo de transmissão assintomática do fungo via semente.

A falta de estudos que esclareçam o ciclo da relação patógeno-hospedeiro, principalmente a sobrevivência e a dispersão do fungo, resultam em adoção de táticas de manejo menos eficientes para o manejo da doença. A tática mais usada é controle químico com aplicações preventivas, tornando-se semanais após o aparecimento dos sintomas da doença. Com a utilização de material genético sem alto grau de resistência, a mancha de ramulária tem ocorrido cada vez mais cedo no campo, aproximadamente aos 45 dias após a semeadura, fazendo com que seja intensificado o número de aplicações de fungicidas. Há relatos de mais de 15 aplicações de

fungicidas durante o ciclo do algodão, o que não é favorável para a cultura e nem ao meio ambiente (DIAS et al., 2015; STEFANELLO et al., 2015).

A adoção da técnica de controle cultural utilizando-se plantas de coberturas do solo proporciona diversas vantagens ao agroecossistema, tais como a redução da competição de plantas daninhas, controle de temperatura e umidade no solo, redução da lixiviação de nutrientes no perfil do solo e regulação do microclima. Essas características favorecem o desenvolvimento da planta, tornando-as mais aptas a se defenderem ao ataque de pragas em geral (RODRIGUES et al., 2009). No entanto, para o uso de palhada no cultivo do algodão é importante que as espécies escolhidas tenham boa qualidade e persistência da massa seca sobre o solo, sendo um grande desafio para cotonicultura, devido ao ciclo longo da cultura (FERREIRA et al., 2010).

Neste sentido, estudos vêm sendo realizados, sobretudo para a região do Cerrado, que possui um clima favorável a degradação e decomposição rápida das coberturas. Com base nesse cenário, espécies leguminosas do gênero *Crotalaria* e gramíneas como *Pennisetum glaucum* oferecem boa cobertura do solo, liberação de nutrientes como nitrogênio e potássio e são boas opções para áreas de cotonicultura, visto que a persistência de palhada proporciona cobertura do solo durante boa parte do ciclo de várias cultivares atuais (FERREIRA et al., 2010).

No entanto, ainda não se tem estudos mais detalhados sobre como essas novas formas de manejo afetam o desenvolvimento do patógeno e a severidade da doença, visto que, no Brasil as pesquisas em epidemiologia de *R. areola* são recentes. São praticamente inexistentes informações sobre o ciclo da relação patógeno-hospedeiro e a forma com que o patógeno chega as lavouras, o que dificulta a implantação de um plano de manejo adequado, que possa ter menos impactos econômicos e ambientais (GIROTTTO et al., 2013; PIZZATO et al., 2013; VOLPONI et al., 2014; MEHTA et al., 2016).

A coleta de dados sobre produção de inóculo, desenvolvimento e disseminação do patógeno, ajudará na elucidação do ciclo do patógeno e na elaboração de práticas de manejo mais viáveis (JOHNSON et al., 2013). Assim o objetivo deste estudo foi avaliar a dinâmica do patossistema *Ramularia areola* e algodão. A pesquisa está dividida em dois artigos, sendo o primeiro intitulado “Mancha de ramulária: severidade em algodão cultivado sob diferentes coberturas de solo” e o segundo “*Ramularia areola*: Infecção em sementes e sobrevivência em restos culturais”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINSON, G.F. A new *Ramularia* on cotton. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 15, n. 7, p.166-168, 1890.

BELL, A.A. Areolate mildew. In: Watkins, G.M. (Ed.). **Compendium of cotton diseases**. 1981. p.32-35.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Quarto levantamento, Safra 2017/2018**. Conab, Brasília, v. 5, n. 4, p. 15-42, 2018.

CURVELO, C.R.S.; RODRIGUES, F.A.; BERGER, P.G.; REZENDE, D.C. Microscopia eletrônica de varredura do processo infeccioso de *Ramularia areola* em folhas de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 108-113, 2010.

DIAS, L.D.E.; SILVA, D.M.V.; ASCARI, J.P.; BAGATINI, G.J.; AMBROSIO, J.; BATISTTI, M.; ARAUJO, D.V. Controle de Mancha de ramulária em algodão adensado. **Revista Cultivar - Grandes Culturas**, Pelotas, v. 1, n. 187, p. 8-11, 2015.

FERREIRA, A.C.B.; LAMAS, F.M.; CARVALHO, M.C.S.; SALTON, J.C.; SUASSUNA, N.D. Produção de biomassa por cultivos de cobertura do solo e produtividade do algodoeiro em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 6, p. 546-553, 2010.

GILIO, T.A.S.; ARAÚJO, D.V.; ARAUJO, K.L.; FREGONEZE, T.E.; FRANZON, R.C.; PIZATTO, J.A. Estimated damage caused by ramularia leaf spots on cotton. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 1, p. 12-19, 2017.

GIROTTI, L.; MARANGONI, M.S.; MATOS, J.N.; GALBIERI, R.; ALMEIDA, W.P.; MEHTA, Y.R. Identification of phenotypic and genotypic variability among the isolates of *Ramularia areola* of brazilian cotton. **American Journal of Plant Sciences**, Temuco, v. 4, n. 9, p. 1893-1898, 2013.

GOUWS, M.A.; PRINSLOO, G.C.; VAN DER LINDE, E.J. First report of *Mycosphaerella areola*, teleomorph of *Ramulariopsis gossypii*, on cotton in South Africa. **African Plant Protection**, v. 7, n. 2, p. 115-116, 2001.

HAVIS, N.D.; NYMANB, M.; OXLEYC, S.J.P. Evidence for seed transmission and symptomless growth of *Ramularia collo-cygni* in barley (*Hordeum vulgare*). **Plant Pathology**, Viçosa, v. 63, p. 929-936, 2014.

ICAC. International Cotton Advisory Committee. Cotton: world statistics. Disponível em: <<https://icac.generation10.net/index/index>>. Acesso em: 14 abril 2016.

JOHNSON I.; RAMJEGATHESH, R.; KARTHIKEYAN, M.; CHIDAMBARAM P. Epidemiology of grey mildew and Alternaria blight of cotton. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n. 18, p. 2216-2223, 2013.

MEHTA, Y.R.; GALBIERI, R.; MARANGONI, M.S.; BORSATO, L.C.; RODRIGUES, H.P.; PEREIRA, J.; MEHTA, A. *Mycosphaerella areola* - The Teleomorph of *Ramularia areola* of Cotton in Brazil, and Its Epidemiological Significance. **American Journal of Plant Sciences**, v. 00, n. 7, p. 1415-1422, 2016.

NOVAES, T. G.; ALMEIDA, W.P.; SCHUSTER, I.; AGUIAR, P.; MEHTA, Y.R. Herança de resistência do algodoeiro a *Ramularia areola*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 2, p. 150-152, 2011.

PIZZATO, J.A.; ARAÚJO, D.V.; GALVANIN, E.A.S.; ROMANO JÚNIOR, J.; MATOS, A.N.A.; VECCHI, M.; ZAVISLAK, F.D. Geostatistics as a methodology for studying the spatiotemporal dynamics of *Ramularia areola* in cotton crops. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 5, n. 56, p. 2472-2479, 2014.

RODRIGUES, D.S.; NOMURA, E.S.; GARCIA, V.A.; Coberturas de solo afetando a produção de alface em sistema orgânico. **Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 3, p. 332-335, 2009.

STEFANELO, M.S.; OHL, G.A.; TAKIZAWA, E.K. Agressiva e frequente. **Revista Cultivar - Grandes Culturas**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 11-13, 2015.

VOLPONI, J.; MATOS, J.N.; GIROTTI, L.; MARANGONI, M.S.; GALBIERI, R.; MEHTA, Y.R. Spore types and spore production of *Ramularia areola* for screening cotton germplasm for resistance. **American Journal of Plant Sciences**, Temuco, v. 5, p. 2413-2417, 2014.

ARTIGO I

[Revista Caatinga]

COBERTURA DE SOLO E SUA INFLUÊNCIA NA MANCHA DE RAMULÁRIA NO CULTIVO DE ALGODÃO

INÊS ROEDER NOGUEIRA MENDES ^(1*) E DEJÂNIA VIEIRA DE ARAÚJO ⁽²⁾

(*) Autor para correspondência.

(1) Mestranda em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola – PPGASP, Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra – MT. E-mail: ynes_nogueira@hotmail.com

(2) Professora D. Sc. do Mestrado em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola – PPGASP, Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra – MT. Centro de Pesquisa, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambiental – CPEDA. E-mail: dejania@unemat.br

RESUMO – A mancha de ramulária causada pelo fungo *Ramularia areola* é a principal doença da cultura do algodão atualmente, sendo capaz de reduzir a produtividade da cultura. Objetivou-se avaliar a influência das coberturas de solo e aplicações de fungicidas na severidade da mancha de ramulária e produtividade do algodoeiro. O delineamento experimental foi constituído em esquema fatorial duplo, sendo duas condições de aplicação de fungicida (com e sem) e três coberturas de solo (*Pennisetum glaucum*, *Crotalaria ochroleuca* e pousio), com quatro repetições. Os primeiros sintomas da doença foram observados aos 65 dias após a semeadura (DAS), também sendo iniciado o manejo de aplicação nas parcelas sorteadas, ambos com intervalos de sete dias, a partir destes dados foi determinada a curva de progresso da doença e área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da doença. Após a colheita foram determinadas a produtividade em caroço e em fibra, assim como o dano na produtividade. Quando foram realizadas as aplicações de fungicida, as coberturas de solo não influenciaram na severidade da doença, porém sem aplicação, a área com cobertura de milheto apresentou maior AACPS na safra 2015/2016, em relação ao pousio e a palhada de crotalária, que não diferiram entre si. Na safra 2016/2017, com coberturas de milheto e crotalária observou-se menor AACPS, que diferiu do pousio. A produtividade de algodão em caroço e em fibra foram

maiores quando cultivado sobre as coberturas de crotalária e milheto, porém, o dano à produtividade do algodoeiro foi maior no pousio. As coberturas crotalária e milheto promoveram incrementos de até 22% na produtividade do algodoeiro, além de não influenciarem na AACPS quando aplicado fungicidas, sendo táticas de manejo sustentável indicadas para acrescentar no cultivo de algodão.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum*. Plantas de cobertura. *Ramularia areola*. AACPS. Progresso da doença.

RAMULARIA LEAF SPOT: SEVERITY IN COTTON CULTIVATED UNDER DIFFERENT SOIL COVERS

ABSTRACT: The ramularia leaf spot caused by the fungus *Ramularia areola* is the main disease of the cotton crop today, being able to reduce the productivity of the crop. The aim of this study was to evaluate the influence of soil covers and fungicide applications on the severity of the cotton swidden and cotton yield. The experiment was conducted in a double factorial design, two fungicide application conditions (with and without) and three soil coverages (*Pennisetum glaucum*, *Crotalaria ochroleuca* and clean fallow), with four replications. The first symptoms of the disease were observed at 65 days after sowing (DAS), then was beginning of fungicide applications in treatments with application and disease severity assessments, both with intervals of seven days, from these data was determined the curve of disease progression and area under the disease progress curve (AUDPC). After the harvest, the productivity of the seed cotton and fiber was determined, as well as the productivity damage. Soil covers did not influence the disease when fungicide applications were carried out. However, without application, *Pennisetum glaucum* presented higher AUDPC in the 2015/2016 harvest, in relation to the clean fallow and *Crotalaria ochroleuca*, which did not differ among them. In the 2016/2017 harvest, with *Pennisetum glaucum* and *Crotalaria ochroleuca*, lower AUDPC was observed, which differed from the clean fallow. Cotton seed and fiber yields were higher when cultivated on *Crotalaria* and *Pennisetum* cover, however, damage to cotton productivity was higher in clean fallow. *Crotalaria* and *Pennisetum* cover promoted a 22% increase in cotton productivity, besides not influencing the AUDPC when applied fungicides.

Keywords: *Gossypium hirsutum*. Soil covers. *Ramularia areola*. AUDPC. Disease progression.

INTRODUÇÃO

A cotonicultura é economicamente importante para o agronegócio, sendo o Brasil um dos cinco principais produtores desta fibra. A nível nacional os Estados com maior área plantada se encontram na região do Cerrado, onde a maior produtividade é obtida em Mato Grosso, sendo alcançados 1.629 kg hectare⁻¹ em pluma, e em caroço 2.445 kg hectare⁻¹ na safra 2016/2017 (CONAB, 2018).

A cultura do algodão é conhecida pelo alto aporte de tecnologias e insumos para a produção, oferecendo muitos riscos de contaminações ambientais. Dentre os fatores que mais demandam custos, estão as aplicações de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças. A principal doença do algodoeiro é a mancha de ramulária (*Ramularia areola* Atk.), teleomorfo *Mycosphaerella areola* (Ehrlich & Wolf), que atualmente demanda aplicações semanais no manejo, ultrapassando quinze aplicações por safra em condições de clima favorável (SUASSUNA & COUTINHO, 2007; AQUINO et al. 2008; GIROTTO et al. 2013; STEFANELLO et al. 2015).

O patógeno inicia o processo infeccioso nas folhas do terço inferior da planta levando a redução da capacidade fotossintética e a desfolha prematura, consequentemente a doença reduz a produtividade da cultura, levando a perdas que podem chegar a 36% nas condições climáticas do cerrado e em genótipos suscetíveis (AQUINO et al. 2008; ASCARI et al. 2016a; GILIO et al. 2017). Os estudos regionais devem ser realizados nas principais áreas produtoras do país para monitorar o comportamento do patógeno, visto que Pezenti et al. (2013) e Girotto et al. (2013) demonstraram a variabilidade genética do fungo *R. areola* em diferentes áreas produtoras no Brasil.

