

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ CÂMPUS DOIS
VIZINHOS

CURSO DE AGRONOMIA

CAROLINE NAYARA REOLON FELIPETTO

**ESTUDO DA PATOGENICIDADE DE *Colletotrichum dematium* VAR. TRUNCATA
EM SOJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS – PR, 2018

CAROLINE NAYARA REOLON FELIPETTO

**ESTUDO DA PATOGENICIDADE DE *Colletotrichum dematium* VAR. TRUNCATA
EM SOJA**

Projeto de Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná do Campus de Dois Vizinhos como requisito parcial a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Profa. Dra. Maristela Rey Borin.

Co-orientadora: Caliandra Bernardi

DOIS VIZINHOS – PR

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por mais este objetivo que estar sendo alcançado, pelas oportunidades e aprendizados que a caminhada até aqui me proporcionou.

Agradeço à minha família que sempre foi e é essencial na minha vida, pelo apoio e consolo sempre que precisei, principalmente meus queridos e amados pais, Ademir Felipetto e Sirley Salete Reolon que são de extrema e essencial importância em minha vida, sem eles eu não chegaria onde estou e com certeza não seria tão mais fácil esta conquista buscada.

Agradeço aos meus professores, pelos ensinamentos e orientações, pela paciência e dedicação e em especial à minha orientadora Professora Dra. Maristela Rey Borin pela paciência e atenção, também pelo carinho de sempre e à minha co-orientadora, Mestranda Caliandra Bernardi componente de minha banca por toda ajuda e orientação, também agradeço aos meus amigos pelo apoio e pela força sempre em todas as horas.

Agradeço de forma geral a todos que de alguma forma contribuíram para mais esta etapa concluída e pelo início de mais uma realização em minha vida.



Ministério da Educação

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Campus Dois Vizinhos

Diretoria de Graduação e Educação Profissional

Coordenação do Curso de Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO DA PATOGENICIDADE DE *Colletotrichum dematium* VAR. TRUNCATA
EM SOJA

por

CAROLINE NAYARA REOLON FELIPETTO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) ou esta Monografia ou esta Dissertação foi apresentado(a) em 27 de NOVEMBRO de 2018 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a). O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Maristela Rey
UTFPR-Dois Vizinhos

Caliandra Bernardi
UTFPR-Dois Vizinhos

Carlos André Bahry
UTFPR-Dois Vizinhos

Angélica Mendes

Lucas Domingues
UTFPR – Dois Vizinhos

RESUMO

FELIPETTO REOLON, Caroline Nayara. Estudo da patogenicidade de *Colletotrichum dematium* VAR. TRUNCATA em soja. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

A cultura da soja possui uma infinidade de doenças que afetam seu potencial produtivo em todas as suas fases fenológicas. A antracnose, causada pelo fungo *C. dematium* VAR. truncata é uma das principais doenças da cultura, ocorrendo desde a fase inicial até a formação das vagens sendo transmitida via semente. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a incidência, morfologia, transmissão por semente, diferentes potenciais de inóculo e a severidade dos danos em plântulas de soja ocasionada pelo patógeno *C. dematium* sobre as cultivares TMG7062, NS6909IPRO, NA 5909R6, P95R51 de soja. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. De início, realizou-se o teste de sanidade de sementes método *Blotter test*, para o isolamento do fungo *C. dematium*, e avaliação da qualidade sanitária dos lotes das cultivares estudadas. Realizou-se sua caracterização morfológica e microscópica do patógeno, além de avaliar a capacidade de produção de enzimas extracelulares esterases, proteases e celulases por *C. dematium* em meio sólido. Com o patógeno caracterizado, avaliou-se transmissão semente-plântula, avaliação do potencial de inóculo, e teste de virulência. Todas as cultivares se mostraram de alguma forma suscetíveis à *C. dematium*, se destacando as cultivares NA5909RG e P95R51, como mais suscetíveis.

Palavras-chave: Severidade, Patógeno, Incidência.

ABSTRACT

FELIPETTO REOLON, Caroline Nayara. Study of pathogenicity of *Colletotrichum dematium* VAR. TRUNCATA in soy. 30 f. Course Conclusion Paper, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

Soybean cultivation has a multitude of diseases that affect its productive potential in all its phenological phases, the anthracnose, caused by the fungus *C. dematium* VAR. TRUNCATA is one of the major diseases of the crop, it occurs from the initial stage until the formation of the pods and is transmitted via seed. The objective of this work was to evaluate the incidence, morphology, seed transmission and severity of the damage in soybean seedlings caused by the different potentials of *C. dematium* inocula on cultivars TMG 7062, N 6909, NS 5909 RR, P955R51 from Soy. The experiment was conducted at the Phytopathology / Phytosanitary Laboratory of the Federal Technological University of Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. At the beginning, the test of sanity of the seed method Blotter test, for the isolation of the fungus *C. dematium*, And evaluation of the sanitary quality of the lots of the cultivars studied was carried out. The characterization was carried out through mycelial growth in Mathur and BDA culture media and a. The production capacity of extracellular enzymes, proteases and cellulases by *C. dematium* in solid medium, seed-plaine transmission, inoculum potential assessment, and virulence test were evaluated. All cultivars showed somehow susceptible to *C. dematium*, with the cultivars NA5909RG and P95R51 being the most susceptible.

Key words: Severity, Pathogen, Incidence.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 JUSTIFICATIVA	11
3 HIPÓTESES.....	12
4 OBJETIVOS	13
4.1 OBJETIVO GERAL.....	13
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
5 REVISÃO DE LITERATURA	14
5.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA	14
5.2 ANTRACNOSE NA SOJA	15
5.4 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA.....	18
5.5 VIRULÊNCIA DE PATÓGENOS	19
6 METODOLOGIA.....	21
6.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	21
6.2 SEMENTES UTILIZADAS NO ESTUDO	21
6.3 TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES.....	21
6.4 ISOLAMENTO E REPICAGEM DO FUNGO <i>C. dematium</i>	21
6.5 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO FUNGO.....	22
6.5.1 Identificação microscópica de <i>C. dematium</i>	22
6.5.2 Caracterização morfológica	22
6.5.3 Crescimento micelial.....	23
6.6 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES	23
6.6.1 Celulases	24
6.6.2 Protease.....	24
6.6.3 Esterases	24
6.7 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA.....	24
6.8 POTENCIAL DE INÓCULO.....	25
6.9 VIRULÊNCIA DO PATÓGENO	26
6.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
7 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
7.1 TESTE DE SANIDADE DE SEMENTES	28
7.2 CARACTERIZAÇÃO DO PATÓGENO.....	30
7.2.1 Caracterização microscópica.....	30
7.2.2 Caracterização morfológica	31
7.2.3 Crescimento micelial.....	32

7.3 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES	34
7.4 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA.....	37
7.4.1 Potencial de inóculo	38
7.5 VIRULÊNCIA DO PATÓGENO	40
8 CONCLUSÃO	52
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o Brasil está entre os cinco maiores produtores de soja do mundo, ocupando o segundo lugar com 116,996 milhões de toneladas em quantidade de grãos produzidos e 35,100 hectares de área plantada desta cultura, com produtividade de 3.333 kg/ha. (CONAB, 2017/2018).

Com o aumento da produção de grãos, e da soja em especial, houve um aumento também nos problemas que afetam a produção agrícola, principalmente em grandes escalas, destacando-se as pragas e doenças que provocam redução na produtividade das culturas de interesse (JUHÁSZ, et al, 2013). Neste contexto, se torna necessário estudar e aprofundar a pesquisa sobre determinadas doenças que afetam as culturas, como a Antracnose na cultura da soja.

A antracnose é uma das principais doenças da cultura da soja, ocorre desde a fase inicial até a formação das vagens, é favorecida por altas temperaturas associadas com elevada precipitação, transmitida via semente pode causar danos severos na cultura, como deterioração de sementes, morte de plântulas, e infecção em plantas adultas, resultando na redução severa no número de vagens, prejudicando o desenvolvimento da cultura (GOULART, 2009).

A transmissão semente-plântula ocorre através da constatação e potencial de inóculo nas sementes, que após serem cultivadas, atingem o desenvolvimento inicial, e originam uma plântula doente (MENTEN; BUENO,1987, LUCCA FILHO; JACOBSEN, 2012).

A constatação da presença do patógeno na semente nem sempre garante a infecção da planta, pois essa fase de infecção do patógeno pela planta depende não somente do potencial de inóculo nas sementes, mas também das condições ideais para seu desenvolvimento e infecção. Fatores como condições climáticas, fatores físicos do solo e a sobrevivência do patógeno na semente (BAKER e SMITH, 1966; PESKE et al.,2006). De acordo com o exposto torna-se indispensável um estudo sobre a incidência, morfologia, transmissão por semente, potencial de inóculo e a

severidade dos danos em plântulas de soja causada por *C. dematium*, sobre as cultivares TMG7062, NS6909IPRO, NA5909R6, P95R51 de soja.

2 JUSTIFICATIVA

A produção da soja está sujeita a vários fatores adversos que podem comprometer seu desenvolvimento e produtividade. Dentre estes fatores podemos citar as doenças de plantas como um dos principais, causando sérios prejuízos aos agricultores responsáveis pelas mesmas.

Contudo, através desta análise dos fatos, podemos citar que dentro do manejo de doenças na cultura da soja, *Colletotrichum dematium* tem causado prejuízos na cultura, desde a fase plântula e se estendendo no período vegetativo da cultura. A principal infecção da doença é transmissão via semente, em que as plântulas já se formam com lesões necróticas, diminuindo o seu potencial de desenvolvimento, refletindo negativamente no rendimento da cultura, posteriormente.

A verificação do potencial de infecção de *C.dematium*, através da transmissão semente-plântula, representa a importância da doença, no seu potencial de transmissão através dos danos causados em plântulas e conseqüentemente prejuízos na cultura a campo, tornando viável o estudo científico realizado com qualidade, nos dando respostas confiáveis através de um projeto de pesquisa científica.

3 HIPÓTESES

O patógeno *Colletotrichum dematium*, apresenta diferentes patogenicidades entre cultivares de soja, desde a transmissão semente plântula até o índice de severidade do mesmo.