Contudo, ainda não se tem dados de como novas formas de manejo estão impactando no comportamento do patógeno e na reação da planta de algodão a doença. Mudanças têm sido introduzidas no sistema de cultivo para beneficiar o ambiente cultivado, minimizar os impactos ambientais e aumentar a produtividade das culturas. Dentre elas, as plantas de cobertura do solo, em que o milheto (*Pennisetum glaucum* R. Br. Emend. Stuntz) e a crotalária (*Crotalaria ochroleuca* Meisn) são as

mais utilizadas. As condições climáticas da região do Cerrado são favoráveis a rápida decomposição dos resíduos vegetais, nesse caso, espécies como a *C. ochroleuca* e *P. glaucum* oferecem boa cobertura do solo, liberação de nutrientes como nitrogênio e potássio e são boas opções para áreas de cotonicultura (FERREIRA et al., 2010).

Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de coberturas de solo e aplicação de fungicidas na severidade da mancha de ramulária e na produtividade do algodoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante duas safras, 2015/2016 e 2016/2017, na área experimental da Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Tangará da Serra – MT. Esta região apresenta temperatura média de 24,4°C e a umidade relativa do ar entre 70% e 80% (DALLACORT et al., 2011).

Foi adotado o delineamento experimental de blocos ao acaso com esquema fatorial duplo (2 x 3), sendo dois manejos de aplicação de fungicida (com e sem aplicação) e três manejos utilizando coberturas do solo (*Pennisetum glaucum* cv. BRS 1501, *Crotalaria ochroleuca* cv. 'comum' e pousio), com quatro repetições. As parcelas experimentais foram constituídas de 52 m², composta por 8 linhas de 7,20 m de plantas de algodão.

As coberturas foram semeadas a lanço no mês de outubro dos anos de 2015 e 2016, nas densidades de 15 e 25 kg ha⁻¹ para a crotalária e o milheto, respectivamente. A dessecação foi feita aos 45 e 60 dias após a semeadura (DAS) para milheto e crotalária, respectivamente, utilizando herbicida a base de glifosato na dose de 1.400 g i.a ha⁻¹ (FERREIRA et al., 2010).

A semeadura do algodão foi realizada de forma direta sobre os resíduos vegetais na primeira quinzena de dezembro de 2015 e 2016, e foi utilizada a cultivar FM 944 GLT com densidade de 92.000 plantas por hectare, indicado para a cultivar, espaçamento entre linhas de 0,90m, totalizando 8 linhas por parcela. A adubação foi realizada com base nos resultados da análise de solo e as recomendações de Sousa & Lobato (2004). A área útil foi considerada nas quatro linhas centrais, desconsiderando 0,50 m em cada extremidade como efeito de bordadura.

A doença ocorreu de forma natural aos 65 DAS, não foi realizado inoculação do fungo *R. areola*. A partir de então, foram feitas avaliações semanais da severidade da mancha de ramulária e iniciou-se o manejo de aplicações de fungicida, apenas nas parcelas desse tratamento, realizadas com intervalo de sete dias com rotação de princípios ativos trifloxistrobina (60g i.a ha⁻¹) + protioconazol (70g i.a ha⁻¹), azoxistrobina (90g i.a ha⁻¹)+ benzovindiflupir (45g i.a ha⁻¹), piraclostrobina (66,5g i.a ha⁻¹) + epoxiconazol (25g i.a ha⁻¹), piraclostrobina (51g i.a ha⁻¹) + fluxapirroxade (42g i.a ha⁻¹), difeconazol (75g i.a ha⁻¹), e foi utilizado o volume de calda de 150 l ha⁻¹.

As avaliações de severidade da mancha de ramulária foram realizadas até a abertura dos capulhos (estádio fenológico C1) em 12 plantas marcadas aleatoriamente na área útil de cada parcela. Para isso, utilizou-se a escala diagramática elaborada por Aquino et al. (2008), com as notas: 0,05; 0,50; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0; 32,0 e 67,20% de área foliar afetada pela doença. Quando ocorreu perda das folhas do terço inferior da planta optou-se pela nota máxima de severidade (67,20%), assim como Dias et al. (2015), Ascari et al. (2016a), (2016b) e Gilio et al. (2017). Isso devido à queda das folhas causada pela doença e também baseado em outras escalas de notas para avaliação de severidade da mancha de ramulária no algodão, também foi considerada a desfolha da planta como nota máxima de severidade da mancha de ramulária (AQUINO et al., 2008; BARROS et al., 2009; ASCARI et al., 2016a).

As médias de severidade por planta foram utilizadas para calcular a curva de progresso da severidade (AACPS), a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da doença, que foi calculada utilizando a equação adaptada por Campbell & Madden (1990) $AACPS = \sum_{i=1}^{n-1} \left\{ \left[\frac{(y_i + y_{i+1})}{2} \right] * (t_{i+1} - t_i) \right\}$, onde, ni é o número de avaliações, y_i é a severidade de mancha de ramulária na "i"-ésima observação e t_{i+1}-t_i é o intervalo de tempo entre avaliações em dias.

Quando 90% dos capulhos estavam maduros, foi realizada a colheita manual, na área útil de cada parcela, constituída pelas duas linhas centrais desprezando um metro das laterais para efeito de bordadura. A produção por parcela foi pesada em balança de eletrônica para obtenção da massa em quilos (kg), sendo extrapolada para quilogramas por hectare (kg ha⁻¹) de algodão em caroço (PRODc). Foi realizado o processo de descaroçamento manual para obter a produtividade de fibra (PRODf). O

rendimento de fibra (%F) foi obtido pela relação entre a massa da fibra e do algodão em caroço (PIZZATO et al., 2013).

O dano a produtividade de algodão causado pela mancha de ramulária foi calculado de acordo com a equação adaptada por Nkalubo et al. (2007): % dano $p_{ij} = \frac{(PS_i - PD_i) * 100}{PS_i}$, onde ' % dano p_{ij} ' é a porcentagem do dano da parcela que recebeu a cobertura i na repetição j , PS_i é a produção da cobertura i na parcela com aplicação, PD_i é a produção da cobertura i nas parcelas sem aplicação.

A AACPS foi calculada utilizando o software Excel[®]. As médias da AACPS, $PROD_c$, $PROD_f$, %F e o %dano a produtividade foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada interação significativa entre os fatores coberturas de solo e aplicação de fungicidas somente para a variável área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramulária. A produtividade de algodão em caroço ($PROD_c$), em fibra ($PROD_f$) e o dano à produtividade, apresentaram diferenças entre os fatores de forma isolada.

O clima na região de Tangara da Serra é considerado altamente favorável ao cultivo de algodão e ao desenvolvimento da mancha de ramulária. Em fevereiro de 2016 e 2017 a temperatura e a umidade relativa do ar apresentaram variação em torno de 25°C e 80%, respectivamente, além de ocorrerem chuvas bem distribuídas ao longo do mês (Figura 1). Esse período coincidiu com o aparecimento dos primeiros sintomas da doença nas duas safras estudadas (2015/2016 e 2016/2017) (Figura 2).

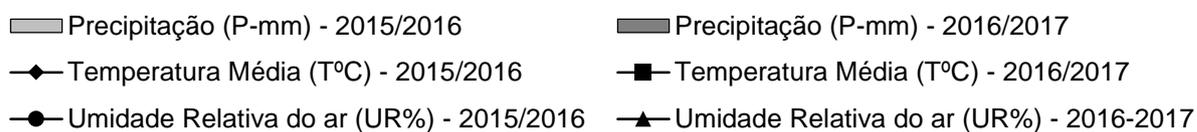
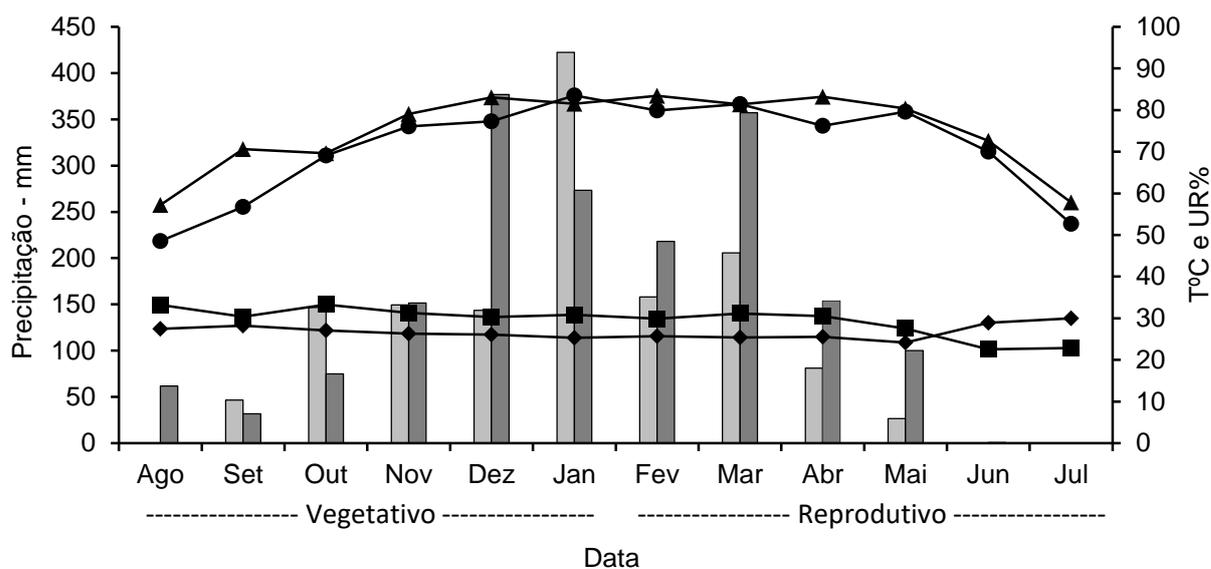


Figura 1. Valores acumulados de precipitação pluviométrica (mm mês^{-1}), valores médios de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (UR%) monitoradas na safra 2015/2016 e 2016/2017.

As características climáticas desta região foram relatadas em outros trabalhos como fator de forte influência no progresso da mancha de ramulária em genótipos de algodoeiro (DIAS, 2014; ASCARI et al., 2016a; ASCARI et al., 2016b; GILIO et al., 2017). Segundo Rathaiah (1977), Curvelo et al. (2010) e Jhonson et al. (2013) temperatura média de 24°C e umidade relativa média de 80% são ideais para o desenvolvimento, disseminação e infecção de *R. areola*, assim como foi observado de média para os dois anos safra na região 25°C de temperatura e 82% de UR.

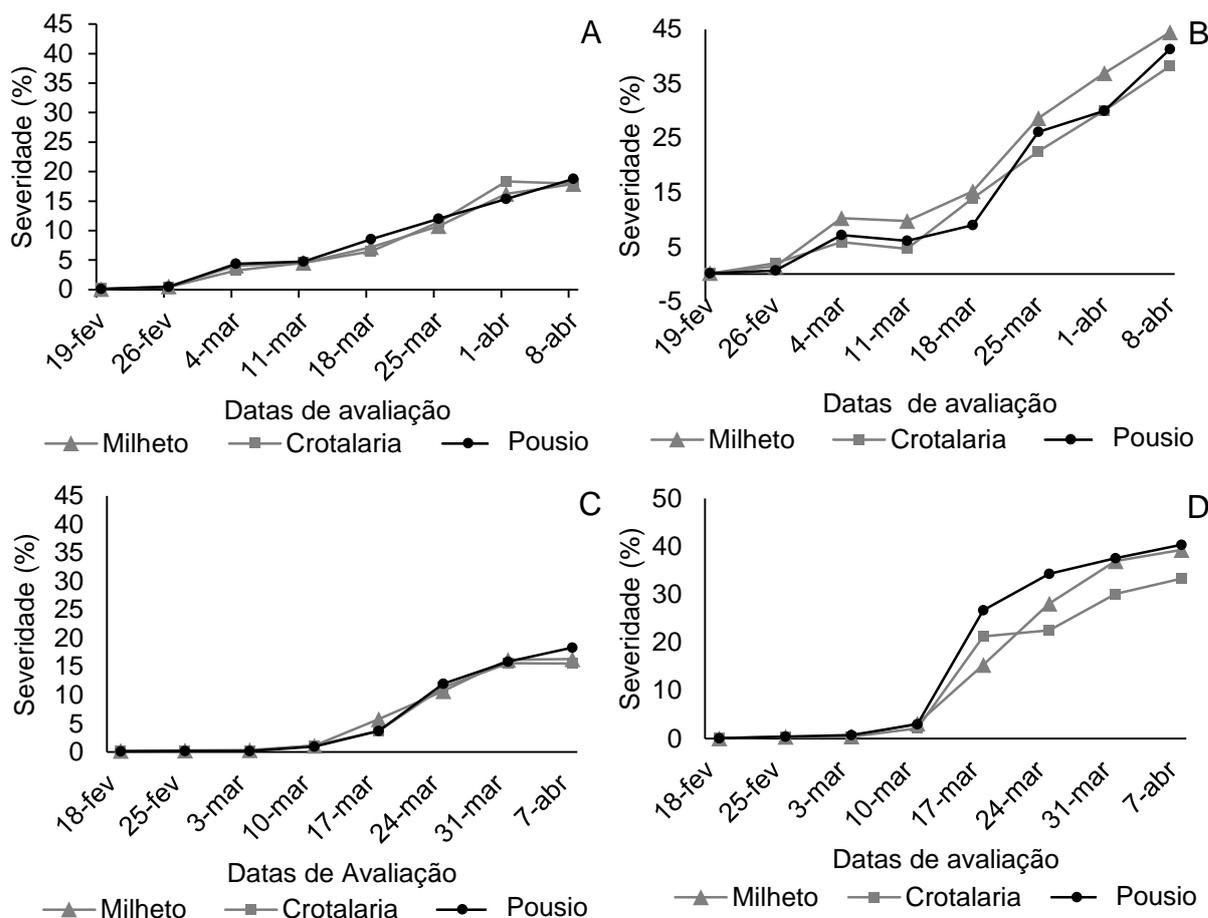


Figura 2. Curva de progresso da mancha de ramulária, com aplicação de fungicidas (A) e sem aplicação de fungicidas (B), na safra 2015/16 e com aplicação de fungicidas (C) e sem aplicação de fungicidas (D), na safra 2016/17.

Essa relação explica a alta severidade nos períodos de maior umidade do ar, de tal modo que se não for controlada adequadamente, pode causar significativas perdas na produção. Alguns estudos relataram a possível utilização de sistemas de previsão de aparecimento da doença relacionando sua ocorrência com o clima (DEL PONTE et al., 2004; MARCUZZO et al., 2015), contudo neste trabalho pode-se perceber que o início dos sintomas está mais relacionado a fase fenológica da cultura em relação aos dados meteorológicos coletados nessa área de estudo.

O aparecimento dos primeiros sintomas coincide com a fase de formação de maçã do algodoeiro, por volta de 65 dias após a semeadura. Diversos trabalhos na literatura relataram a ocorrência dos primeiros sintomas da mancha de ramulária no início do florescimento e da fase produtiva da cultura (PIZZATO et al., 2013; Dias et al., 2015; ASCARI et al., 2016a; GILIO et al., 2017). Levanta-se a hipótese de que a

planta libere algum composto que estimule a multiplicação do patógeno e sua esporulação, esperamos que após essa descoberta novos estudos em fisiologia venham elucidar esse comportamento de *R. areola*.

Nas safras 2015/2016 e 2016/2017 o padrão de aumento de severidade na curva de progresso da doença se repetiu, sendo que no segundo decêndio do mês de março de cada safra ocorreu um aumento considerável da doença, nas parcelas sem aplicação de fungicidas (Figura 2B e 2D). Na safra 2016/2017, nas parcelas que receberam aplicação de fungicidas foi verificado aumento a partir do mês de março (Figura 2C), entretanto, o progresso da doença se manifestou mais tardiamente em relação à safra 2015/2016, que teve incremento na severidade a partir do mês de fevereiro (Figura 2A), fato esse relacionado a leve garoa que ocorria nos fins de tarde durante o mês de fevereiro do ano de 2017.

Ao considerar o efeito do clima em escala Estadual, Girotto et al. (2013), Pezenti et al. (2013) e Galbieri et al. (2015) observaram comportamento semelhante de *R. areola* nos estados de Mato Grosso e Goiás, porém no estado de São Paulo foi verificado que *R. areola* se desenvolve em temperaturas mais altas. Devido a variabilidade genética, o fungo possui a capacidade de se adaptar a diferentes condições climáticas (GIROTTO et al., 2013; PEZENTI et al., 2013; VOLPONI et al., 2014). Por isso, pesquisas regionais visando testar formas de controle e manejo são importantes, de modo a compreender a interação entre patógeno, hospedeiro e o ambiente.

Observou-se que nas parcelas onde não houve aplicação de fungicidas a AACPS foi maior ao observado nas parcelas que receberam aplicação, sendo que nestas, a severidade não diferiu entre as coberturas de solo (Tabela 1).

Tabela 1. Área abaixo da curva de progresso de severidade (AACPS) da mancha de ramulária na cultura do algodão em função de aplicação de fungicida e coberturas de solo, safras 2015/2016 e 2016/2017.

Aplicação de fungicidas	Safr 2015/2016			Safr 2016/2017		
	Milheto	Crotalária	Pousio	Milheto	Crotalária	Pousio
Com	366,07 Aa	374,47 Aa	384,52 Aa	299,93 Aa	281,17Aa	295,50 Aa
Sem	872,58 Bb	688,18 Ba	698,97 Ba	728,82 Ba	653,97 Ba	860,40 Bb
CV (%)	15,64			13,71		

Médias com letras diferentes, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CA = Com Aplicação. SA = Sem Aplicação.

Na safra 2015/2016 verificou-se influência da cobertura de solo com milho na severidade da mancha de ramulária na ausência de aplicações de fungicida (Tabela 1). Na safra subsequente não ocorreu diferenças significativas da AACPS entre o algodão cultivado sobre a palhada de milho e crotalária, em que ambas coberturas apresentaram menor AACPS em relação ao pousio. Com a cobertura de milho verificou-se maior AACPS na primeira safra, possivelmente influenciado pelo microclima formado no baixeiro das plantas de algodão devido à grande quantidade de palhada produzida pelo milho. Salvatierra et al. (2009) observaram o mesmo para a doença ramulose (*Colletotrichum gossypii* South), que apresentou maior severidade no sistema convencional de plantio (solo exposto) em relação ao plantio direto em palhada de milho.

Pizzato et al. (2013), avaliaram a severidade da mancha de ramulária do algodoeiro cultivado em espaçamentos de 0,45 m e 0,90 m com diferentes coberturas de solo. Os autores verificaram menor AACPS da doença quando o algodão foi cultivado sobre cobertura de milho. É importante ressaltar que Pizzato et al. (2013) adotaram outro critério para avaliação da severidade da mancha de ramulária, sendo atribuída nota zero de severidade na completa perda das folhas do terço inferior da planta.

A AACPS das parcelas que não receberam as aplicações de fungicidas foi superior em 50% em relação às que foram manejadas com fungicidas. Assim como observado nos estudos realizados por Pizzato et al. (2013), Ascari et al. (2016a) e Gilio et al. (2017). Isso demonstra a importância de se realizar um eficiente manejo químico com fungicidas e monitorar o aparecimento dos primeiros sintomas da doença, pois o progresso da severidade da doença é rápida sob condições climáticas favoráveis e com genótipos susceptíveis, causando danos severos na produtividade.

A severidade da mancha de ramulária foi maior no cultivo do algodão sem a aplicação de fungicidas e quando cultivado sobre milho na primeira safra, entretanto, mesmo com as aplicações de fungicidas não houve diferença estatística da severidade entre as coberturas, a qual se manteve abaixo de 20% de área foliar afetada (Figura 2). Entretanto, mesmo com maior AACPS da mancha de ramulária a produtividade do algodoeiro cultivado com coberturas de solo foi maior se comparada com o pousio (Tabela 2).

Tabela 2. Produtividade de algodão em caroço (PRODc), em fibra (PRODf) e rendimento de fibra (%F) em função de aplicação de fungicidas e coberturas de solo, safras 2015/2016 e 2016/2017.

Coberturas de solo	----- Safra 2015/2016 -----			----- Safra 2016/2017 -----		
	PRODc (Kg ha ⁻¹)	PRODf (Kg ha ⁻¹)	Dano -----(%)---	PRODc (Kg ha ⁻¹)	PRODf (Kg ha ⁻¹)	Dano -----(%)---
Milheto	2.645,88 A	1.246,04 A	17,52 A	2496,11 A	1119,34 A	15,02 A
Crotalária	2.700,35 A	1.232,29 A	17,66 A	2291,50 AB	1018,34 AB	22,50 A
Pousio	2.078,52 B	944,74 B	25,96 B	1911,70 B	834,77 B	25,64 A
Aplicação de fungicidas						
Com	2.750,52 A	1.293,37 A	-	2494,75 A	1121,72 A	-
Sem	2.199,32 B	988,67 B	-	1971,46 B	859,93 B	-
CV (%)	14,57	15,04	21,78	14,83	15,23	64,90

Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A produtividade do algodão cultivado nas parcelas em pousio e na ausência de fungicidas foi menor em relação ao cultivado sobre palhada de milho, crotalária nas parcelas com aplicação de fungicidas.

A produtividade média do algodão em caroço na safra 2015/2016 foi de 2.474,92 kg ha⁻¹, superior à média nacional para esta safra, que foi de 2.028 kg ha⁻¹, em fibra foi obtida a produtividade de 1.141,02 kg ha⁻¹, próxima a média nacional (1.350 kg ha⁻¹), sendo as parcelas com aplicação superiores à média nacional (CONAB, 2016). Na safra 2016/2017 as parcelas com coberturas de solo foram as que mais se aproximaram da produtividade média nacional, que nesta safra foi de 1.629 kg ha⁻¹ em pluma, e 2.445 kg ha⁻¹ em caroço (CONAB, 2017).

Diversos benefícios ao solo são promovidos pelas plantas de cobertura, como a retenção da umidade, descompactação do solo e a produção de matéria orgânica (FERREIRA et al., 2010). Além dessas vantagens, pode-se acrescentar diferentes culturas ao sistema de produção, preferindo as que proporcionem maior cobertura do solo, ciclagem de nutrientes e produção de matéria orgânica, visando promover melhores condições para o cultivo da cultura principal.

O milho tem como características principais, boa produção de palhada e ciclagem de nutrientes, principalmente o potássio e o fósforo. Já a *C. ochroleuca* é caracterizada por possuir elevado potencial de produção de massa seca, além da decomposição bem distribuída ao longo do tempo (SUZUKI & ALVES, 2006). Para culturas de ciclo longo como o algodão, é preferível que além das características de produção de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, as plantas de cobertura tenham elevada produção e acúmulo de palhada, de modo a proteger o solo por um período de tempo mais prolongado (FERREIRA & LAMAS, 2010).

Quando utilizado apenas o sistema de monocultivo, além dos maiores impactos ao solo mantido em pousio, o rendimento de fibra do algodão decresce aproximadamente 2,5% a cada ano se cultivado continuamente no sistema convencional (MEISNER & ROSENHEIM, 2014). Além disso, trabalhos como o de Ferreira et al. (2010) verificaram que coberturas de solo, incluindo milho e crotalária aumentam a produtividade da cultura do algodão, independente de fatores externos, como pragas e doenças.

Além da produtividade, as coberturas de solo também influenciaram no dano causado pela mancha de ramulária, onde foi observado menor dano quando o algodão foi cultivado sobre restos vegetais de milho e crotalária (Tabela 2). Assim percebe-se que a doença sofre influência das coberturas de solo se não realizado manejo químico e quando ocorre o manejo intensivo de fungicidas a mesma se mantém em níveis semelhantes para os três manejos de cobertura de solo, contudo o aumento na produtividade qualifica as coberturas para serem inseridas no programa de manejo da cultura do algodão.

Tanto no milho quanto na crotalária, o dano à produtividade do algodoeiro ficou em torno de 17%, porém quando não havia cobertura vegetal sobre o solo, o dano chegou a cerca de 26% (Tabela 2). Fato importante a ser destacado é que, mesmo o algodão tendo os menores valores de severidade da mancha de ramulária quando cultivado em solo sem cobertura vegetal, apresentou maior dano, e como consequência, menor produtividade em caroço e em fibra (Tabela 2). As coberturas beneficiaram o desenvolvimento das plantas de algodão, pois mesmo com mais infecção da doença, mantiveram-se mais produtivas nessas condições de cultivo.

As perdas decorrentes da doença podem variar em função da cultivar, do sistema de cultivo e do clima, isso foi comprovado no trabalho de Gilio et al. (2017) no

município de Tangará da Serra - MT, que testando vários genótipos de algodoeiro, demonstraram que os materiais suscetíveis, bem como os resistentes, quando submetidos a alta severidade da mancha de ramulária, o dano à produtividade chegou a cerca de 37% e 20%, respectivamente. Enquanto no trabalho realizado por Aquino et al. (2008), com cultivar suscetível e sem coberturas de solo, verificou-se que a mancha de ramulária causou 49% de redução do potencial produtivo do algodoeiro.

Foi observado o aumento na produção de algodão cultivado sob a palhada de milho e crotalária, assim como a diminuição da AACPS da Mancha de ramulária, ao longo das safras estudadas, nesse sistema de cultivo, indicando assim ser um bom manejo a ser adotado pelos agricultores.

CONCLUSÃO

O uso de milho e crotalária como coberturas de solo incrementaram a produtividade de algodão em caroço e em fibra, sem afetar a severidade da mancha de ramulária do algodoeiro, quando manejado com fungicidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, L.A.; BERGER, P.G.; RODRIGUES, F.A.; ZAMBOLIM, L.; HERNANDEZ, J.F.R.; MIRANDA, L.M. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de ramulária do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 361-363, 2008.

ASCARI, J.P.; MENDES, I.R.N.; SILVA, V.C.; ARAÚJO, D.V. Ramularia leaf spot severity and effects on cotton leaf area and yield. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 434-441, 2016a.

ASCARI, J.P.; ARAÚJO, D.V.; DIAS, L.D.E.; BAGATINI, G.J.; MENDES, I.R.N. Severity of ramularia leaf spot and seed cotton yield in different sowing times. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 603-610, 2016b.

BARROS, P.E. et al. Comparação da reprodutibilidade das estimativas de severidades de manchas foliares de algodoeiro feitas por avaliadores utilizando diferentes escalas diagramáticas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.76, n.3, p.483-487, 2009.

BERGAMIN FILHO, A. Avaliação de danos e perdas. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: Princípios e conceitos. 4. ed., Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2011. p. 672-690.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, NY: Wiley, 1990. 532p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: Quarto levantamento, Safra 2015/16. Conab, Brasília, v. 4, n. 3, p. 38-42, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: Quarto levantamento, Safra 2017/2018. Conab, Brasília, v. 5, n. 4, p. 15-42, 2018.