,

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a incidência, morfologia, potencial enzimático, transmissão por semente e severidade dos danos causados por *C. dematium* em plântulas, sobre as cultivares TMG 7062, NS 6909 IPRO, NA 5909 RG, P 95R51 de soja.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a incidência de *C. dematium* nas cultivares TMG 7062, NS 6909 IPRO, NA 5909 RG, P 95R51 de soja;
- Caracterizar microscopicamente e morfológicamente o patógeno *C. dematium*;
- Analisar a produção de enzimas extracelulares pelo fungo;
- Examinar a transmissão semente-plântula do patógeno nas cultivares;
- Avaliar a severidade do inóculo de *C. dematium* em plântulas das cultivares de soja;

5 REVISÃO DE LITERATURA

5.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA

No agronegócio brasileiro, a expansão da produção e da produtividade da cultura da soja, está em maior destaque, pois movimentada a grande parte da economia interna e externa do país (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Neste aspecto, a soja é o principal grão produzido no Brasil, em sua maioria para a exportação, deixando o país como segundo maior exportador de grãos do mundo, onde temos o maior índice de produtividade por área cultivada, sendo de 3.333 kg por hectare (EMBRAPA SOJA, 2017).

Este aumento de produção e produtividade, teve grande contribuição das tecnologias que beneficiaram a produção no campo, como a mecanização com maquinários que tecnificam e facilitam as atividades agrícolas, a pesquisa científica que auxilia no desenvolvimento de manejos eficientes pondo em prática a teoria científica e o aumento de profissionais da área auxiliando neste avanço do agronegócio brasileiro e também o crédito rural para custeio das atividades agrícolas, principalmente na região sul do Brasil, onde os latifundiários da região substituíram as áreas com pastagens degradadas por áreas de monocultura de soja, respectivamente (SILVA, 2010).

Com este aumento das áreas produtivas da soja no Brasil, houve também o aumento das doenças que acometem a cultura, possuindo cerca de quarenta doenças identificadas, provocadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, mas em sua grande maioria as doenças fúngicas são as mais agressivas e que acontecem com mais frequência, podendo causar 100% de perdas de uma lavoura, onde também o manejo adotado pode favorecer ou não a instalação e o desenvolvimento das doenças (PASTORELLO, 2014).

A soja pode ser afetada por diversas doenças fúngicas à campo, que são consideradas as mais importantes, por serem em maior número e também por causarem sérios prejuízos a cultura na produtividade e na qualidade da semente (HENNING, 1996). Segundo Braccini et al., 2003, o cultivo de sementes de alta qualidade se torna indispensável quando se busca altos rendimentos por área. Muitas das doenças fúngicas da soja, tem como fonte e veículo de inóculo a

semente, que introduz as doenças em novas áreas de cultivo, que encontrando condições favoráveis de ambiente, causam sérios danos a cultura refletindo em prejuízos econômicos (HENNING, 1996).

5.2 ANTRACNOSE NA SOJA

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, é uma das principais doenças da cultura da soja. Quando semeadas em condições de alta umidade as sementes infectadas podem causar tombamento e morte de plântulas tanto em pré-emergência quanto em pós-emergência. Nas plântulas, os sintomas são observados na forma de necrose nos cotilédones (GALLI, 2005), hastes e ramos, inicialmente com pontuações escuras e necróticas, denominadas de acérvulos (HENNING, 1994). Nas vagens, os acérvulos podem distribuir-se em círculos concêntricos (LEHMAN; WOLF, 1926; REIS et al., 2012), sendo observadas inúmeras setas escuras, que também podem identificar o patógeno nas sementes. Após o período de incubação (HENNING, 1994), o fungo desenvolve-se no interior do tecido cortical, porém se expressa somente em condições adequadas (KIMATI, 1997).

Encontrando-se em condições de alta umidade, o fungo causa abertura das vagens não maduras e nos grãos ainda em enchimento provoca germinação, ou ainda, apodrecimento e queda de vagens. Pode ocasionar perda total da lavoura, mas frequentemente ocasiona alta redução do número de vagens e induz a planta à permanecer com haste verde e retenção foliar (EMBRAPA, 2002).

Segundo Godoy et al., 2014, o fungo ataca a planta em qualquer estágio de desenvolvimento podendo causar deterioração total das sementes em colheita tardia. A principal característica utilizada para a identificação do patógeno nas sementes são manchas com leve depressão de coloração castanho-escuras.

A alta densidade populacional juntamente associada ao molhamento foliar prolongado, precipitações frequentes ou alta umidade relativa e temperaturas entre 18 °C e 25 °C favorecem a ocorrência do fungo. A disseminação não ocorre somente por meio de sementes infectadas, os restos de cultura, o vento e a chuva também podem ser veículos nesse processo. (HENNING, et al, 2014). Uso de sementes

infectadas e deficiências nutricionais, principalmente de potássio, também contribuem para maior intensidade da doença (GODOY, et al., 2014).

Os patógenos *C. dematium* var. *truncata*, *Phomopsis sojae*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina* e *Septoria glycines*, são os mais freqüentemente disseminados através das sementes (HAMAWAKI, et al, 2002). Os mesmos autores verificaram que a germinação de sementes de genótipos de soja correlacionou-se de forma negativa com a incidência de *Colletotrichum dematium*.

Conforme descrito no Manual de Análise Sanitária 2009, *Colletotrichum dematium* Possui micélio acinzentado de formação irregular de corpos estromáticos (primórdios de escleródios), acérvulos se apresentam com forma oval e alongada, com setas marrons escuras e ocasionalmente massas de conídios de coloração bege a roséas, conídios são falcatos, com ápices obtusos, hialinos, unicelulares e curvos (alantóides)., com conidióforos que estão no interior dos acérvulos, com tamanho variando entre 15,5-24 × 3,5-4µm.

5.3 ENZIMAS EXTRACELULARES

Durante todo seu período de existência as plantas estão sujeitas a interação de fatores bióticos e abióticos, fatores ambientais e doenças que acometem e interrompem suas atividades fisiológicas normais (AGRIOS, 2005). A ocorrência de doenças em plantas, foram registradas desde os primórdios dos cultivos agrícolas, antes eram atribuídas as causas naturais, porém com os avanços e o crescimento dos cultivos, houve a necessidade do conhecimento microbiológico destes patógenos e seus efeitos nas plantas (BERGAMIM FILHO; KITAJIMA, 2011). Nesta associação evolutiva as plantas e os microorganismos fitopatogênicos, desenvolveram mecanismos de defesa e ataque, procedentes da compatibilidade ou incompatibilidade em suas associações (DE MELO et al., 2008).

No processo de infecção, os patógenos depositam conídios e estruturas de penetração, e alterando as funções estruturais dos tecidos vegetais na planta, para dar início ao processo infectivo (GOMES et al., 2010, MUSSURY et al., 2012). A

planta em resposta ao ataque do patógeno ativa seus eventos fisiológicos e bioquímicos com a produção de hormônios como ácido salicílico (SANCHEZ et al., 2013), aumentando a atividade enzimática do hospedeiro em resposta ao ataque, através da produção de enzimas como peroxidases, polifenoloxidasas e catalases (ALMEIDA et al., 2012, ITAKO et al., 2012, BARBOSA et al., 2014).

A utilização das enzimas extracelulares, caracterizam a variabilidade dos fungos fitopatogênicos, pois as mesmas possuem a capacidade de degradar a parede celular das plantas, para que ocorra a infecção pelos patógenos. Desta forma, os patógenos dependem da produção de enzimas e metabólitos para aderir a sua patogenicidade (POLONI, 2008). Segundo Bocchese (2003), esta interação patógeno-hospedeiro, depende dos mecanismos de ataque do patógeno e da defesa do hospedeiro que também são influenciadas pelas condições climáticas e condições nutricionais do mesmo. A produção de enzimas, possuem papel importante na patogenicidade dos fungos, e na degradação de compostos orgânicos da planta, degradando a parede celular destruindo o seu plasmalema (GRIFFIN, 1994).

As exoenzimas mais estudadas são as amilases, celulasas, lipases, pectinases, proteases e esterases. As enzimas são utilizadas pelos microorganismos para degradar os compostos como fofolípídeos e glicolípídeos nas membranas, ceras e cutículas de sementes, neste processo há a produção de ácidos graxos, para serem por eles utilizados (Pascholatti, 1995).

As enzimas celulolíticas degradam a celulase, constituinte da parede celular dos vegetais, formando um complexo enzimático constituído basicamente por três enzimas β -1,4 glucanase, exo β -1,4 glucanases e β -1,4 glucosidase (Pascholatti, 1995). Em que cada uma delas desempenham um papel específico nos polímeros de celulase. A produção desta exoenzima utilizada no processo patogênico já foi citada em *Sclerotinia* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Penicillium* sp., *Pythium ultimum* Trow, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder & Hansen, entre outros fitopatógenos, exercendo papel significativo na interação patógeno-hospedeiro (Piero & Pascholatti, 2000).

As enzimas pécticas, são compostas por polissacarídeos ácidos de alta massa molar formadoras das paredes celulares dos vegetais. Desempenham patogenicidade, ocasionando a separação das células, através da maceração dos tecidos), causando modificações na parede, facilitando a ação de outras enzimas

despolimerizantes que atuam sobre outros substratos, como celulose e lignina. As esterases estão dentre as principais enzimas pectinolíticas, que no processo de patogenicidade liberam ácido péctico, e pectina solúvel de alta massa molar (Esposito & Azevedo, 2004).

A produção de enzimas por fungos fitopatogênicos, quando em meio sólido, é uma alternativa simples e rápida de analisar variações genéticas de uma população, que auxiliam em estudos ecológicos, taxonômicos e patogênicos, através da detecção, presença e ausência de enzimas específicas (HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975).

5.4 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA

A transmissão semente x plântula é considerada a fase de infecção da doença, em que ocorre o transporte do patógeno através da semente, originando uma plântula doente (MENTEN; BUENO, 1987, LUCCA FILHO; JACOBSEN, 2012).

Acredita-se que sementes associadas à patógenos são fontes consideráveis de inóculo inicial de doenças de plantas, principalmente nos estádios iniciais das culturas, favorecendo o desenvolvimento de surtos e na introdução destas em áreas antes não infestadas (MENTEN; BUENO, 1987, TALAMINI et al., 2002). São consideradas, inóculos de doenças, por serem constituídas de elementos que propiciam o desenvolvimento e a sobrevivência de patógenos, como carboidratos, proteínas e minerais, protelando a permanência destes em condições ideais nas mesmas por determinado período de tempo que favorece o patógeno (TANAKA, MACHADO, 1985), portanto, promovem, a transmissão às plântulas (BAKER, SMITH, 1966; MENTEN, 1995; KRUPPA, RUSSOMANO, FABRI, 2012; LUCCA FILHO, JACOBSEN, 2012).

A passagem de inóculo das sementes para as plântulas, é influenciada não somente pela disseminação e colonização do hospedeiro nas fases iniciais das culturas, mas também pela quantificação e constatação dos microorganismos nas sementes que são consideradas fontes de inóculo inicial, através da dimensão dos sintomas (MENTEN; BUENO, 1987; LUCCA FILHO; JACOBSEN, 2012). Porém, alguns autores citados à baixo, afirmam que os sintomas iniciais de doença em plantas, não somente causam danos nas fases iniciais, mas se entendem por todo

ciclo das culturas, inicialmente afetam de forma direta o estabelecimento, com a baixa germinação e vigor através da deterioração, pois propicia perdas na qualidade fisiológica da semente (SINCLAIR, 1991; TEIXEIRA, MACHADO, 2003; NEERGARD, 1979; ARAUJO, ROSSETO, 1987; PESKE, VILLELA, MENEGHELLO, 2012; SIQUEIRA et al., 2014).

Pode-se afirmar que não somente pelo simples fato da semente conter fontes de inóculo, a transmissão poderá ocorrer, pois a mesma depende de alguns fatores bióticos e abióticos que influenciam neste processo, como a constatação do patógeno presente na semente, e pelas condições ambientais que influenciam na sua sobrevivência e eficiência, como temperatura e umidade, principalmente (ARAÚJO et al., 2006; CARDOSO, 2012; SIQUEIRA et al., 2014).

Este processo também irá depender de raças de patógeno (REY et al., 2009), da cultivar de diferentes épocas de inoculação da planta mãe, que vai implicar na localização do patógeno (FAIVRE-RAMPANT et al., 2012), condições de semeadura das sementes infestadas (MANDAHAR et al., 1998) e condições de armazenamento (OJEDA; SUBERO, 2004). No entanto, Tanaka e Machado (1985), Machado (2000) e Cardoso (2012) ressaltam que além desses fatores é fundamental considerar o potencial de inóculo do patógeno que irá iniciar o processo de infecção, no processo de transmissão.

De acordo com Rivera (2007), quanto maior a quantidade de propágulo viável em contato com a semente ou hospedeiro, maior será a probabilidade da doença se manifestar, ou seja, de ocorrer a transmissão da mesma. Em todo este processo de transmissão de doenças em plantas, o potencial de inóculo está diretamente atrelado ao tempo que a semente fica exposta ao inóculo, ou seja, quando maior o tempo de inoculação das sementes, maiores serão os índices de transmissão do patógeno (ARAÚJO et al., 2006; CORREA 2006; SIQUEIRA et al., 2014).

5.5 VIRULÊNCIA DE PATÓGENOS

Para apresentar o potencial de virulência de uma doença, deve-se testar a suscetibilidade de uma cultura à mesma. A cultura da soja pode apresentar diferentes graus de suscetibilidade à um determinado patógeno, definindo a gravidade da infecção pelo mesmo (KHARE & CHACKO 1983), ocasionando

diferentes graus de severidade de danos, em folhas, hastes e vagens. A severidade exercida pelo patógeno sobre a planta suscetível, também varia de acordo com o estágio fenológico da mesma, quando em estádios iniciais os sintomas da doença tendem a ser mais severos (MEDEIROS,2004).

Os autores Mignucci & Lim (1980), constataram que quando plantas de soja são infectadas por patógenos em estádios iniciais de desenvolvimento, como V3, as mesmas apresentaram-se mais suscetíveis a doença do que em estádios mais avançados, portanto afirmam que a doença se desenvolve com severidade em plantas mais jovens, como por exemplo o ataque de *C. dematium* em plântula de soja.

O potencial de inóculo da doença, associado à suscetibilidade da planta, demonstra o grau de severidade através dos sintomas. Mendes (2014), em estudos realizados com *C. dematium* constatou que a severidade do patógeno ficou evidente após aumento proporcional de potencial de inóculo em plântulas de soja, causando o aumento dos sintomas na forma de necroses cotiledonares, e quando em potencial de inóculo elevado, causou morte de plântulas em pré- emergência.

6 METODOLOGIA

6.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

6.2 SEMENTES UTILIZADAS NO ESTUDO

As sementes utilizadas foram provenientes de diferentes empresas, sendo as cultivares utilizadas: TMG7062, NS6909IPRO, NA5909RG e P95R51.

6.3 TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES

Para a realização do teste de sanidade, as sementes foram divididas em lotes de 200 para cada cultivar. Para a avaliação da sanidade de cada lote utilizou-se 25 sementes distribuídas equidistantes por caixa, totalizando oito caixas Gerbox® por cultivar.

As sementes foram distribuídas em caixas Gerbox®, com duas folhas de papel mata-borrão autoclavado, umedecidas com água deionizada e autoclavada. As caixas Gerbox®, foram levadas para a câmara climatizada B.O.D. para que os microrganismos presentes nas sementes, crescessem durante sete dias aproximadamente, em temperaturas de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em regime de luz alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro), conforme descrito por (ARAÚJO, ET AL, 2013).

Após a montagem dos testes os tratamentos foram avaliados com auxílio de microscópio estereoscópico, afim da identificação dos patógenos presentes com base na avaliação das suas estruturas de desenvolvimento e reprodução.

6.4 ISOLAMENTO E REPICAGEM DO FUNGO *C. dematium*

O patógeno identificado no teste de sanidade foi isolado das sementes e cultivado para posterior identificação morfológica do mesmo. Após obter uma colônia

pura do mesmo, foram realizadas as replicações necessárias para obter a quantidade de material suficiente, para a realização do experimento. O fungo foi repicado em placas de Petri® com meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) (RESENDE, 2003).

Para a realização das repicagens, um disco de BDA com micélio do fungo com 15 dias foi depositado no centro de cada placa, todo procedimento foi realizado dentro do fluxo laminar para que não houvesse a contaminação do material. Após a replicação, as placas foram incubadas a $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em regime de luz alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro) durante quinze dias, conforme descrito por (ARAÚJO, ET AL, 2013), para o crescimento do fungo e para que não houvesse comprometimento da viabilidade até seu perfeito crescimento nas placas.

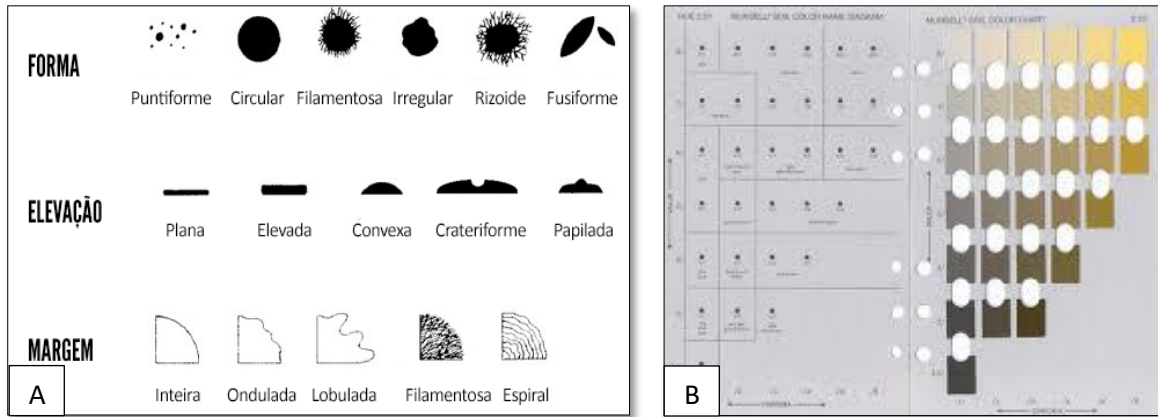
6.5 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO FUNGO

6.5.1 Identificação microscópica de *C. dematium*

A determinação da espécie foi realizada através de uma análise detalhada dos conidióforos e conídios, sendo montadas lamínas microscópicas dos mesmos e avaliadas com auxílio de microscópio óptico com aumento de 40X.. As características mais relevantes para a identificação, foram a septação forma e tamanho dos conídios. Todas as características morfológicas analisadas foram comparadas com as descritas por Sivanesan (1987) e Barnett & Hunter (1998).

6.5.2 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica da colônia de *Colletotrichum* sp. foi realizada em nível de Forma, Elevação, Borda e Coloração, as mesmas foram baseadas em metodologias propostas por Prescott, Harley e Klein (2002) como mostra Figura 1A, enquanto a coloração foi baseada em metodologia de coloração de solo, proposta por Munsell (2009) conforme figura 1B.



A: Metodologia Prescott et al (2002) B: Metodologia Munsell (2009)

Figura 01. Metodologias para caracterização morfológica das colônias

Fonte: PRESCOTT et al. (2002). B: Munsell (2009).

6.5.3 Crescimento micelial

Para avaliação de crescimento micelial, foram utilizados dois meios de cultura, BDA (Batata, Dextrose e Ágar) 200g de batata, 20g de dextrose, 20g de ágar, 1000mL de água destilada e meio de Mathur constituído por peptona (2,0 gl⁻¹), dextrose (2,8 gl⁻¹), MgSO₄ (1,73 gl⁻¹), KH₂PO₄ (2,72 gl⁻¹) e ágar (20 gl⁻¹) (REY et al., 2004).

Um disco do patógeno foi disposto no centro da placa de Petri® contendo o meio de cultura avaliado, sendo que para cada meio de cultura, utilizou-se cinco repetições. As avaliações aconteceram a cada 24 horas até que o fungo atingisse o tamanho de 9 cm², e foram realizadas medindo o diâmetro em dois pontos da colônia com régua milimetrada.

6.6 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES

O isolado de *C. dematium* foi avaliado quanto à sua capacidade de produzir enzimas extracelulares em meio sólido. Entretanto, discos de 5mm de diâmetro do micélio de cada isolado foram transferidos individualmente para placas de Petri® contendo meio mínimo acrescido do substrato da enzima a ser avaliada, e mantidas por 5 dias a 20°C em estufa BOD com fotoperíodo de 12 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Todas as enzimas foram compostas por um meio mínimo mais um substrato específico para a avaliação de cada uma. O meio mínimo foi composto de NaNO₃ (6g/l), KCl (0,5g/l), KH₂PO₄ (1,5g/l), MgSO₄.7H₂O (0,5g/l), ZnSO₄ (0,01g/l), FeSO₄ (0,01g/l), Ágar (15g/l). O substrato utilizado para cada enzima está especificado nos tópicos abaixo.