CURVELO, C.R.S.; RODRIGUES, P.G.B.; REZENDE, D.C. Microscopia eletrônica de varredura do processo infeccioso de *Ramularia areola* em folhas de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 108-113, 2010.

DALLACORT, R.; MARTINS, J.A.; INOUE, M.H.; FREITAS, P.S.L.; COLETTI, A.J. Distribuição das chuvas no município de Tangará da Serra, médio norte do Estado de Mato Grosso, Brasil. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 193-200, 2011.

DEL PONTE, E.M., FERNANDES, J.M.C., PIEROBOM, C.R. & BERGSTROM, G.C. Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 587-605, 2004.

DIAS, L.D.E.; SILVA, D.M.V.; ASCARI, J.P.; BAGATINI, G.J.; AMBROSIO, J.; BATISTTI, M.; ARAUJO, D.V. Controle de mancha de ramulária em algodão adensado. **Revista Cultivar - Grandes Culturas**, Pelotas, v. 1, n. 187, p. 8-11, 2015.

FERREIRA, A.C.B.; LAMAS, F.M. Espécies vegetais para cobertura do solo: influência sobre plantas daninhas e a produtividade do algodoeiro em sistema plantio direto. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.6, p. 778-786, 2010.

FERREIRA, A.C.B.; LAMAS, F.M.; CARVALHO, M.C.S; SALTON, J.C.; SUASSUNA, N.D. Produção de biomassa por cultivos de cobertura do solo e produtividade do algodoeiro em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 6, p. 546-553, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GALBIERI, R.; CIA, E.; MORELLO, C.L.; FANAN, S.; JUNIOR, E.R.A.; KOBAYASTI, L. Potencial de esporulação de *Ramularia areola* em algodoeiro no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 3, p. 233-235, 2015.

GILIO, T.A.S.; ARAÚJO, D.V.; ARAUJO, K.L.; FREGONEZE, T.E.; FRANZON, R.C.; PIZATTO, J.A. Estimated damage caused by ramularia leaf spots on cotton. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 1, p. 12-19, 2017.

GIROTTI, L.; MARANGONI, M.S.; MATOS, J.N.; GALBIERI, R.; ALMEIDA, W.P.; MEHTA, Y.R. Identification of phenotypic and genotypic variability among the isolates of *Ramularia areola* of brazilian cotton. **American Journal of Plant Sciences**, Temuco, v. 4, n. 9, p. 1893-1898, 2013.

JOHNSON I.; RAMJEGATHESH, R., KARTHIKEYAN, M.; CHIDAMBARAM, P. Epidemiology of grey mildew and Alternaria blight of cotton. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n. 18, p. 2216-2223, 2013.

MARCUZZO, L.L.; BECKER, W.F.; FERNANDES, J.M.C. Validation of a forecast system for tomato bacterial spot. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.3, p.214-218, 2015.

MEHTA, Y.R.; GALBIERI, R.; MARANGONI, M.S.; BORSATO, L.C.; RODRIGUES, H.P.; PEREIRA, J.; MEHTA, A. *Mycosphaerella areola* - The Teleomorph of *Ramularia areola* of Cotton in Brazil, and Its Epidemiological Significance. **American Journal of Plant Sciences**, v. 00, n. 7, p. 1415-1422, 2016.

MEISNER, M.H.; ROSENHEIM, J.A. Ecoinformatics Reveals Effects of Crop Rotational Histories on Cotton Yield. **Plos One**. V.9, n.1, p.1-, 2014.

NKALUBO, S.; MELIS, R.; ÓPIO F. Yield loss associated with anthracnose disease on Ugandan market-class dry bean cultivars. **African Crop Science Society**. v. 8, n. 1, p. 869-874, 2007.

PEZENTI, L. F.; BARBOSA, J.; VIEIRA, M.A.; MARANGONI, M.S.; VOLPONI, J.; ALMEIDA, W.P.; GALBIERI, R.; MEHTA, Y.R. Phenotypic variability among isolates of *Ramularia areola* from Brazilian cotton. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 329-321, 2013.

PIZZATO, J.A.; ARAÚJO, D. V.; SERAFIM, M.E.; ARAÚJO, K.L.; DALLACORT, R.; GÍLIO, A. S.; ROMANO Jr., J.; MACIEL, V.A. Epidemiologic study of *Ramularia areola* under different soil covers and spacings, for cotton crops. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 4, p.2049-2059, 2013.

RATHAIAH, Y. Spore germination and mode of cotton infection by *Ramularia areola*. **Phytopathology**, v. 67, p. 351-357, 1977.

SALVATIERRA, D.K.; CHIAVEGATO, E.J.; SILVA, A.V. Intensidade da ramulose sob semeadura convencional e direta do algodoeiro. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p.435-442, 2009.

SOUZA, D.M.G.; LOBATO, E. **Cerrado**: correção do solo e adubação. 2. ed. Brasília: Embrapa Cerrados, 2004, 416 p.

STEFANELO, M.S.; OHL, G.A.; TAKIZAWA, E.K. Agressiva e frequente. **Revista Cultivar - Grandes Culturas**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 11-13, 2015.

SUASSUNA, N.D.; COUTINHO, W.M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. *In*: FREIRE, E.C. (Ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**. Brasília. 2007. p. 479-521

SUZUKI, L.E.A.S.; ALVES, M.C. Fitomassa de plantas de cobertura em diferentes sucessões de culturas e sistemas de cultivo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 1, p. 121-127, 2006.

VOLPONI, J.; MATOS, J.N.; GIROTTO, L.; MARANGONI, M.S.; GALBIERI, R.; MEHTA, Y.R. Spore types and spore production of *Ramularia areola* for screening cotton germplasm for resistance. **American Journal of Plant Sciences**, Temuco, v. 5, p. 2413-2417, 2014.

ARTIGO II

[Revista Caatinga]

***Ramularia areola*: INFECÇÃO DE SEMENTES E SOBREVIVÊNCIA EM RESTOS CULTURAIS DE ALGODÃO**

INÊS ROEDER NOGUEIRA MENDES ^(1*) E DEJÂNIA VIEIRA DE ARAÚJO ⁽²⁾

(*) Autor para correspondência.

(1) Mestranda em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola – PPGASP, Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra – MT. E-mail: ynes_nogueira@hotmail.com

(2) Professora D. Sc. do Mestrado em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola – PPGASP, Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra – MT. Centro de Pesquisa, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambiental – CPEDA. E-mail: dejania@unemat.br

Resumo: O ciclo de vida do principal patógeno da cultura do algodão (*Gossypium hirsutum*), *Ramularia areola* (teleomorfo *Mycosphaerella areola*), ainda não é claramente conhecido, não sendo comprovada sua associação com sementes e sua sobrevivência em restos culturais. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de infecção em sementes de algodão e a sobrevivência de *Ramularia areola* em restos culturais. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro conduzido em laboratório com delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial duplo 2 x 5, onde foram testados dois isolados do patógeno (teleomorfo *M. areola* e anamorfo *R. areola*) e cinco tempos de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h). As sementes foram inoculadas por contato direto com os isolados, que foram previamente crescidos em placas de Petri com meio batata dextrose ágar (BDA) + manitol (-1 Mpa). Foram realizados os testes de germinação: avaliando-se a porcentagem de germinação e o comprimento de parte aérea; teste de sanidade: incidência do fungo sobre a sementes; e teste de emergência em substrato: onde se avaliou o índice de velocidade de emergência; o estande final; a massa seca das plantas; o comprimento de parte aérea e de raiz e a porcentagem de infecção em plantas assintomáticas, para verificar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes e a transmissão do patógeno para as plântulas. A germinação das sementes não foi afetada por *M. areola* e *R. areola*.

Entretanto, no tempo de incubação de 96h ocorreu menor porcentagem de germinação e altura de planta. A maior infecção das sementes ocorreu nos tempos de inoculação de 48h e 72h para os isolados *M. areola* e *R. areola*, respectivamente. O isolado *M. areola* foi mais agressivo, influenciando em menor velocidade de emergência das plântulas pela maior infecção. O segundo experimento foi realizado para avaliar a sobrevivência do fungo em restos culturais, onde foram coletadas folhas em decomposição de parcelas com e sem a aplicação de fungicidas, safras 2015/2016 e 2016/2017, e dois meses após a destruição química da soqueira (em setembro), em ambos os anos 2016 e 2017. Foram avaliadas as variáveis germinação média inicial e final dos conídios e o tempo médio de permanência das estruturas do patógeno nos restos culturais. Em laboratório foi monitorada a presença de estruturas do patógeno por até oito semanas. O tempo médio de sobrevivência do fungo foi de aproximadamente cinco semanas para a ambas as safras e quatro semanas para as coletas de setembro, onde a germinação média inicial de conídios foi maior nos tratamentos com aplicação de fungicidas. Deste modo foi confirmada a associação dos isolados de *M. areola* e *R. areola* em sementes de algodão, diminuindo a qualidade fisiológica e sanitária dependendo do nível de inóculo, e também a sobrevivência de estruturas do patógeno em folhas em decomposição por até cinco semanas.

Palavras-Chave: *Gossypium hirsutum*. Inoculação de sementes. Disseminação.

RAMULARIA AREOLA: SEED INFECTION AND SURVIVAL IN CULTURAL RESIDUES

Abstract: The life cycle of the main cotton pathogen (*Gossypium hirsutum*), *Ramularia areola* (teleomorph *Mycosphaerella areola*), is not yet clearly known, and its association with seeds and its survival in cultural remains is not proven scientifically. The aim of this study was to evaluate the potential of infection in cotton seeds and the survival of *Ramularia areola* in cultural remains. Two experiments were carried out. The first one was conducted in a randomized complete block design in a 2x5 double factorial scheme, where two isolates of the pathogen were tested (anamorph *R. areola* and the teleomorph *M. areola*) and five inoculation times (0h, 24h, 48h, 72h and 96h). The seeds were inoculated by direct contact with the isolates, which were previously grown in Petri dishes with half potato dextrose agar (BDA) + mannitol (-1 Mpa).

Germination tests were carried out, where it was evaluated germination percentage and length of aerial part; sanity test, evaluating fungal incidence on seeds; and substrate emergency test were evaluated, where the rate of emergence was evaluated ; the final booth; the dry mass of the plants; the plant height and root length and the percentage of infection in asymptomatic plants, to verify the physiological and sanitary quality of the seeds and the transmission of the pathogen to the seedlings. Seed germination was not affected by *M. areola* and *R. areola*. However, in the incubation time of 96 hours, a lower percentage of germination and plant height occurred. The highest infection of the seeds occurred at the inoculation times of 48h and 72h for the *M. areola* and *R. areola* isolates, respectively. The *M. areola* isolate was more aggressive, having a lower emergence speed, but greater infection of the seedlings. The second experiment was carried out to evaluate the survival of the fungus in cultural remains, in which the leaves were collected in decay of the plots with and without the application of fungicides, in the 2015/2016 and 2016/2017 crops and two months after the chemical destruction of the ratoon (in September), in both 2016 and 2017. The variables initial and final mean germination of the conidia and the average time of permanence of the pathogen structures in the cultural remains were evaluated. In the laboratory, the presence of pathogen structures was monitored for up to eight weeks. The average survival time of the fungus was approximately five weeks for both seasons and four weeks for the September collects, where initial mean germination of conidia was higher in treatments with fungicide application. Thus, the association of the *M. areola* and *R. areola* isolates in cotton seeds was confirmed, decreasing the physiological and sanitary quality depending on the inoculum level, as well as the survival of pathogen structures in decomposing leaves for up to five weeks.

Key Works: *Gossypium hirsutum*. Seed inoculation. Dissemination.

INTRODUÇÃO

A mancha de ramulária (*Ramularia areola* Atkinson), teleomorfo *Mycosphaerella areola* (Ehrlich & Wolf), é a principal doença da cotonicultura, sendo economicamente importante no Brasil, especialmente na região Centro Oeste do país, podendo levar a perdas de até 36% na produção (NOVAES et al. 2011; GILIO et al. 2017). A produtividade de algodão no estado de Mato Grosso está estimada em 2.431

kg ha⁻¹ de algodão em caroço no ano de 2018, com acréscimo de 11% na área cultivada (CONAB, 2018).

A semente de algodão é conhecida pela rusticidade no momento de plantio, sendo tolerante a estresse hídrico entre outros, porém as ocorrências de microrganismos patogênicos podem prejudicar o estabelecimento da cultura (MENESES et al., 2006). Para algumas doenças de importância na cultura do algodão, como a ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) e a murcha de fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) a semente é considerada um dos principais meios de disseminação. Entretanto, ainda não é conhecido se o fungo *R. areola*, causador da principal doença da cultura atualmente, também pode ser transmitido via sementes (CHITARRA et al., 2008).

Até o momento não há relatos sobre a transmissão via sementes deste patógeno, porém, Havis et al. (2014) encontraram evidências de transmissão do fungo *Ramularia collo-cygni* Sutton e Waller, via semente na cultura da cevada. Os autores constataram que o fungo se desenvolve de forma assintomática até a fase reprodutiva da cultura, onde inicia os sintomas na planta hospedeira.

É difícil visualizar estruturas de *R. areola* em sementes do algodoeiro, podendo passar despercebido nos testes de sanidade, pois o crescimento inicial do fungo em material vegetal é mais lento em relação aos demais fungos. Outro fator a ser considerado é a baixa quantidade de inóculo nas sementes, sendo assim, faz-se necessária a inoculação para estudos mais aprofundados com a transmissão desse patógeno (SOUSA et al., 2008; MEHTA et al., 2016).