6.6.1 Celulases

Para a avaliação da produção de celulases, foi acrescido ao meio mínimo 1% de carboximetilcelulose (CMC), sendo que após 5 dias de desenvolvimento do fungo foi adicionado solução de vermelho-congo por 15 minutos e posteriormente foi removido com solução de NaCl 4N na placa, observando o halo formado ao redor da colônia.

6.6.2 Protease

A produção de enzimas proteases foi observada acrescentando 4% de gelatina no meio mínimo, sendo que após 5 dias de desenvolvimento do fungo foi adicionado solução saturada de (NH₄)₂SO₄ á placa, observando o halo formado ao redor da colônia.

6.6.3 Esterases

A produção de esterases foi adicionado ao meio mínimo depois de estéril, 1% de Tween 20 também estéril, sendo que após 5 dias de desenvolvimento do fungo as placas foram armazenadas por 48 horas á 4°C, observando após o halo formado ao redor da colônia.

6.7 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA

O isolado de *C. dematium* foi repicado para meio restritor, onde permaneceu por quinze dias. As placas contendo o fungo foram incubadas por 15 dias em câmara de crescimento à temperatura de 20°C ± 2 e fotoperíodo de 12 horas. Após quinze dias foram colocadas 100 sementes (desinfestadas com hipoclorito 1%) de cada

cultivar em cada placa de isolado, totalizando 200 sementes por cultivar. As sementes permaneceram em contato direto com os isolados por 5 dias, onde posteriormente foram retiradas, desinfestadas novamente em hipoclorito de sódio 1%, secadas em papel absorvente e plaqueadas em caixas Gerbox®. O tratamento controle consistiu em sementes depositadas sobre o meio BDA modificado osmoticamente sem o fungo.

Após sete dias de plaqueadas, 50 sementes de cada cultivar foram selecionadas e plantadas em copos descartáveis de 50ml com substrato comercial estéril. Os copos foram armazenados por 15 dias em sala de incubação.

Por fim, as sementes e plântulas foram retiradas dos substratos, lavadas em água corrente e colocadas para secar em papel absorvente. A avaliação se deu com base em escala de doença elaborada por Cardoso (2012), conforme Tabela 1.

Tabela 01. Escala de Grau de Lesão (Severidade) em plantas. Dois Vizinhos, 2018.

Escala	Grau de lesão (Severidade)
E1	Plantas sem sintomas
E2	Sintomas típico no coleótipo
E3	Sintomas no coleótipo e nas folhas
E4	Morte da plântula pós-emergência
E5	Morte da plântula pré-emergência

Fonte: Cardoso (2012).

6.8 POTENCIAL DE INÓCULO

O isolado de *C. dematium* foi repicado para meio restritor onde permaneceu por quinze dias. As placas contendo o fungo foram incubadas por 15 dias em câmara de crescimento à temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ e fotoperíodo de 12 horas. Após quinze dias foram colocadas 100 sementes (desinfestadas com hipoclorito 1%) de cada cultivar em cada placa de isolado, totalizando 200 sementes por cultivar. As sementes permaneceram em contato direto com os isolados por 5 dias, onde posteriormente foram retiradas, desinfestadas novamente em hipoclorito de sódio

1%, secadas em papel absorvente e plaqueadas em caixas Gerbox®. O tratamento controle consistiu em sementes depositadas sobre o meio BDA modificado osmoticamente sem o fungo.

Após quinze dias de inoculação as sementes foram avaliadas individualmente com o auxílio de microscópio estereoscópio, sendo quantificada a intensidade de colonização de *Colletotrichum dematium*, sobre as sementes. A escala utilizada foi proposta por Cardoso (2012) apresentada na Tabela 2 abaixo.

Tabela 02. Escala de avaliação de inóculo em sementes. Dois Vizinhos, 2018.

Notas da Escala	Potencial de inóculo
0	Ausência do patógeno
1	Baixa colonização, < 25% da semente;
2	Colonização moderada, 25 a 50% da semente
3	Alta colonização, de 50 a 90% da semente
4	Colonização total, 100% da semente

Fonte: Cardoso (2012).

6.9 VIRULÊNCIA DO PATÓGENO

O teste de virulência foi realizado com quatro cultivares de soja, 200 sementes de cada cultivar foram separadas e desinfestadas com hipoclorito de sódio 1% por 1 minuto e após lavadas com água destilada, as mesmas foram colocadas em papel absorvente para secagem.

Após desinfestação superficial, as sementes foram dispostas equidistantes em caixas Gerbox® e armazenadas em sala de incubação á 20°C e fotoperíodo de 12 horas por quinze dias. Após o período específico, selecionou-se 50 sementes de cada cultivar que estivessem livres de patógenos e com boas características germinativas.

As sementes selecionadas foram plantadas em copos descartáveis de 50 mL contendo substrato comercial estéril, e mantidas em câmara de incubação á 20°C e

fotoperíodo de 12 horas até que cada cultivar apresentar folhas em média maiores que 5 cm de comprimento. Entre os 10 e 15 dias de incubação, as plantas foram avaliadas a fim de eliminar plantas com qualquer sintoma, sendo que, em caso de apresentar sintomas as mesmas foram substituídas por plantas saudáveis.

Após as cultivares apresentarem as folhas, foram destacadas 40 folhas de cada cultivar para realização do teste. Destas, 20 folhas foram depositadas em caixas Gerbox® sobre folhas de papel filtro umedecidas com água destilada. Estas folhas foram inoculadas com solução de esporos. Os esporos utilizados foram obtidos de colônias puras de *C. dematium* após 15 dias de incubação, onde, concentração da suspensão foi calculada em câmara de Neubauer e ajustada para uma concentração de 10^5 conídios mL⁻¹. O tratamento controle foi submetido às mesmas condições de tratamento, porém utilizou-se somente água destilada autoclavada como produto de aspersão.

Todas as folhas, tratamento e controle, foram avaliadas inicialmente a cada duas horas, e após 72 horas, esse intervalo foi aumentado para cada 4 horas entre avaliações. As folhas foram avaliadas por 10 dias após inoculação, sendo observadas estruturas de sintomas da planta como lesões, manchas e clorose, bem como desenvolvimento do patógeno sobre as mesmas como micélio e acérvulos, a fim de avaliar o processo evolutivo da doença.

6.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental será inteiramente casualizado. Para cada metodologia, utilizou-se número de unidades experimentais diferentes. Quando necessário análise estatística, após análise de variância (ANOVA) as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas no programa estatístico SASM-Agri®.

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 TESTE DE SANIDADE DE SEMENTES

A cultivar NS6909IPRO apresentou a incidência dos gêneros fúngicos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Cercospora* sp., *Phomopsis* sp. e *Alternaria* sp.. Destes apenas *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp. são gêneros contaminantes, os demais são fungos fitopatogênicos. Estes resultados concordam com Goulart et al., 1995, na qual afirma que os fungos de maior ocorrência na cultura da soja no Brasil são *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Cercospora* sp., *Fusarium* sp., e os fungos de armazenamento, *Aspergillus* sp., e *Penicillium* sp..

A análise de sanidade de sementes possui grande importância, pois propicia informações sobre os níveis de incidência do patógeno, que servirão como orientação na tomada de decisão sobre métodos de controle, quando os lotes de sementes chegam ao campo (REY et al, 2009). A semente de soja atribui-se na disseminação e transmissão de inúmeros microorganismos fitopatogênicos, sendo os fungos os de maior ocorrência (SINCVAIN & NEERGRAAD, apud GOULART, 1991).

Na Tabela 3 abaixo pode-se observar os fungos de ocorrência nas sementes de soja das quatro cultivares estudadas, após o processo de teste de sanidade de sementes.

Tabela 03. Relação de fungos fitopatogênicos presentes nas sementes das cultivares citadas, através do teste de sanidade de sementes. Dois Vizinhos, 2018.

Fungos	Cultivares			
	NS6909IPRO	TMG7062	NA5909RG	P955R51
<i>Fusarium</i> sp.	17,75 a	15,75 a	12,25 a	17,62 a
<i>Penicillium</i> sp.	0a	0,5 a	5,0 a	0a
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0,125 a	0,375 a	0,25 a	0a
<i>Colletotrichum</i> sp.	0,12 a	0,37 a	0,62 a	0a
<i>Cladosporium</i> sp.	0,37 b	0,25 b	21,37 a	0 b
<i>Trichoderma</i> sp.	0a	0a	0,5 a	0a
<i>Aspergillus</i> sp.	3,37 b	2,5 b	8,5 a	6,62 a

<i>Cercospora</i> sp.	0,75 b	0,75 b	0 b	11,37 a
<i>Macrophomina</i> sp.	0b	0b	0b	1 ^a
<i>Phomopsis</i> sp.	0,37 a	0,12 a	0a	0a
<i>Alternaria</i> sp.	3,5 a	0,75 a	0a	0a
<i>Rhizopus</i> sp.	0a	0,5 ^a	0a	0a
<i>Chaetomium</i> sp.	0a	0,12 a	0a	0a

Percentagem de incidência seguidas de letras minúsculas na linha diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Todas as medias foram transformadas ($Vx+k$ [k=1])

A cultivar TMG7062, apresentou a incidência dos mesmos gêneros fúngicos da cultivar NS6909IPRO, com destaque para o gênero fúngico *Fusarium* sp., porem apresentou também a incidência do gênero fúngico *Penicilium* sp., *Rhizopus* sp., e *Chaetomium* sp..

Hamawaki et al. (2001), também verificou a incidência de gêneros fúngicos em em diferentes genótipos de soja, observando também que *Fusarium* sp., foi o gênero mais incidente em todos os genótipos, os que apresentaram maior incidência foram FT-20 com 35,17%, FT-2002 com 29,69% e FT-2003 com 29,64%. O mesmo autor, avaliou a qualidade fisiológica e sanitária de diferentes genótipos de soja, e constatou que o genótipo CSP-2 apresentou a maior incidência de *C. dematium* com (3,10%).

A cultivar NA5909RG apresentou os mesmos gêneros fúngicos das demais, exceto os contaminantes *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp., e diferentemente das demais demonstrou a incidência de *Trichoderma* sp..

Pereira (2008), realizou teste de sanidade de sementes, em sementes das cultivares Embrapa 48 e Emgopa 313 antes de conduzir o experimento à campo, realizado para a verificação da qualidade sanitária das sementes utilizadas, encontrou a incidência de gêneros fúngicos como *Fusarium* sp., *Penicilium* sp., *Rizophus* sp., *Trichoderma* sp., nas duas cultivares testadas.

A cultivar P95R51 exibiu os gêneros fúngicos *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Cercospora* sp., e *Macrophomina* sp.. Se destacando como a cultivar com menores índices de gêneros fúngicos.

Em experimento semelhante, Bringel et al. (2001) pode concluir a cultivar BRSMA Juçara apresentou as maiores porcentagens de incidência dos fungos *Cercospora kikuchii* e *Fusarium* spp. (26% e 42%, respectivamente).

Em avaliação da qualidade sanitária de sementes de soja, Minuzzi et al., (2009), também observou que os principais gêneros de patógenos presentes nas sementes foram: *Aspergillus* spp., *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum dematium*, *Fusarium semitectum* e *Phomopsis* spp..

O gênero *Fusarium* sp., foi o que mais apresentou incidência nos lotes de sementes estudados, estando presente em 17,75% no lote da cultivar NS6909IPRO, 15,75% para a cultivar TMG7062, 12,25 para a cultivar NA5909RG e 17,62 para a cultivar P95R51.

Pereira et al., (2003), avaliou a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de sete cultivares precoces de soja (EMGOPA 304, EMGOPA 309, EMGOPA 316, EMBRAPA 1, EMBRAPA 4, Rainha e Itiquira), produzidas em três épocas de semeadura (convencional, em 20/11; antecipada, em 30/10; e retardada, em 30/12/1995), e obteve alta incidência de *Fusarium* spp, porém maior incidência de *Phomopsis* spp em todas as cultivares avaliadas, os efeitos de ambos os patógenos podem somar-se na deterioração das sementes, diminuindo sua qualidade fisiológica e sanitária.

Os gêneros fúngicos identificados através do teste de sanidade de sementes nas quatro cultivares estudadas foram semelhantes aos identificados por De Souza (2011), que ao realizar análise sanitária em sementes de soja, identificou cinco gêneros de fungos com as seguintes incidências: *Aspergillus* sp. 8,53% (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*), *Rizopus* sp. 8,53%, *Colletotrichum truncatum* 23,64%, *Fusarium semitectum* 25,58%, *Penicillium* sp. 33,72%.

7.2 CARACTERIZAÇÃO DO PATÓGENO

7.2.1 Caracterização microscópica

As colônias apresentavam inúmeros acérvulos superficiais, os conídios (Figura 2A) são unicelulares, hialinos e falciformes, medindo entre 19,30 a 26,40 x 2 a 4 µm.

Os microconídios (Figura 2B) por sua vez são septados, hialinos e ovalados, medindo entre 7,4 a 9,3 x 2 a 4 μm .

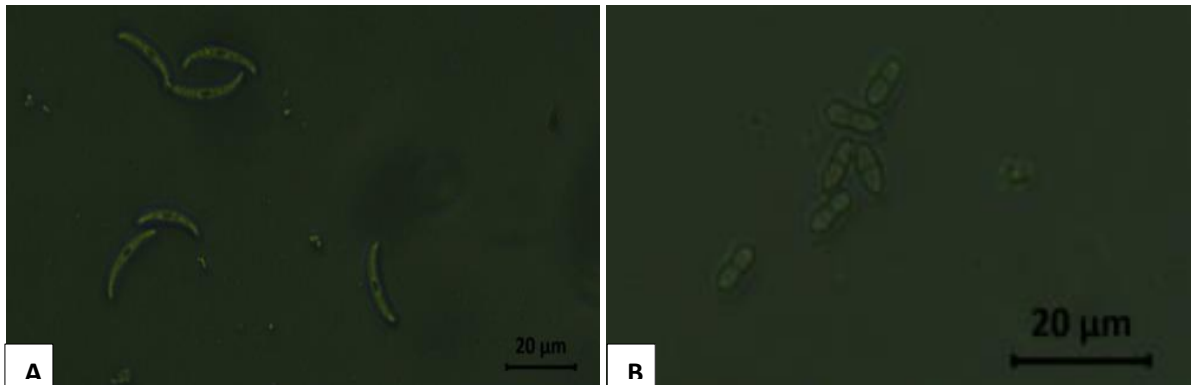


Figura 02. Caracterização microscópica de conídios (A) e Microconídios (B) de *C. dematium*

Fonte. A autora (2018).

Os dados relatados acima, também foram descritos por Goulart (2009), os conídios do fungo são hialinos, unicelulares, curvos, medindo 17-31 x 3-4,5 micra e os conídios geralmente produzem tubos germinativos curtos.

Manandhar & Hartman (1999), também descreveu a caracterização de *C. dematium*, As características reatadas pelo autor e as descritas no trabalho se coincidem.

Conforme descrito no Manual de análise sanitária 2009, *C. dematium* apresenta micélio acinzentado de formação irregular de corpos estromáticos (primórdios de escleródios), acérvulos se apresentam com forma oval e alongada, com setas marrons escuras e ocasionalmente massas de conídios de coloração bege a roséas, conídios são falcatos, com ápices obtusos, hialinos, unicelulares e curvos (alantóides)., com conidióforos que estão no interior dos acérvulos, com tamanho variando entre 15,5-24 x 3,5-4 μm .

7.2.2 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica foi realizada em duas etapas, a avaliação da forma, elevação e margem da colônia foi realizada aos 7 dias após repicagem do

isolado, enquanto a coloração da mesma foi realizada após 15 dias. Para a caracterização morfológica, o isolado foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA.

O isolado de *C. dematium* apresenta margem filamentosa (Figura 3A), forma circular da colônia (Figura 3B), elevação plana (Figura 3C) e A coloração da colônia foi classificada como 5Y4/2 cinza oliva escuro (dark olive gray) (Figura 3D).

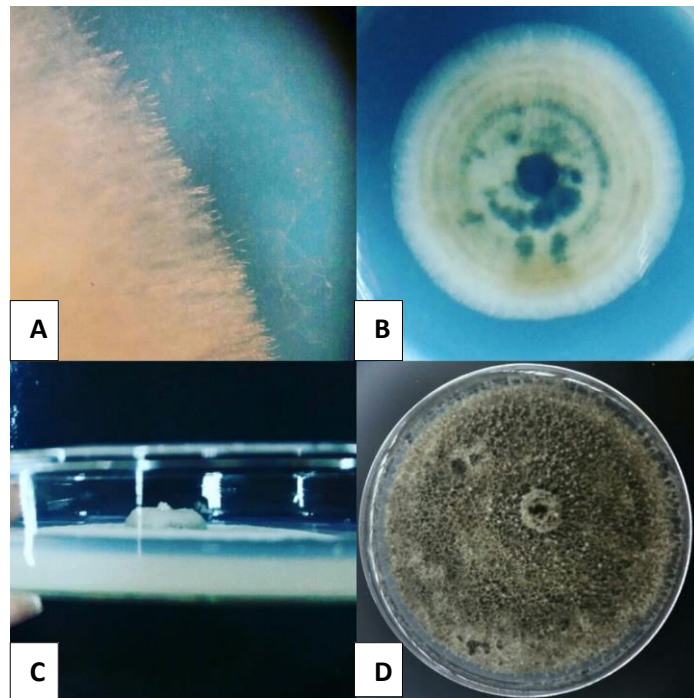


Figura 03. Caracterização morfológica de *C. dematium*. A. Margem filamentosa. B. Colônia circular. C. Elevação plana. D. Coloração da colônia

Fonte: A autora (2018).

7.2.3 Crescimento micelial

A taxa de crescimento micelial foi avaliada em intervalos de vinte e quatro horas, por um período de dez dias, pela medição do diâmetro da colônia em dois sentidos opostos de cada placa de Petri®, e através dos valores diários em milímetros de crescimento do fungo, realizou-se o cálculo da média de crescimento micelial e o índice de velocidade de crescimento micelial por placa.

Na tabela 04, pode-se observar os dois meios de cultura utilizados, o meio de cultura BDA demonstrou um crescimento micelial superior ao meio Mathur para *C.*

dematium. As placas cultivadas em meio de cultura Mathur obtiveram crescimento mais lento que as de meio de cultura BDA, discordando das informações literárias.

Já as placas cultivadas em meio BDA, obtiveram maiores taxas de crescimento micelial de *C. dematium*, e não sofreram influência de contaminações nos dez dias de avaliação. As placas com meio de cultura BDA, tiveram fechamento completo de todas as placas no nono dia de crescimento micelial e as placas com meio de cultura Mathur tiveram fechamento completo de todas as placas no décimo dia de avaliação.

Tabela 04. Avaliação do crescimento micelial de *C. dematium* em diferentes meios de cultura. Dois Vizinhos, 2018.

Tratamentos	MCM	IVCM
Meio de Cultura B.D.A.	7.95 a	0.074
Meio de Cultura Mathur	6.96 b	0.027

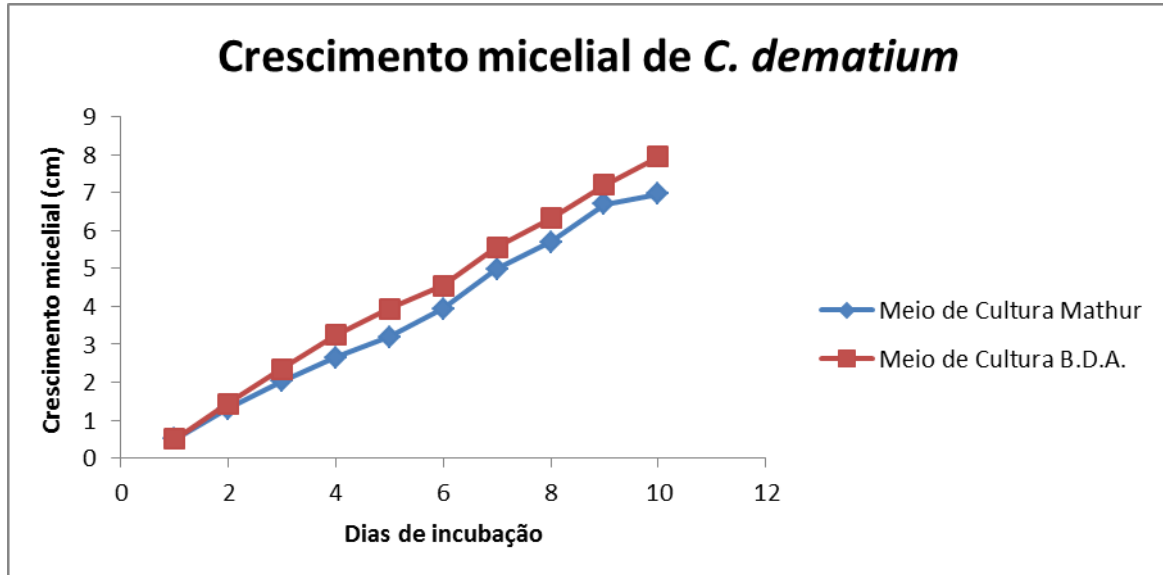


Figura 4. Avaliação do crescimento micelial de *C. dematium* em dez dias de incubação. Dois Vizinhos, 2018.