As sementes são o ponto de partida de estudos sobre relação patógeno hospedeiro, por isso, a inoculação de sementes é necessária para aumentar as chances de infecção das sementes. Para a inoculação, pode-se adotar a técnica da restrição hídrica. Nesse caso, impede-se a germinação por período curto de tempo, enquanto o patógeno coloniza os tecidos da semente (BARROCAS et al., 2014).

Segundo Bell (1981) e Iamamoto (2007) o fungo sobrevive em plantas de algodão infectadas e, por um curto período de tempo, em restos culturais, na forma teleomórfica, como descrito ocorrendo no Brasil por Mehta et al. (2016). Além destas formas de sobrevivência, Johnson et al. (2013) e Mehta et al. (2016) levantaram a hipótese de ocorrer a sobrevivência do fungo em restos culturais durante a entressafra, o que contribui para a produção do inóculo primário na safra seguinte.

Até o momento, não há informações disponíveis sobre o mecanismo de sobrevivência desse patógeno durante o período de entressafra do algodão no Brasil. O conhecimento das formas de sobrevivência de *R. areola* é importante para determinar o ciclo de vida desse fungo e dar suporte ao desenvolvimento de medidas eficientes de controle.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de infecção em sementes de algodão e a sobrevivência de *Ramularia areola* em restos culturais.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização

Os experimentos de inoculação em sementes e sobrevivência em restos culturais foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia (CPEDA - UNEMAT) e em uma estrutura de ambiente protegido, na Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, Campus de Tangará da Serra – MT, durante os anos 2015 à 2017.

Experimento 1: infecção em sementes

Obtenção dos isolados

Para avaliar a transmissão por sementes, foram utilizados dois isolados do fungo, um oriundo da fase anamórfica (*Ramularia areola*) e outro oriundo da fase teleomórfica (*Mycosphaerella areola*).

O isolado de *R. areola* foi obtido de folhas sintomáticas coletadas de plantas do campo experimental cultivado com algodão, cultivar FMT 940 GLT, aos 60 dias após a semeadura (DAS), logo no início dos sintomas. Essas foram incubadas em sala de crescimento a $24^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, fotoperíodo 12h. Quando observados os primeiros sinais do patógeno, foram retiradas estruturas do fungo presentes nas folhas e colocadas em placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA), sendo incubados em BOD a $24^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, fotoperíodo 12h.

Para obter o isolado de *M. areola*, foram incubadas folhas senescentes de algodão, aos 20 dias após a incubação foi observada a formação de peritécios, onde

os mesmos foram retirados e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura (BDA) e incubados a $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo 12h. Após uma semana foi verificado o crescimento e formação de conídios da fase anamórfica. Após o crescimento dos isolados foi realizado o cultivo monospórico de cada isolado.

Inoculação de *Ramularia areola* em sementes de algodão

Utilizou-se para a inoculação em sementes o esquema fatorial duplo (2 x 5), sendo dois isolados (*R. areola* e *M. areola*) e cinco tempos de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h). Cada teste de qualidade fisiológica contou com um número de repetições adequado, descritos abaixo para cada teste.

Foram realizadas duas inoculações, sendo uma no ano de 2016 e outra no ano de 2017, onde foram utilizadas sementes de algodão previamente deslintadas (retirada do linter por meio de ácido sulfúrico PA), específicas para análise sanitária.

Antes de preparar cada teste, as sementes foram desinfestadas com álcool 70%, hipoclorito de sódio a 1%, água destilada estéril e secas por 12h, em temperatura ambiente (SOUSA et al., 2008). A inoculação das sementes foi realizada pelo método de contato das sementes com o fungo em meio BDA, com restrição hídrica induzida por manitol com potencial hídrico ajustado para -1 MPa, segundo cálculo do software SPPM (MICHEL & RADCLIFFE, 1995).

Em seguida, as placas contendo as sementes mantidas em contato com cada isolado foram acondicionadas em câmara BOD com temperatura de 25°C e fotoperíodo 12h. Esse procedimento foi realizado a cada 24h, e após 96h todas as placas foram retiradas da BOD, as sementes foram colocadas sobre papel em temperatura ambiente por 24h para reduzir a umidade, sendo posteriormente conduzidos os testes.

Testes de germinação, sanidade e emergência em substrato

Para avaliar a germinação das sementes utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 200 sementes por tratamento, dividida em quatro repetições de 50 sementes. Foi utilizado o método adaptado de Brasil (2009), no qual as sementes foram acondicionadas em substrato de papel germitest, umedecido com

água destilada (2,5 vezes o peso do papel) no sistema de rolos. Estes foram acondicionados em germinador com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12h.

As avaliações do teste de germinação foram realizadas aos doze dias, onde foram verificadas a porcentagem de germinação (%), calculada com base em sementes normais; e o comprimento de parte aérea (cm), considerando 20 plântulas, medidas com auxílio de régua milimetrada do colo ao ápice da plântula.

O teste de sanidade foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo oito repetições de 25 sementes, totalizando 200 sementes, pelo método *blotter test*, adaptado de BRASIL (2009).

Após o período de incubação as sementes foram novamente desinfestadas, seguindo a metodologia descrita inicialmente e secas por 24h. As sementes foram acondicionadas em placas de 15 cm de diâmetro, acrescidas de ágar-água + 2,4-D a 2% sobre o papel filtro, para evitar a geminação das sementes. As placas foram mantidas em sala de crescimento de fungos à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h.

A sanidade das sementes foi avaliada após sete dias, observando a presença de estruturas do fungo nas sementes com auxílio de um microscópio estereoscópico (20x) e de microscópio óptico (40x), sendo os dados de presença e ausência transformados para porcentagem de sementes infectadas pelo patógeno (%I).

O teste de emergência em substrato foi realizado com delineamento em blocos ao acaso com cinco repetições de 40 sementes cada. Foram utilizadas caixas de madeira de 50 x 20 cm contendo substrato esterilizado em autoclave (solo e areia na proporção 2:1), onde foi realizada a semeadura na profundidade de 1,5 cm. As caixas foram distribuídas ao acaso no interior do ambiente protegido, com irrigação duas vezes por dia.

Na emergência em substrato foi realizada a avaliação do índice de velocidade de emergência (IVE), onde foram contabilizadas as plantas emergidas diariamente até a estabilização do estande, aos dez dias após a semeadura (DAS). Aos 30 DAS foi realizada a contagem de estande final (EF), os dados obtidos foram expressos em porcentagem de plantas vivas. Em seguida, foram retiradas 20 plantas aleatórias de cada repetição para avaliar a massa seca (MS), obtida em estufa de circulação de ar por 24h a 105°C . As 20 plantas restantes de cada repetição foram utilizadas para determinar a altura da parte aérea (AP), medida do colo ao ápice da folha mais nova; comprimento da raiz (CR), medida do colo a ponta da raiz. Para a obtenção da

porcentagem de infecção em plantas assintomáticas (%), as mesmas foram desinfestadas e incubadas por sete dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Em seguida, foram contabilizadas o número de plantas com estrutura do patógeno e os dados transformados em porcentagem.

Experimento 2: Sobrevivência de *Ramularia areola* em restos culturais de algodão

Coleta dos restos culturais de algodão e incubação de *Ramularia areola*

Para avaliar a sobrevivência de *R. areola*, foram coletados restos culturais de algodão em duas áreas, sendo uma com aplicação regular de fungicidas e outra sem aplicação, com quatro repetições. Foram coletadas, ao acaso, folhas em decomposição que apresentavam sinal do patógeno, em número de doze por repetição, que foram considerados os pontos de coleta escolhidos aleatoriamente, totalizando 48 folhas da área tratada e 48 folhas da área não tratada com fungicida.

Foram realizadas duas coletas em cada safra, 2015/2016 e 2016/2017, a primeira no início da fase reprodutiva da cultura, a segunda no mês de setembro, dois meses após a destruição química da soqueira do algodão, período entre a colheita e o início da safra seguinte, totalizando quatro coletas.

Em seguida as folhas foram levadas ao laboratório e incubadas, individualmente, em placas de Petri de 15 cm de diâmetro contendo três folhas de papel filtro umedecidas com água estéril, na temperatura de $25^{\circ}\text{C} (\pm 2^{\circ}\text{C})$ e fotoperíodo de 12h.

Foram realizadas avaliações semanais durante dois meses, totalizando oito avaliações. A presença de *R. areola* foi observada em microscópio estereoscópico (20x) e ótico (400x).

Assim que os restos culturais chegaram ao laboratório foi realizada uma avaliação inicial no momento da incubação para confirmar a presença de *R. areola* e determinar a germinação média inicial dos conídios (GMI).

A germinação de conídios foi determinada retirando-se fragmentos com conídios em cada avaliação, que foram colocados em tubos de micro centrifuga, com 1 mL de água destilada estéril e incubados por 24h em câmara BOD, temperatura de

25° C e fotoperíodo 12h. Após, realizou-se a contagem de 100 conídios de cada folha, considerando germinado aquele com comprimento do tubo germinativo maior ou igual a maior largura do esporo, visualizado em microscópio ótico com aumento final de 400 vezes (CURVELO et al., 2010). Devido à ausência de conídios após algumas semanas, não sendo possível encontrar 100 conídios em todas as folhas, após a sexta semana foi calculada a média de 200 conídios de cada repetição, os dados foram convertidos em porcentagem de conídios germinados e confeccionada a curva de germinação.

Para determinar o tempo médio de permanência do fungo nas folhas incubadas (TM), foi calculada a média de tempo que houve a presença do patógeno nas folhas incubadas. Para a germinação média final de conídios (GMF), utilizaram-se os dados de tempo médio de permanência do fungo no tecido vegetal, sendo que para o período da safra, a GMF foi calculada utilizando como base os dados da quinta semana das folhas coletadas durante a safra, quarta semana para as coletadas em setembro.

Análise dos dados

Foi realizada a análise de variância pelo teste F, seguidos pela aplicação do teste de Tukey e de regressão, de acordo com a natureza dos dados, com auxílio do software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011). Os gráficos foram desenvolvidos no software Excel®, versão 16.0.4266.1003.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

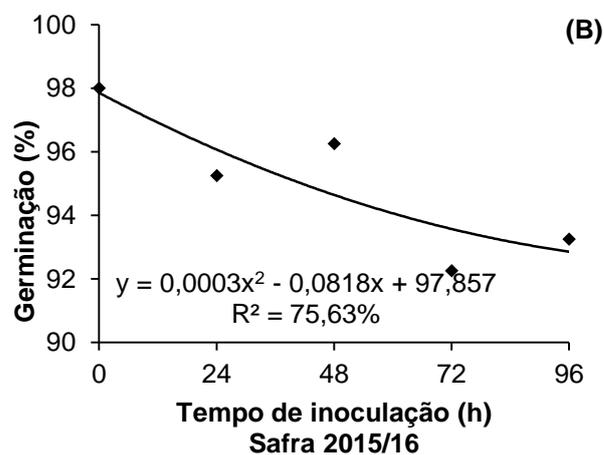
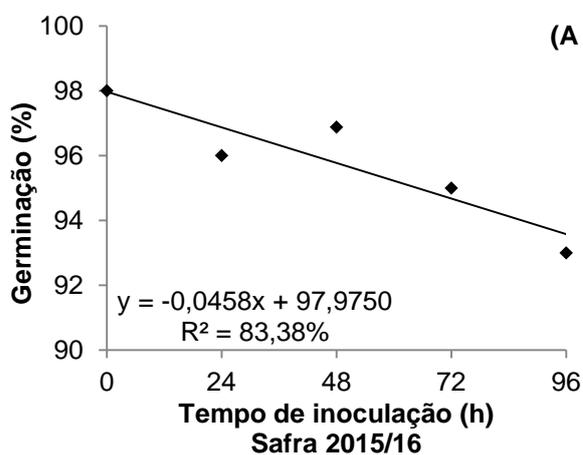
Experimento 1: Inoculação de *Ramularia areola* em sementes de algodão

Para o teste de inoculação de sementes observou-se que houve interação significativa apenas para a porcentagem de infecção em sementes no ano de 2016. Na germinação das sementes não houve influência dos isolados *R. areola* e *M. areola*, entretanto, ocorreu diferença significativa para o comprimento de plântulas no ano 2016 (Tabela 1). O tempo de inoculação influenciou na germinação e no comprimento de plântulas em ambos os anos (Figura 1).

Tabela 1. Germinação média de sementes de algodão e comprimento de parte aérea (CP) de algodoeiro em função da inoculação dos isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*, nos anos de 2016 e 2017.

Isolados	2016		2017	
	Germinação (%)	CP (cm)	Germinação (%)	CP (cm)
<i>Ramularia aréola</i>	96,50	17,53 a	94,40	16,12
<i>Mycosphaerella aréola</i>	95,05	18,51 b	92,60	17,02
CV (%)	2,73	7,41	3,37	8,22

Médias com letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



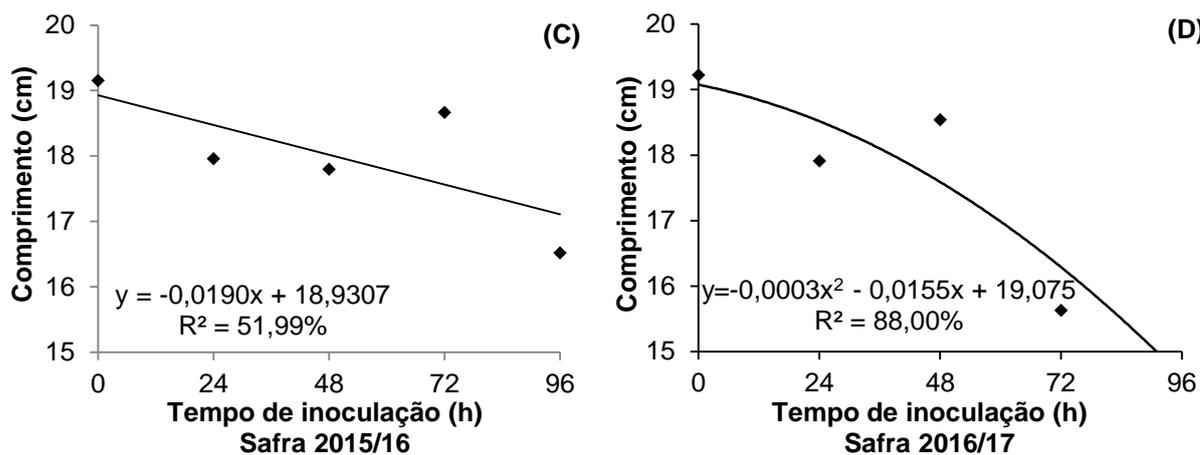


Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de algodão (A e B) e comprimento de parte aérea de algodão (C e D), nos anos de 2016 e 2017 respectivamente, em função dos tempos de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h), utilizando os isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*.