De acordo com a Figura 4, os meios de culturas utilizados possuíram médias diferentes, destacando o meio de cultura BDA para o crescimento micelial de *C. dematium*, demonstrando estatisticamente que os dois tratamentos diferiram entre si.

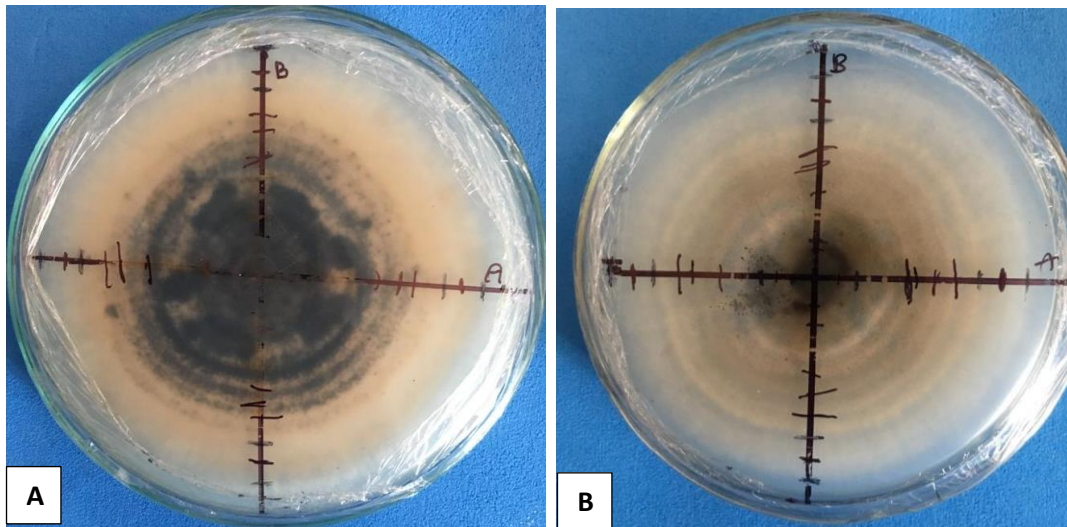


Figura 4. Placa de Petri® com meio de cultura, com crescimento micelial de *C. dematium* com dez dias de incubação. A: Meio de Cultura BDA. B: Meio de Cultura Mathur

Fonte: A autora (2018).

7.3 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES

O fungo *C. dematium* foi avaliado quanto á capacidade do mesmo produzir enzimas extracelulares, sendo observada a formação de halo para essa avaliação. Os resultados das avaliações da produção de enzimas extracelulares celulase, protease e esterases estão apresentados na tabela 05 abaixo.

Tabela 05. Avaliação de produção de enzimas extracelulares. Dois Vizinhos, 2018.

Enzima Avaliada	Média Crescimento Micelial	Média formação de Halo	Relação H/C	Média H/C
Proteases	24,33	35,25	1,45	1,45 a
	24,30	35,80	1,47	

	24,35	34,70	1,43	
Celulases	24,25	26,75	1,10	
	25,00	26,90	1,08	1,11 b
	32,12	36,70	1,14	
Esterases	28,52	31,27	1,10	
	29,02	32,35	1,11	1,10 b
	28,02	30,20	1,08	

Média da relação H/C seguidas de letras minúsculas na coluna diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os resultados apontam que o patógeno *C. dematium* apresenta produção das três enzimas, sendo sua maior produção da enzima protease quando comparado com as outras enzimas avaliadas. Já as enzimas celulase e esterase não se diferenciaram estatisticamente entre si. A formação de halo pode ser observada na figura 05 abaixo.

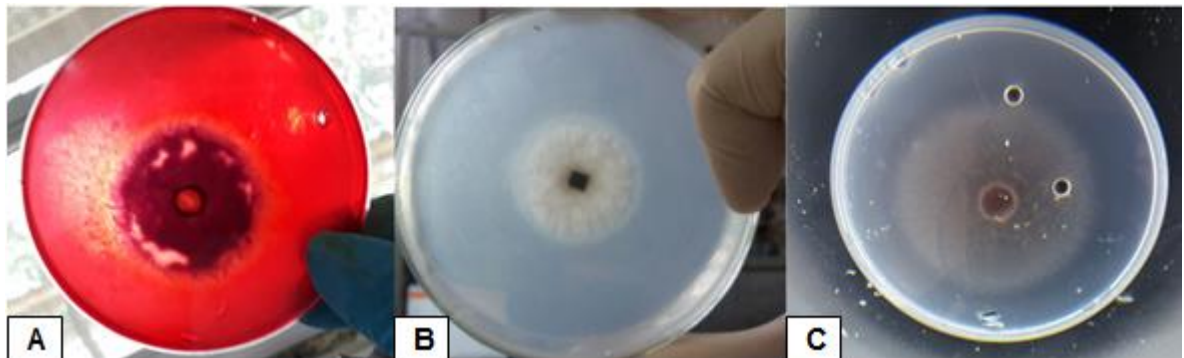


Figura 05. Formação de halo enzimático do patógeno *C. dematium*. A: Celulases; B: Esterases; C: Proteases.

Fonte: A autora (2018).

A formação do halo nas placas da figura 05, destaca a enzima protease com a formação de halo de degradação superior as demais enzimas testadas.

As atividades enzimáticas de fungos fitopatogênicos têm sido bastante utilizadas para caracterização de variabilidade fisiológica dos isolados, uma vez que sua atividade patogênica está diretamente relacionada à capacidade de produção de enzimas degradadoras da parede celular vegetal (HANCOCK & MILLAR, 1995).

Poloni (2008) destaca que a enzima celulase desempenha importante papel na patogenicidade de fungos, sendo a celulose o principal constituinte da parede celular vegetal. A enzima esterase por sua vez se encontra em um conjunto de enzimas que utilizam diversos substratos, normalmente de origem externa que respondem diretamente á diversidade ambiental (GILLESPIE & LANGLEY, 1974).

Pascholati *et al.* (1992), também observou a ultraestrutura da interação patógeno/hospedeiro, conferiram a existência de esterase junto aos esporos de *Erysiphe graminis* D.C. f.sp. *hordei* Marchal, durante a penetração destes nas células hospedeiras.

Poloni (2008), em estudo com diferentes isolados de *Bipolaris sorokiniana*, afirmar, que os isolados analisados demonstraram atividade enzimática maior para esterases do que para as outras enzimas testadas. Isto deu-se importância, pela significativa influência de tais enzimas na fase que deu início a tal processo de aderência e invasão do tecido vegetal por fungos fitopatogênicos. Considerando-se as respostas para todas as enzimas testadas, apenas as enzimas amilases e celulases foram produzidas por todos os isolados.

Citada também por Bastos (2005), a produção de enzimas proteases foi detectada para todos os isolados do fungo *Crinipellis perniciososa*. Poloni (2008), ainda demonstra que as enzimas esterases apresentaram os mais altos índices de H/C, que foram de 2,95 para o isolado 98017. Lealem & Gashe (1994), valores de índice de atividade enzimática mais indicados são maior/igual a 2,0 para certificar a habilidade de um microrganismo em degradar substratos em meio sólido.

Lima Filho *et al.*, (2003), também avaliou a capacidade de diferentes isolados de *Colletotrichum* sp., em produzir enzimas extracelulares, todos os isolados mostram-se capazes de produzir as enzimas amilase, celulase, lipase e protease, constatadas através do halo de degradação produzido em meio de cultura específico, a enzima protease se destacou evidentemente durante a degradação do meio específico, todos os isolados testados mostraram capacidade em produzi-la, com destaque para o isolado BAN (10,24 mm) que causou o maior halo de degradação, diferindo dos demais isolados CAJ, MG, MM e MR.

Bueno *et al.*, (2009), avaliou diferentes isolados de *Fusarium solani*, de maracujazeiro amarelo, e verificou que todos os isolados produzem as enzimas

extracelulares amilase, lipase, celulase, proteases. Entretanto, a quantidade de cada enzima produzida, diferenciaram-se entre os isolados.

7.4 TRANSMISSÃO SEMENTE-PLÂNTULA

Para as quatro cultivares estudadas, observou-se que todas apresentaram morte pré-emergente (E5) das sementes devido à incidência do patógeno nas mesmas. Nenhuma das sementes apresentou germinação durante o período avaliado, o que comprova que o patógeno foi transmitido em todas plântulas de soja das cultivares avaliadas.

Na inoculação das sementes, o fungo permaneceu em contato com a semente por cinco dias, tempo o suficiente para a infecção do patógeno, causando morte pré emergente de todas as sementes.

A morte pré-emergente de sementes é ocorrente devido á capacidade que o patógeno apresenta em colonizar tecidos mais sensíveis durante o processo de germinação, causando a morte da plântula antes da mesma atingir a superfície do solo, pois ocorre uma competição entre o patógeno em desenvolvimento e a semente em germinação (SULTANA; RASHID, 2012).

Segundo Henning & França-Neto (1980), analisando a viabilidade de sementes de soja com elevada incidência de *Phomopsis* sp., através da germinação em laboratório, concluíram que a presença do fungo no tegumento das sementes foi relevante, pois afetou negativamente os índices de germinação das sementes de soja., Os mesmos autores também testaram a germinação em sementes com alta incidência de *Fusarium* sp., houve a morte das sementes mesmo antes da emissão da radícula.

A morte pré emergência de todas as sementes das quatro cultivares, deve-se ao tempo de inoculação ou seja, o tempo em que as sementes ficaram em contato com o patógeno, foi eficiente a infecção pelo mesmo, demonstrando a agressividade do fungo sobre as sementes.

Galli, et al., (2005), também afirma que para fungos muito agressivos como *C. dematium* na inoculação de sementes de soja, não há necessidade de períodos maiores que 48h, que é o menor tempo utilizado, pois o fungo possui agressividade

de infecção e neste tempo obteve-se quase 100% de infecção do mesmo na semente.