A semente de algodão utilizada neste estudo possuía uma germinação inicial de 98%, que decresceu a partir do aumento dos tempos de inoculação para os dois isolados, assim como o comprimento de plântulas. Isso demonstra que houve efeito do nível de inoculo nas sementes, sendo o tempo de 96h o menos adequado para a inoculação, pois o mesmo reduziu a germinação e altura de planta (Figura 1).

Ocorreu interação entre tempos de inoculação e isolados para o teste de sanidade no ano 2016. Houve maior incidência nas sementes no tempo de inoculação 48h para o isolado *R. areola* e no tempo 72h para *M. areola* (Figura 2). A maior infecção no ano 2016, calculada pelo ponto de máxima da equação, foi nos tempos de 51h e 63h para *R. areola* e *M. areola*, respectivamente. No ano 2017, apenas o tempo de inoculação apresentou efeito significativo.

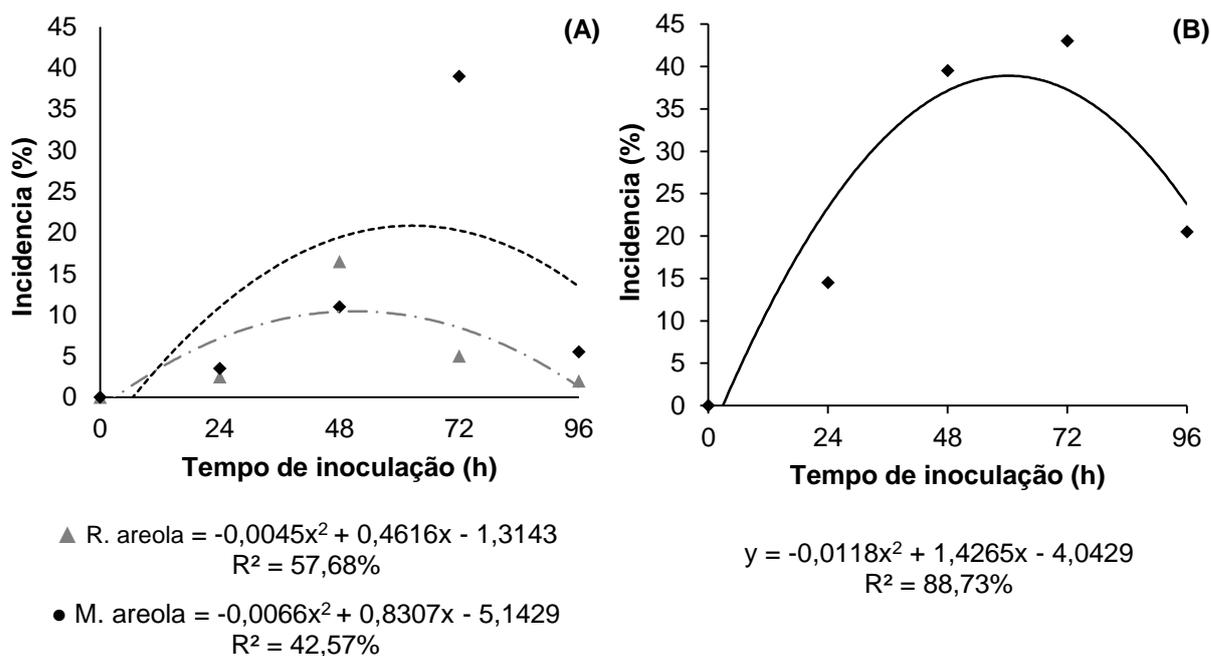


Figura 2. Porcentagem de incidência nas sementes dos isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola* em função dos tempos de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h), no ano 2016 (A) e de 2017 (B).

O tempo de inoculação de 96h foi desfavorável a infecção dos dois isolados (Figura 2), isso indica que pode haver influência da restrição hídrica sobre o fungo e também das sementes. Barrocas et al. (2014) e Echer et al. (2010) atestaram que a restrição hídrica superior a 57h começa a comprometer a qualidade das sementes. Entretanto, para alguns fungos, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, o condicionamento osmótico de até -1,0 Mpa favoreceu o desenvolvimento e a infecção do patógeno em sementes de algodão (ARAUJO et al., 2006). Como no teste de germinação foi observado uma diminuição de até 2% no poder germinativo das sementes no tempo de 96h (Figura 1), sugere-se não adotar esse tempo para estudos com inoculação do fungo em estudo seja ele na fase anamórfica (*R. areola*) ou teleomórfica (*M. areola*).

Com 24h de incubação, a infecção também foi baixa, apenas de 5% (Figura 2), sendo que este tempo de exposição não foi suficiente para a penetração do patógeno nas sementes, Borem & Freire (2014) atestam que a semente de algodão é conhecida pela rusticidade, cujo tegumento é de difícil penetração por fungos, portanto tempos reduzidos de exposição ao fungo não são suficientes para a penetração do mesmo na semente.

Segundo Curvelo et al. (2010) a infecção de sementes de algodão por *R. areola* ocorre preferencialmente via estômatos, esses autores observam que a formação de apressório nesse tipo de fungo é elaborada e demanda muita energia do conídio, sendo que muitos não concluem a penetração. Assim sendo a inoculação por 24h não foi suficiente para este processo. Assim como nesse estudo, Machado et al. (2004) observaram o aumento da infecção de sementes de algodão por fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Botryodiplodia* e *Fusarium*, conforme aumenta-se o tempo de exposição das mesmas aos fungos. Contudo, se a exposição for prolongada, em especial com restrição hídrica, pode prejudicar a fisiologia, não sendo interessante para testes laboratoriais e de campo com as sementes inoculadas.

Como *R. areola* é difícil de ser isolado em campo, ocorre a necessidade da sua manutenção e armazenamento em laboratório, porém ocorre a dificuldade de preservação do mesmo em laboratório, além da pouca ou nenhuma esporulação em alguns meios de cultura, sua capacidade patogênica reduz com o passar do tempo (MENDES et al., 2017).

Nesse estudo, o patógeno foi mantido em BOD e conservado pelo método Castellani, assim quando foi realizado o segundo experimento pode ter ocorrido a diminuição do seu potencial de infecção, devido a isso, o isolado da fase teleomórfica (*M. areola*) pode ter perdido algumas de suas características patogênicas, onde não apresentou diferença estatística no ano 2017, sendo que no ano 2016 apresentou maior porcentagem de infecção do que *R. areola*.

O patógeno *R. areola* é de difícil detecção em métodos convencionais de sanidade de sementes, pois tem crescimento lento e pode haver interferência de outros fungos em associação com as sementes (CURVELO et al., 2010; MEHTA et al., 2016). Assim a baixa porcentagem de infecção obtida neste teste pode ser devido a esse fator. A análise de DNA é a mais indicada para ser realizada em trabalhos futuros, visto que este estudo comprova a associação deste patógeno com sementes de algodão.

A análise dos dados de emergência em substrato não mostrou interação entre os fatores para nenhuma das variáveis testadas. Porém observou-se que os isolados apresentaram diferença na altura de planta, índice de velocidade de emergência e porcentagem de infecção das plantas assintomáticas com 30 dias de semeadura, nos dois anos estudados (Tabela 2).

Tabela 2. Altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), peso seco (PS), estande final (EF), índice de velocidade de emergência (IVE) e porcentagem de infecção em plantas (PI) de algodão em função da inoculação dos isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*, no ano de 2016 e 2017

Isolados	AP	CR	PS	EF	PI	IVE
	----- (cm)	-----	---(g)---	----- (%)	-----	
2016						
<i>R. areola</i>	22,45 b	14,47	5,04	94,05	20,33 b	47,56 a
<i>M. areola</i>	19,29 a	15,31	4,81	94,02	30,00 a	41,04 b
CV (%)	11,77	14,83	11,67	3,68	47,76	14,40
2017						
<i>R. areola</i>	18,69	15,33	5,57	94,80 a	14,30	44,06
<i>M. areola</i>	17,10	14,09	5,16	92,20 b	15,45	44,22
CV (%)	22,46	23,54	17,89	4,28	35,74	6,05

Médias com letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Pôde-se observar que o isolado proveniente da fase teleomórfica do fungo (*M. areola*) foi mais agressivo, reduzindo a altura de planta em 5% no ano 2016. No mesmo ano também foi observado que ocorreu o menor índice de velocidade de emergência, e a infecção nas plantas aumentou em até 10% que o observado em *R. areola* (Tabela 2). No ano 2017 apenas o estande final foi afetado significativamente pelos isolados, onde *M. areola* reduziu o estande em 2% (Tabela 2).

Os tempos de inoculação diferiram estatisticamente em ambos os anos para as variáveis índice de velocidade de emergência (IVE) e porcentagem de infecção em plantas assintomáticas, sendo que todas decresceram conforme o aumento do tempo de inoculação (Figuras 3 e 4). Para as variáveis altura de planta (AP) e estande final (EF) os tempos de inoculação diferiram estatisticamente no ano de 2017 (Figura 4). Não houve diferença entre os tempos de inoculação para comprimento de raiz (CR) e massa seca (MS) em nenhum dos anos.

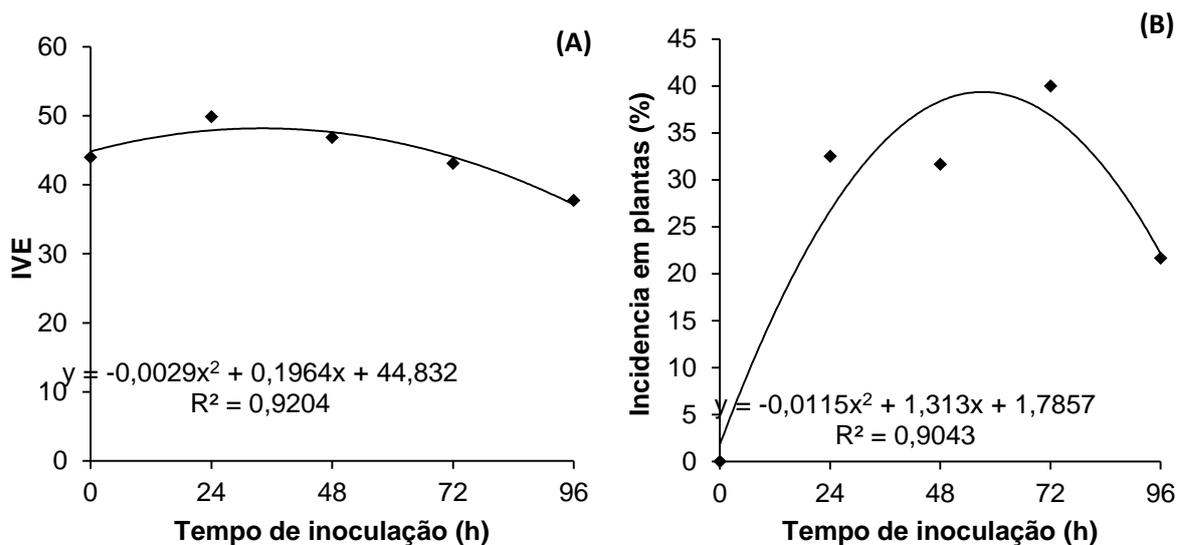


Figura 3. Índice de velocidade de emergência (A) e porcentagem de incidência em plantas (B) de algodoeiro em função do tempo de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h) dos isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*, no ano de 2016.

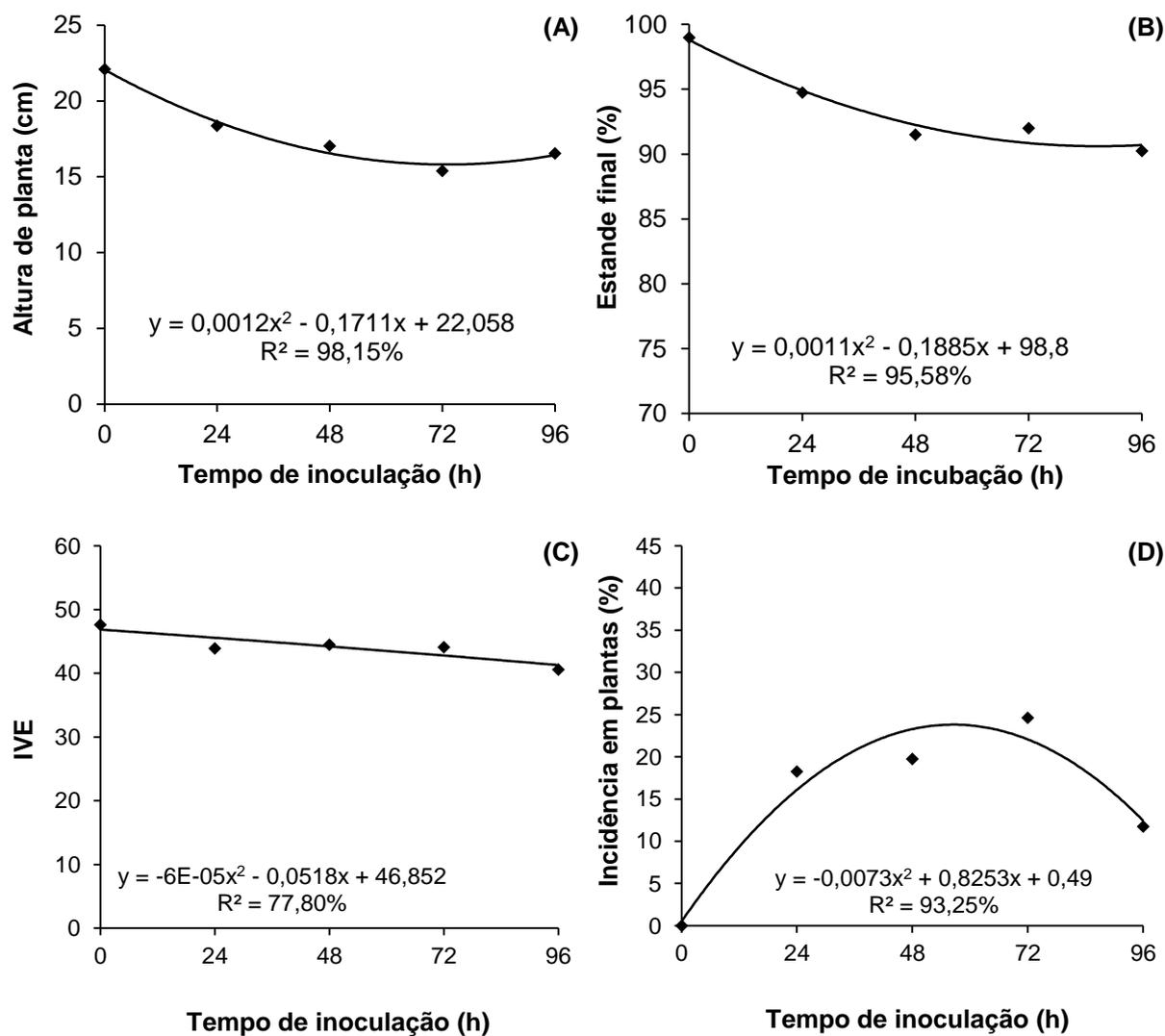


Figura 4. Comprimento de plântula (A), estande final (B), índice de velocidade de emergência (C) e porcentagem de incidência em plantas (D) de algodão, em função do tempo de inoculação (0h, 24h, 48h, 72h e 96h), dos isolados *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola*, no ano de 2017.

O maior índice de velocidade de emergência (IVE) no ano 2016, calculado pelo ponto de máxima da equação, foi no tempo de 34h, após esse tempo de inoculação a emergência das plantas foi prejudicada (Figura 3A).

Após 30 dias da semeadura do algodão, no teste de germinação em substrato, foi realizada a incubação de material vegetal em laboratório para a confirmação da transmissão do patógeno, pois não foram verificados sintomas da doença nas plantas. Após sete dias de incubação observou-se a presença de até 42% de plantas com estrutura do patógeno, onde a maior infecção ocorreu com a inoculação do isolado *M. areola* (Tabela 2) no tempo de 72h de inoculação (Figura 3B e 4D), em ambos os anos.

As plantas de algodão apresentaram estruturas do patógeno associadas ao colo da planta, sendo observada no teste de sanidade a associação do patógeno no ponto de abertura do tegumento, onde se inicia a protrusão da radícula (Figura 5). Durante a germinação o algodão lança primeiro sua radícula, ficando o tegumento da semente presa a parte aérea da semente por curto período de tempo (BOREM & FREIRE, 2014).

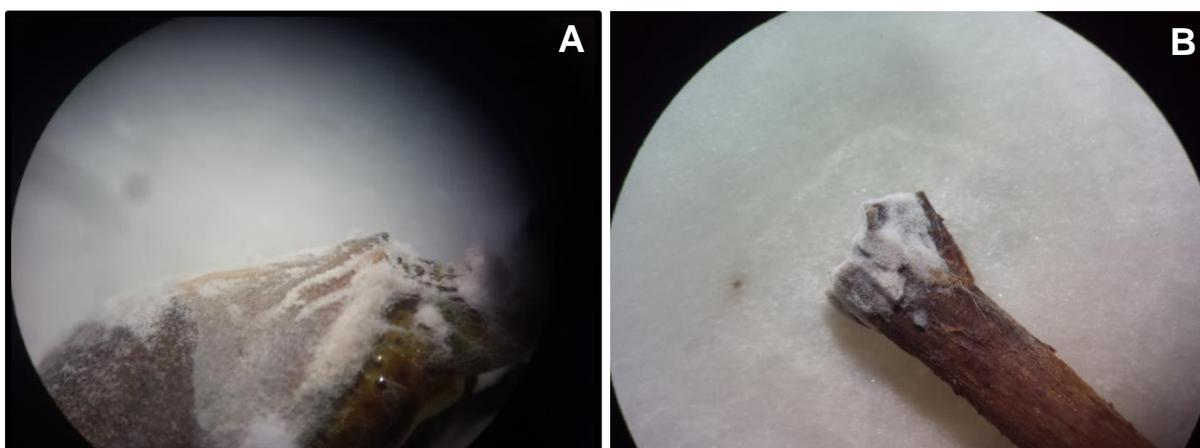


Figura 5. Estruturas do patógeno *Ramularia areola* em sementes de algodão (A) e em plântulas de algodão (B), visualizado em microscópio estereoscópio com aumento de 20x.

Diante disso, levanta-se a hipótese de que a transmissão ocorra no momento da emergência da parte aérea, onde o tegumento fica em contato com o colo da planta, pouco acima do solo, ficando o patógeno em latência até o início da fase reprodutiva da cultura. Essa evidência corrobora com os resultados obtidos por Havis et al. (2014), que encontraram inoculo de *R. collo-cyine* de forma assintomática até a floração da cultura da cevada.

Esse comportamento observado em cevada é semelhante ao que ocorre na cultura do algodão, onde os sintomas iniciais são mais comumente observados próximo a floração, podendo ser um indício de transmissão assintomática do fungo via semente. No Estado de Mato Grosso já foram encontrados relatos de primeiros sintomas ocorrendo aos 45 dias após a semeadura (DAS), contudo em Tangará da Serra/MT é mais comum a ocorrência após os 60 DAS, período que coincide com o início da floração (DIAS et al., 2015; ASCARI et al., 2016; GILIO et al., 2017).

Os resultados obtidos em laboratório permitiram constatar a associação do patógeno a sementes de algodão, sendo este o primeiro relato dessa infecção.

Experimento 2: Sobrevivência de *Ramularia areola* em restos culturais de algodão.

Observou-se que a germinação dos conídios do patógeno, coletados das folhas incubadas, decresceu rapidamente até a sexta semana de avaliação (Figura 6), a partir da qual não foram observados mais nenhum conídio para a avaliação. As folhas coletadas na safra apresentaram uma porcentagem de germinação de conídios inicial mais elevada, cerca de 90%, enquanto que, após a destruição da soqueira de algodão a média foi de 77% (Figura 6).

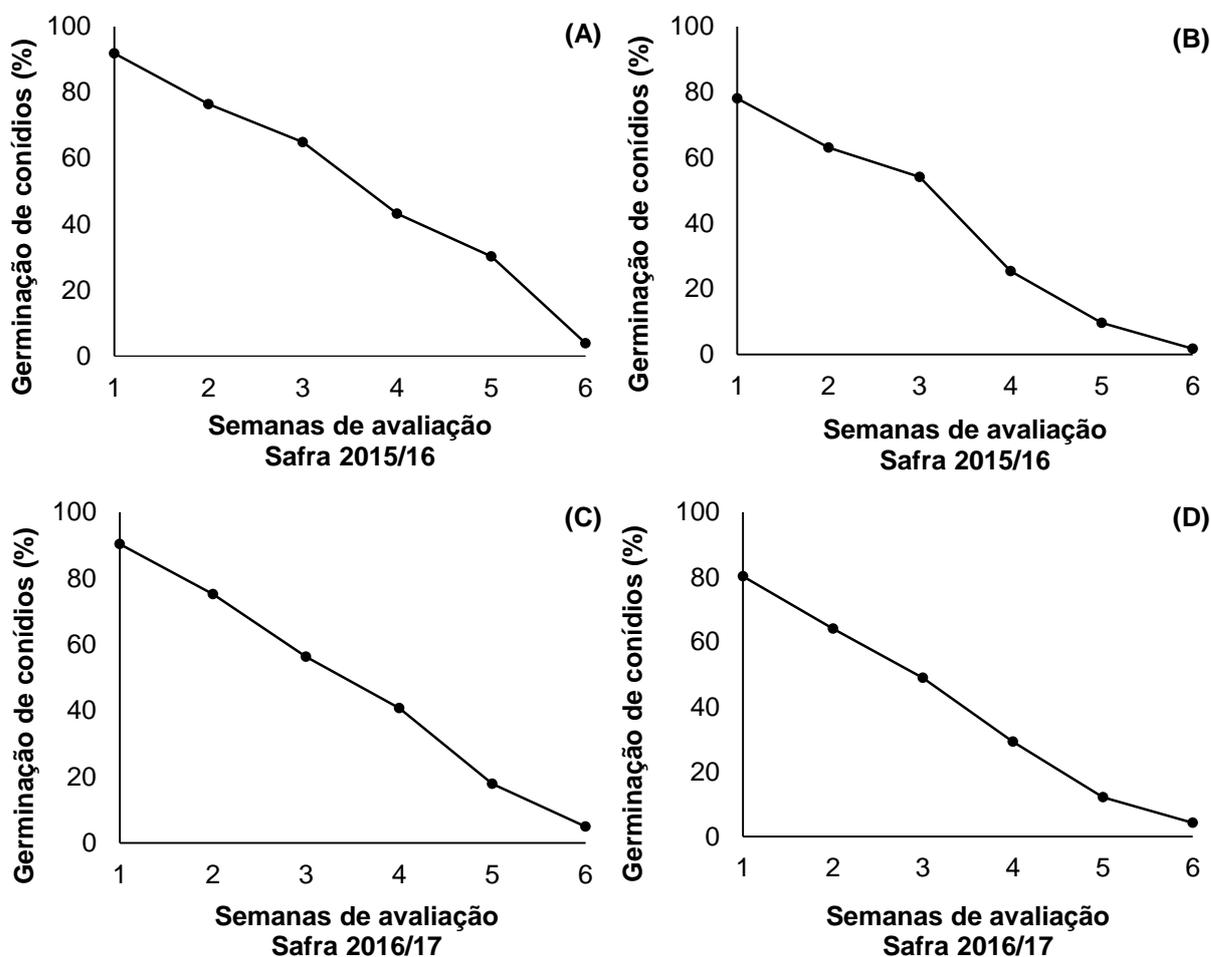


Figura 6. Curva de porcentagem de germinação (%Ger) de conídios de *Ramularia areola* provenientes de folhas coletadas na safra (A e C) e coletas após a destruição da soqueira de algodão (B e D). A e B – safra 2015/16; C e D – safra 2016/17.

O tempo médio de permanência do fungo nas folhas em decomposição (TM) na safra não diferiu estatisticamente, que foi de 4,5 semanas para a condição com aplicação de fungicida e 5 semanas para a condição sem aplicação (Tabela 3). Entretanto, na entressafra houve diferença significativa no ano de 2015, observando um TM de 3,31 semanas onde não houve aplicação e 4,15 semanas onde foi aplicado fungicida durante a safra. Na média geral entre os dois anos na área aplicada o tempo médio foi de 4,98 e sem aplicação foi de 3,85. A germinação de conídios média inicial

(GMI) também apresentou diferença, sendo menor quando coletadas na área que houve aplicação de fungicidas na safra e na coleta de setembro (Tabela 4).

Tabela 3. Tempo médio de permanência das estruturas fúngicas de *Ramularia areola* (TM) nas folhas de algodão, em quatro coletas: 1 - coleta durante a safra 2015/16, 2 - coleta após destruição de soqueira de algodão em 2016, 3 - coleta durante a safra 2016/17, 4 - coleta após destruição de soqueira de algodão em 2017, em função da condição com e sem aplicação de fungicida.

Condição de aplicação	Tempo médio de permanência das estruturas fúngicas			
	1	2	3	4
	----- (Semanas) -----			
Com	4,52	3,31 a	4,63	3,38
Sem	5,10	4,15 b	4,92	4,54
CV (%)	14,30	15,04	15,55	40,39

Médias com letras diferentes, na coluna, diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como as folhas permaneceram em condições controladas em laboratório, levantou-se a hipótese de residual de fungicidas utilizados no campo, visto que a germinação média inicial (GMI) da safra e após destruição da soqueira e o TM da após destruição da soqueira foram maiores nos tratamentos sem controle químico. No entanto, as folhas foram coletadas após dois meses da colheita e as aplicações de fungicidas já tinham cessado 30 dias antes.

Dos fungicidas utilizados apenas um não possuía Estrobilurina na composição, esse grupo químico age como inibidor de quinonas (Q_oI), cuja característica mais importante é a ação rápida em esporos de fungos. A maioria dos fungicidas do grupo químico Estrobilurina tem um período residual de atuação de 21 dias (BALBA, 2007).