Machado et al., (2008), Araújo et al., (2006) ao estudarem a infecção de sementes de soja por *A. ochraceus*, afirmam que é possível obter variados níveis de inóculo do patógeno nas sementes e conseqüentemente níveis de infecção, que podem retardar ou inibir a germinação das sementes.

7.4.1 Potencial de inóculo

Os resultados obtidos das avaliações de potencial de inóculo para as quatro cultivares estudadas, podem ser observadas na tabela 06. As sementes foram divididas em quatro níveis de potencial de inóculo como nível 1: 0-25%, nível 2: 25,1%-50%, nível 3: 50,1%-75%, nível 4: 75,1%-100%, conforme metodologia proposta por Hernandez (2016).

Tabela 06: Diferentes potenciais de inóculo de *C. dematium* em sementes de quatro cultivares de soja. Dois Vizinhos, 2018.

Cultivares	0-25%	25,1 - 50%	50,1 - 75%	75,1 - 100%
NS6909IPRO	2	6	24,5	67,5
TMG7062	3	7	2	88
NA5909RG	8	23	10	59
P95R51	4,5	11	15,5	69

Média da relação H/C seguidas de letras minúsculas na coluna diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A maior percentagem de inóculo ocorreu no nível 4, com sementes colonizadas entre 75,1 e 100% da superfície das mesmas para todas as cultivares.

A cultivar NS6909IPRO apresentou a maioria das sementes com mais de 50% de inoculação, apresentando um quadro crescente de quantidade de sementes com altos potenciais de inóculo por escala avaliada conforme aumentou-se o índice.

A cultivar TMG7062, também apresentou maior porcentagem de inóculo no nível 4, com sementes colonizadas entre 75,1 e 100%, sendo a cultivar que expressou maior potencial de inóculo de *C. dematium* nas sementes, durante o mesmo tempo de inoculação.

Para a cultivar NA5909RG, houve destaque nos níveis 1 e 2, se sobressaindo nestes níveis, diferenciando-se das demais cultivares. Por fim, a cultivar P95R51, se destacou no potencial de inóculo nível 1, se diferenciando de todas as outras.

Todas as cultivares se diferenciaram entre si, demonstrando através dos diferentes níveis de potencial de inóculo que as cultivares TMG7062 e P95R51, possuíam maior porcentagens de sementes no nível 4, confirmando que as mesmas possuem maior suscetibilidade à infecção por *C. dematium*. Segundo Hernández (2016), o potencial de inóculo de um patógeno sobre a semente influencia diretamente na transmissão semente-plântula e na severidade dos danos ocasionados na semente e na plântula.

Deste modo, a definição do potencial de inóculo na superfície da semente é um fator a ser considerado no decorrer de uma análise sanitária, pois pode indicar o potencial de infecção do patógeno em determinado lote de semente, indicando também a condição sanitária do mesmo, servindo de informação para cada tomada de decisão no controle de patógenos em sementes.



Figura 06: Diferentes níveis de potencial de inóculo em sementes da cultivar P95R51, da direita para a esquerda demonstrando os quatro níveis: nível 1: 0-25%, nível 2: 25,1%-50%, nível 3: 50,1%-75%, nível 4: 75,1%-100%.

Fonte: A autora (2018).

É provável que as cultivares TMG7062 e P95R51, se fossem inseridas a campos, com estes potenciais de inóculo, mostrariam altos níveis de incidência da doença. De acordo com Dhingra (2005), quanto mais severa a infecção pelo patógeno na semente, nos tecidos mais profundos, as chances de ser produzida uma plântula infectada aumentam, por fim, em condições ambientais favoráveis ao patógeno, o inóculo externo pode ser transmitido.

Da Silva Rocha (2014), estudou danos causados por diferentes potenciais de inóculo de *A. ochraceus*, em sementes de soja, e observou que houve redução drástica no vigor das sementes com o aumento do nível de inóculo sobre a superfície das mesmas., em um nível de 50% de inóculo houve redução de 80% na germinação e emergência de plântulas, influenciando diretamente no vigor das sementes, e com níveis acima de 50% de inóculo houve destruição dos tecidos e perda da qualidade e viabilidade das mesma.

7.5 VIRULÊNCIA DO PATÓGENO

A virulência do patógeno foi avaliada de acordo com a sintomatologia da doença em folhas destacadas das cultivares de soja descritas na tabela 07, os sintomas estão divididos na tabela como lesão, mancha, clorose e acérvulos, demonstrando a agressividade do patógeno através da quantificação de sintomas.

Tabela 07: Virulência de *C. dematium*, através da quantificação de lesões, manchas, clorose e acérvulos nas cultivares estudadas. Dois Vizinhos, 2018.

	Dias de Inoculação	NS6909IPRO	TMG7062	NA5909RG	P95R51
Lesão	1	0.00 f	0.00 d	0.95 e	1.30 i
	2	0.00 f	0.00 d	1.57 d	1.30 i
	3	0.00 f	0.00 d	4.15 c	7.35 h
	4	0.00 f	0.00 d	6.25 b	7.98 g
	5	0.00 f	0.00 d	6.25 b	19.85 f
	6	2.80 e	6.65 c	6.30 b	39.50 e
	7	3.06 d	12.45 b	11.00 a	45.20 d
	8	4.10 c	13.50 b	11.00 a	45.60 c
	9	5.80 b	19.23 a	11.00 a	49.60 b
	10	6.45 a	20.77 a	11.00 a	51.85 a
Mancha	1	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.36 i
	2	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.40 h
	3	0.00 c	0.00 f	0.00 c	1.05 g
	4	0.00 c	0.00 f	0.00 c	1.05 g
	5	0.00 c	0.00 f	0.55 b	13.95 f
	6	0.00 c	0.72 e	0.55 b	24.55 e
	7	0.00 c	2.22 d	1.55 a	25.25 d
	8	0.00 c	2.96 c	1.55 a	30.20 c
	9	1.42 b	3.80 b	1.55 a	49.60 b
	10	2.20 a	4.20 a	1.55 a	51.85 a
Clorose	1	0.00 c	0.00 d	0.00 e	0.00 d
	2	0.00 c	0.00 d	0.00 e	0.00 d
	3	0.00 c	0.05 c	0.00 e	0,10 c
	4	0.00 c	0.05 c	0.00 e	0.30 b
	5	0.00 c	0.05 c	0.10 d	0.30 b
	6	0.00 c	0.05 c	0.10 d	0.30 b
	7	0.00 c	0.05 c	0.30 c	0.40 a
	8	0.00 c	0.15 c	0.60 b	0.40 a
	9	0.40 b	0.35 c	1.00 a	0.40 a
	10	0.70 a	0.90 c	1.00 a	0.40 a

Acérvulo	1	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.00 g
	2	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.00 g
	3	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.00 g
	4	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.00 g
	5	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.10 f
	6	0.00 b	0.00 c	0.00 a	0.50 e
	7	0.00 b	0.00 c	0.00 a	1.00 d
	8	0.00 b	0.00 c	0.00 a	2.25 c
	9	0.00 b	4.28 b	0.00 a	4.15 b
	10	44.6 a	65.39 a	0.00 a	24.00 a

Média da relação H/C seguidas de letras minúsculas na coluna diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Com base nos dados obtidos através das médias citados na tabela, observa-se que houve diferença de suscetibilidade entre as cultivares, através da severidade dos sintomas como: lesões, manchas, cloroses e acérvulos, nas cultivares NA5909RG e P95R51 as lesões iniciaram-se desde o primeiro dia após a inoculação, evoluindo para manchas no quinto e sexto dia, com maior severidade para a cultivar P95R51 demonstrando maior incidência de manchas a partir do quarto dia após inoculação, o que demonstra que as mesmas possuem maior suscetibilidade a doença.

A cultivar P95R51 apresentou uma média superior as demais em relação a incidência de lesões que tiveram início desde os primeiros dias de avaliação. As cultivares NA5909RG e P95R51 se mostraram muito mais suscetíveis que as demais. Sendo que a NA5909RG, apresentou alta incidência de lesões, clorose e não apresentou a incidência de acérvulos.

A tabela 07, nos mostra que nas cultivares NS6909IPRO e TMG7062, os sintomas iniciaram-se no quinto dia após a inoculação, com lesões pequenas. Visto que, somente no sexto dia iniciaram -se as lesões em maior quantidade na cultivar TMG7062, evoluindo para manchas e baixa incidência de cloroses, demonstrando que ambas possuem maior resistência ao ataque do patógeno, pois a doença se expressou com maior severidade a partir do quinto dia após a inoculação, as cultivares apresentaram maior capacidade de suportar a infecção a doença.

Com alta incidência de acérvulos, pelas cultivares NS6909IPRO e TMG7062 podemos observar que para o patógeno aderir sua patogenicidade através da severidade de sintomas, houve a necessidade de produzir maiores quantidades de acérvulos que são as frutificações do fungo, onde o mesmo produz e libera maiores quantidades de conídios, para dar início à novas infecções, aumentando sua severidade sobre o hospedeiro.

Na cultivar NS6909IPRO, as lesões apresentaram-se com menor intensidade em relação a todas as cultivares estudadas, porém houve alta incidência de acérvulos nos últimos dias após a inoculação, diferentemente da cultivar NA5909RG que não demonstrou a incidência de acérvulos de *C. dematium*. Estes resultados demonstram a resistência da cultivar NS6909IPRO à infecção pelo patógeno.

Medeiros et al., (2008), afirma que patógenos do gênero *Colletotrichum* sp., são capazes de acometer seus hospedeiros com diferentes níveis de intensidade. Como decorrência dessa variabilidade específica das espécies do gênero *Colletotrichum* sp., supõe-se que provavelmente existam reações distintas de resistência ou suscetibilidade das cultivares diante do patógeno.

Nas figuras abaixo, pode-se observar os sintomas ocorridos em cada cultivar ao longo dos dias de avaliação após a inoculação das mesmas com *C. dematium*, de acordo com a severidade dos sintomas da doença nas folhas destacadas. Mesmo nas cultivares que se destacaram suscetíveis para a produção de os sintomas iniciaram a partir do quinto dia de avaliação após a inoculação, e formando manchas, cloroses e grande produção de acérvulos.

Já nas outras cultivares, os sintomas manifestaram-se mais cedo, com lesões pequenas, não houve tanta severidade do patógeno até o fim das avaliações, por conta da resistência das cultivares, neste tempo de infecção da doença. As manchas e cloroses apresentaram-se com intensidade em cultivares suscetíveis desde a primeira semana de avaliação após a inoculação do patógeno, as manchas ocasionaram lesões grandes e deram início às cloroses em toda a folha.