A infecção por *R. areola* ocorreu naturalmente na área experimental onde foi desenvolvida a pesquisa. Como não há presença de cultivo comercial de algodão em um raio de aproximadamente 100 km, pressupõem-se que o inoculo inicial, provavelmente, chegou na área por via aérea, hospedeiros secundários ou permaneceu nos restos culturais, conforme relatado por Curvelo et al. (2010), Johnson et al. (2013). Mehta et al. (2017) descreveram a presença de ascósporos em áreas

cultivadas por algodão. Contudo, ainda não há estudos sobre o monitoramento de esporos no ar, e até o presente momento, nenhum hospedeiro secundário deste patógeno foi relatado.

Para as variáveis germinação de conídios média inicial (GMI), houve diferença nas coletas após a destruição da soqueira em 2016 e coleta da safra 2016/2017, a germinação média final apenas diferiu na coleta após destruição da soqueira em 2016 (Tabela 4).

Tabela 4. Geminação de conídios de *Ramularia areola* média inicial (GMI) e final (GMF) nas quatro coletas: 1 - coleta durante a safra 2015/16, 2 - coleta após destruição de soqueira de algodão em 2016, 3 - coleta durante a safra 2016/17, 4 - coleta após destruição de soqueira de algodão em 2017 em função da condição com e sem aplicação de fungicida.

Condição de aplicação	GMI 1	GMI 2	GMI 3	GMI 4	GMF 1	GMF 2	GMF 3	GMF 4
	----- (%) -----							
Com	88,19	75,67 b	85,83 b	68,65	38,20	41,77 a	30,34	31,13
Sem	91,85	79,21 a	91,04 a	68,90	30,56	31,92 b	29,43	27,00
CV (%)	4,77	3,40	5,93	16,56	42,89	27,43	71,96	51,43

Médias com letras diferentes, na coluna, diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados desta pesquisa confirmaram a sobrevivência dos conídios do patógeno em folhas de algodão por quase dois meses, durante o período de vazio sanitário do algodão, podendo contribuir como inoculo primário. No entanto, esse estudo de sobrevivência de *R. areola* foi realizado em condições controladas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, sendo neste caso, desejáveis novas pesquisas testando a sobrevivência deste fungo em condições de campo, quando pode-se avaliar as folhas caídas sobre as coberturas vegetais ou diretamente no solo.

CONCLUSÕES

Foi comprovada a associação *Ramularia areola* e *Mycosphaerella areola* em sementes de algodão, diminuindo a qualidade fisiológica e sanitária dependendo do nível de inóculo nas sementes.

Estruturas fungicas de *Ramularia areola* permanecem viáveis por até cinco semanas em folhas de algodão em decomposição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, D.V.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; ZAMBENEDETTI, E.B.; CELANO, F.A.O.; CARVALHO, E.M.; CAMARGOS, V.N. Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes de algodão na transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 35-40, 2006.

ASCARI, J.P.; MENDES, I.R.N.; SILVA, V.C.; ARAÚJO, D.V. Ramularia leaf spot severity and effects on cotton leaf area and yield. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 434-441, 2016.

BALBA, H., Review of Strobilurin Fungicides Chemicals. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 42, p. 441 - 451, 2007.

BARROCAS, E.N.; MACHADO, J.C., ALVES, M.C., CORREA, C.L. Desempenho de sementes de algodão submetidas à deficiência hídrica e presença de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 421-428, 2014.

BELL, A.A. **Areolate mildew**. In: Watkins, G.M. (Ed.). Compendium of cotton diseases. 1981. p.32-35.

BORÉM, A.; FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2014. 312 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CHITARRA, L.G.; GOULART, A.C.P.; ZORATO, M.F. Tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle de patógenos causadores de tombamento de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 168-176, 2008.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Quarto levantamento, Safra 2017/2018**. Conab, Brasília, v. 5, n. 4, p. 15-42, 2018.

CURVELO, C.R.S.; RODRIGUES, P.G.B.; REZENDE, D.C. Microscopia eletrônica de varredura do processo infeccioso de *Ramularia areola* em folhas de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 108-113, 2010.

DIAS, L.D.E.; SILVA, D.M.V.; ASCARI, J.P.; BAGATINI, G.J.; AMBROSIO, J.; BATISTTI, M.; ARAUJO, D.V. Controle de mancha de ramulária em algodão adensado. **Revista Cultivar - Grandes Culturas**, Pelotas, v. 1, n. 187, p. 8-11, 2015.

ECHER, F.R.; CUSTODIO, C.C.; HOSOMI, S.T.; DOMINATO, J.C.; NETO, N.B.M. Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 41, n. 4, p. 638-645, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GILIO, T.A.S.; ARAÚJO, D.V.; ARAUJO, K.L.; FREGONEZE, T.E.; FRANZON, R.C.; PIZATTO, J.A. Estimated damage caused by ramularia leaf spots on cotton. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 1, p. 12-19, 2017.

HAVIS, N.D.; NYMANB, M.; OXLEYC, S.J.P. Evidence for seed transmission and symptomless growth of *Ramularia collo-cygni* in barley (*Hordeum vulgare*). **Plant Pathology**, Viçosa, v. 63, p. 929-936, 2014.

IAMAMOTO, M.M. **Doenças do algodoeiro: Interação patógeno-hospedeiro**. Jaboticabal - SP. Funep. 2007. p.62.

JOHNSON I.; RAMJEGATHESH, R.; KARTHIKEYAN, M.; CHIDAMBARAM P. Epidemiology of grey mildew and *Alternaria* blight of cotton. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n. 18, p. 2216-2223, 2013.

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.

MENDES, I.R.N.; ASCARI, J.P.; AMBROSIO, J.; ARAUJO, D.V.; PRIETO, R.S.; TAVARES, R.L.C. Comportamento in vitro e caracterização morfológica de *Ramularia areola*. **Cultura Agronômica**, v. 26, n. 3, p. 456-468, 2017.

MENESES, C.H.S.G.; MORAIS, H.G.; VIDAL, M. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 10, n. 1/2, p. 1039-1072, 2006.

MEHTA, Y.R.; GALBIERI, R.; MARANGONI, M.S.; BORSATO, L.C.; RODRIGUES, H.P.; PEREIRA, J.; MEHTA, A. *Mycosphaerella areola* - The Teleomorph of *Ramularia areola* of Cotton in Brazil, and Its Epidemiological Significance. **American Journal of Plant Sciences**, v. 00, n. 7, p. 1415-1422, 2016.

NOVAES, T. G.; ALMEIDA, W.P.; SCHUSTER, I.; AGUIAR, P.; MEHTA, Y.R. Herança de resistência do algodoeiro a *Ramularia areola*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 2, p. 150-152, 2011.

SOUSA, M.V. et al. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 041-048, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O algodão é uma cultura altamente dependente de tecnologia e agroquímicos. Na busca pela diminuição dos impactos ambientais causados por essa cultura, foram introduzidas no sistema de cultivo as coberturas de solo, tais como o milheto e a crotalária.

A mancha de ramulária é a principal doença do algodoeiro, e uma das responsáveis pelo maior aporte de aplicações de agrotóxicos durante o ciclo do algodão. Essa doença encontrou no cultivo do cerrado um clima favorável e vem causando perdas econômicas significativas, contudo ainda existem poucos estudos da relação entre o patógeno o hospedeiro e o ambiente, em especial nessa nova forma de cultivo com coberturas de solo.

Neste estudo evidenciou-se que as coberturas de solo foram favoráveis ao incremento da produção de algodão, sem afetar a severidade da doença, quando aliado ao manejo de fungicidas. Também foi verificada a sobrevivência do patógeno, viável, por até quatro cinco semanas em folhas coletadas na safra e entressafra.

Os resultados obtidos em laboratório permitiram constatar a associação do patógeno a sementes de algodão, sendo este o primeiro relato dessa infecção. Com a inoculação as características fisiológicas e sanitárias das sementes foram comprometidas.

Este estudo apresenta a resposta para muitas lacunas no patossistema *R. areola* - algodão, porém a continuidade deste estudo virá elucidar os mecanismos do patógeno, assim como estudos moleculares se fazem necessários para comprovar em definitivo a associação patógeno – semente.

ANEXO I
NORMAS DA REVISTA CAATINGA
ISSN: 1983-2125

APRESENTAÇÃO E PREPARO DOS MANUSCRITOS

Os artigos submetidos à Revista Caatinga devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. A Revista Caatinga publica ARTIGO, NOTA TÉCNICA E REVISÃO DE LITERATURA.

FORMAS DE ENVIO

Os artigos são submetidos, apenas eletronicamente, na página da Revista Caatinga. Podem ser ENVIADOS em Português, Inglês ou Espanhol. Porém, após a aprovação do manuscrito pelo Comitê Editorial, o autor será contactado para traduzir o artigo para a língua inglesa. Caso o trabalho seja submetido em inglês, após a aprovação desse pelo comitê editorial, o autor será comunicado para que realize a revisão do idioma inglês. A publicação será exclusivamente em Inglês. Fica a critério do autor a escolha da empresa ou pessoa física que irá realizar a tradução do manuscrito. Porém, é obrigatória a realização da REVISÃO do idioma inglês por umas das empresas indicadas pela Revista Caatinga. Abaixo seguem as indicações:

<http://www.proof-reading-service.com> | <http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.journalexperts.com> | <http://wsr-ops.com> | <http://www.canalpage.com>

<http://www.stta.com.br/servicos.php> | <http://americanmanuscripteditors.com/>

PREPARO DO MANUSCRITO

- Digitação: o texto deve ser composto em programa Word (DOC) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens:

Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo 20 páginas, tamanho A4, digitado com espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho 12 e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias

outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial. As Notas Técnicas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras.

- Tamanho: o manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.
- Organização: o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

Título: deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no máximo com 15 palavras, não deve ter subtítulo e abreviações. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida. Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

Autores (es): nomes completos, sem abreviaturas, em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados. Essas informações deverão constar apenas na versão final do artigo. Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.

Para a inclusão do(s) nome(s) do(s) autor (es) e do(s) endereço(s) na versão final do artigo deve-se, como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (Unidade/Setor, Instituição, Cidade, Estado, País), endereço completo e e-mail de todos os autores. O autor correspondente deverá ser indicado por um “*”.

No rodapé devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. Exemplo:

*Autor para correspondência

¹ Recebido para publicação em xx/xx/xxxx ; aceito em xx/xx/xxxx.

Especificação (natureza) do trabalho (ex.: Pesquisa apoiada pela FAPESP e pelo CNPq; Trabalho de Mestrado,...)

² Unidade/Setor (por extenso), Instituição (por extenso e sem siglas), Cidade, Estado(sigla), País; E-mail (s).

OBS.: Caso dois ou mais autores tenham as mesmas especificações, não precisa repetir as informações, basta acrescentar, apenas, o e-mail ao final.

Só serão aceitos, no máximo, 5(cinco) autores por artigo submetido: ressaltamos que, salvo algumas condições especiais, poderá ser incluído um sexto autor (não mais que isso) mediante apresentação de justificativas. A justificativa deverá ser anexada, no ato da submissão, em “Documentos Suplementares”, para que o Comitê Editorial proceda com a devida análise.

Caso isso não ocorra, a submissão de artigo com número superior a 5 (cinco) autores não será aceita.

** Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores a posteriori.

** Todos os autores deverão, OBRIGATORIAMENTE, cadastrarem-se no sistema.

Resumo e Abstract: no mínimo 100 e no máximo 250 palavras.

Palavras-chave e Keywords: a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

Obs.: Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

Introdução: no máximo, 550 palavras, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

Conclusão: deve ser em texto corrido, sem tópicos.

Agradecimentos: logo após as conclusões, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

• Tabelas: sempre com orientação em “retrato”. Serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar

negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não ultrapassando 17 cm.

- Figuras: sempre com orientação em “retrato”. Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não ultrapassando 17 cm. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com ORIENTAÇÃO na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.

- Equações: devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt | Subscrito/sobrescrito = 8 pt | Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt | Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

REFERÊNCIAS

Devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm).

Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores; justificar (Ctrl + J). Este periódico utiliza a NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.

Citações de autores no texto: devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

REGRAS DE CITAÇÕES DE AUTORES

** Até 3 (três) autores

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula.

Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. Revista Caatinga, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

** Acima de 3 (três) autores

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão et al.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on Mimosa tenuiflora(Willd.) poiret seed germination. Revista Caatinga, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

** Grau de parentesco

HOLANDA NETO, J. P. Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. Cuiabá: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

MODELOS DE REFERÊNCIAS

a) Artigos de Periódicos: Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. Título do periódico, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on Mimosa tenuiflora(Willd.) poiret seed germination. Revista Caatinga, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

b) Livros ou Folhetos, no todo: Devem ser referenciados da seguinte forma:

AUTOR. Título: subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes. (nome e número da série)

Ex: RESENDE, M. et al. Pedologia: base para distinção de ambientes. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. Geologia do Brasil. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. Título: subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). Melhoramento e produção do milho. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

d) Dissertações e Teses: (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. Título: subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.).2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

e) Artigos de Anais ou Resumos: (DEVEM SER EVITADOS) NOME DO CONGRESSO, n.º., ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas no viveiro e no campo. In:

CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. Anais... Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:

Ex: GURGEL, J. J. S. Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS. Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

g) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

h) Literatura sem autoria expressa:

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. Globo Rural, São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

i) Documento cartográfico:

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). Regiões de governo do Estado de São Paulo. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

J) Em meio eletrônico (CD e Internet): Os documentos /informações de acesso exclusivo por computador (online) compõem-se dos seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os sinais <> precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:. Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. SNPC – Lista de Cultivares protegidas. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM. UNIDADES E SÍMBOLOS DO SISTEMA INTERNACIONAL ADOTADOS PELA REVISTA CAATINGA.