As condições de aclimação das cultivares, contribuíram para a produção de sintomas, algumas podem ter diferido em relação a isso também, necessitando de mais ou menos umidade, temperatura, luz e molhamento foliar, apesar que todas as cultivares receberam as mesmas condições controladas de temperaturas, umidade e luz.

Na figura abaixo, podemos observar os diferentes sintomas de *C. dematium* nas folhas de cada cultivar estudada, o patógeno atuou de forma distinta em cada uma delas, demonstrando sua severidade através dos sintomas diagnosticados.

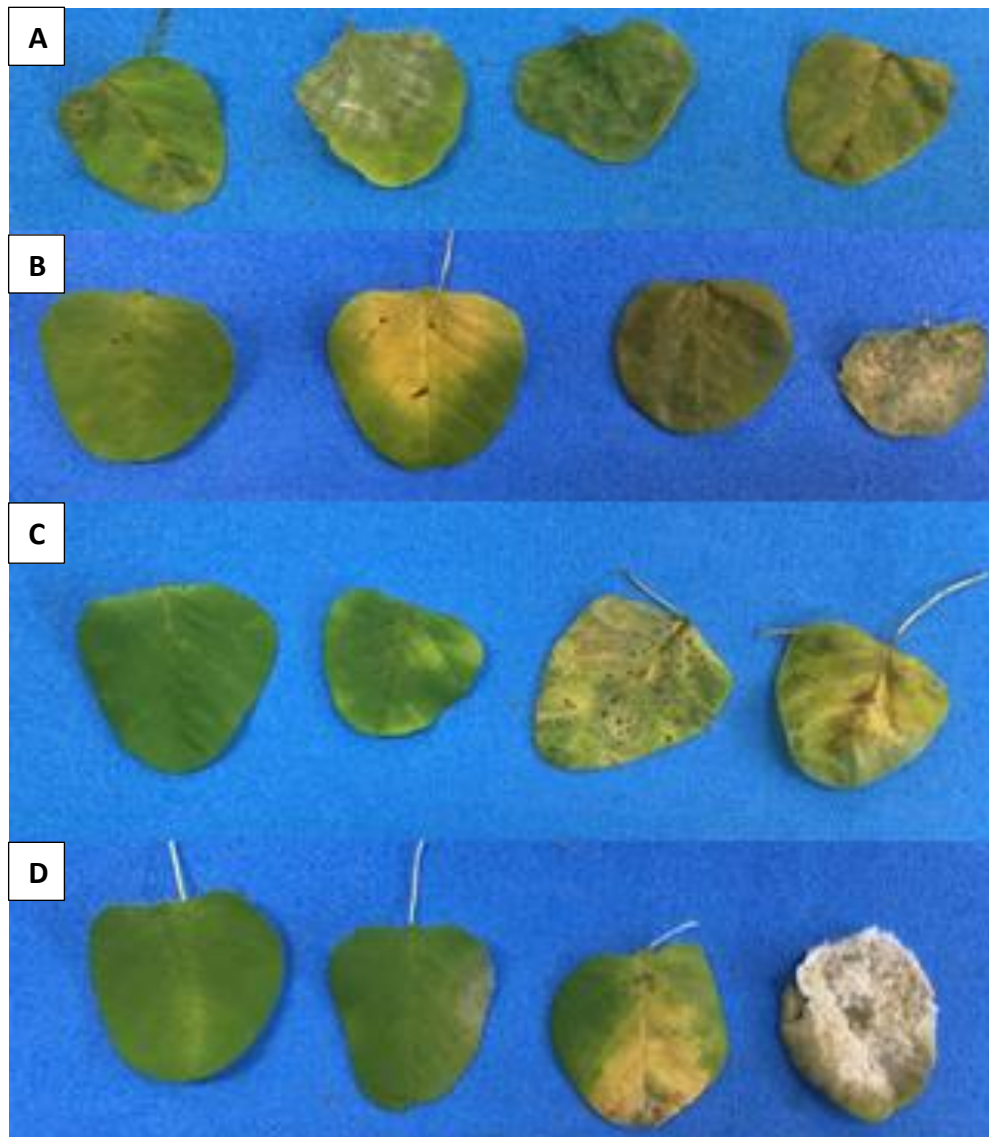


Figura 7. Avanço da doença nas folhas de soja. A. Cultivar NS6909IPRO. B, Cultivar TMG7062; C. Cultivar NA5909RG; D.Cultivar P95R51.

Fonte: A autora (2018).

As cultivares demonstraram diferentes tipos de resistência ao patógeno, pois se diferiram em relação a incidência dos sintomas, evidenciando que as mesmas possuem diferentes mecanismos de defesa pelo patógeno *C. dematium*, porém todas as cultivares se mostraram de alguma forma suscetíveis ao patógeno.

Em estudo com o maracujazeiro amarelo, Martins et al. (2008), verificou a reação de genótipos ao *Colletotrichum gloeosporioides*, não encontrando genótipos resistentes, mesmo que a comparação das mesmas tenha revelado diferenças significativas, pois pode ter ocorrido diferentes mecanismos de defesa presentes no hospedeiro, porém todas apresentaram-se suscetíveis à Antracnose.

A cultivar TMG7062, demonstrou baixa incidência de cloroses, porém as cloroses ocorreram de forma rápida e homogênea nas folhas, evoluindo rapidamente, contribuindo com a formação de acérvulos posteriormente, o que expressa que a mesma se mostra resistente à *C. dematium*.

As cultivares NA5909RG e P95R51 se mostraram muito mais suscetíveis que as demais. Sendo que a NA5909RG, apresentou alta incidência de lesões, clorose e não apresentou a incidência de acérvulos, no décimo dia após a inoculação as folhas se mostraram com alta incidência de lesões e clorose, tornando-se totalmente destruídas.

A cultivar P95R51 apresentou uma média superior as demais em relação a incidência de lesões, ao final das avaliações nos últimos dias após a inoculação, as folhas demonstraram-se destruídas pela alta incidência de micélio nas mesmas.

De acordo com Munch et al., (2008), o aparecimento dos sintomas da doença, denotam do tempo e do comportamento hemibiotrófico do gênero *Colletotrichum* sp., da resistência ou suscetibilidade do hospedeiro e da virulência do patógeno (CHONGO et al., 2002).

Nechet et al., (2004), avaliou diferentes genótipos de soja em relação à *C. truncatum*, em condições ambientais de Roraima, e pôde observar que os genótipos Tracajá, Pati e UFV-9 apresentaram menor quantidade de vagens com antracnose, enquanto os genótipos IAC-8 e IAC 8-2 apresentaram 29 e 26% de vagens com o aparecimento de sintomas, respectivamente.

Singh et al., (2001); Chongo & Bernier, (2000). Ghawde et al. (1996), testaram diferentes cultivares de soja, na identificação de genótipos resistentes a *C. truncatum*, e puderam constatar a ocorrência de cultivares com altos graus de resistência onde, mesmo em condições que favoreciam o desenvolvimento do patógeno 37% das cultivares se mostraram resistentes e 57% meramente resistentes.

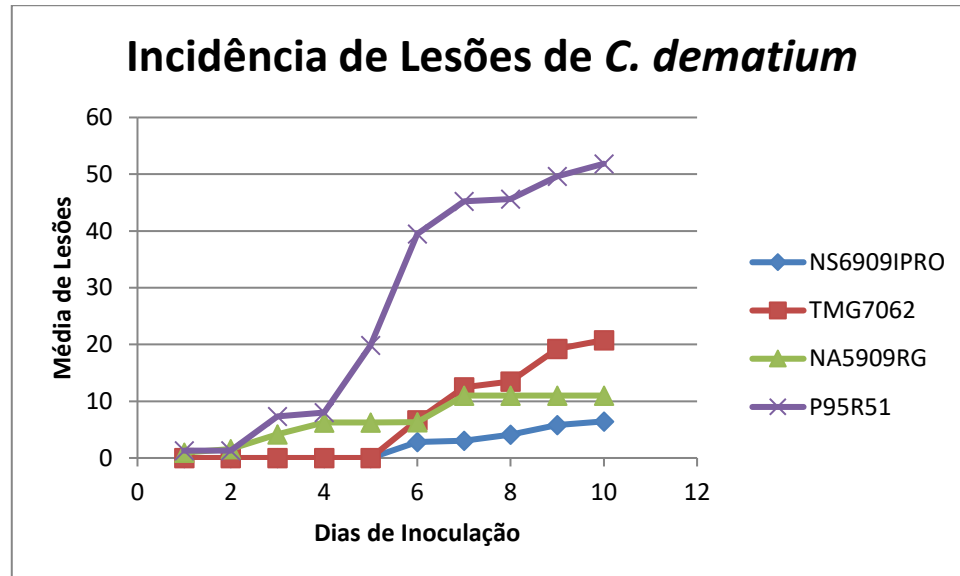


Figura 08. Incidência de lesões de *C. dematium*, durante dez dias de avaliações nas quatro cultivares estudadas.

Fonte: A autora (2018).

Conforme o exposto pela Figura 08, a cultivar que mais se destacou em relação a incidência de lesões de *C. dematium* foi a P95R51, já dando início aos sintomas de lesão, a partir do primeiro dia de avaliação após a inoculação, até o décimo dia, o que caracteriza a cultivar como suscetível ao patógeno.

Chongo et al., (2002), estudou cultivares suscetíveis de lentilha, (*Lens culinaris*) ao fungo *C. truncatum*, e constatou que o aparecimento de lesões variou de 72 a 144 horas e de até 14 dias após a inoculação, em cultivares resistentes.

A incidência de lesões ataca a área foliar fotossintética da planta, diminuindo a realização da fotossíntese, e conseqüentemente a produtividade da cultura. Em cultivares suscetíveis as lesões além de iniciarem logo após a inoculação, avançam rapidamente, tomando conta de toda área foliar fotossintética caso que ocorre, diminuindo a capacidade da planta em se desenvolver e progredir.

Carvalho (2009), verificou a patogenicidade de *Colletotrichum truncatum* em genótipos de feijão-fava, também utilizando a metodologia de folhas destacadas, observou que os primeiros sintomas apareceram em três dias após a inoculação para todos os genótipos, não apresentando diferenças significativas do nível de infecção

aos cinco dias após a inoculação e aos sete, demonstrando suscetibilidade ao patógeno em estudo.

A cultivar NA5909IPRO também se destacou pela suscetibilidade de apresentar lesões já no primeiro dia após a inoculação, em contra partida, as demais cultivares TMG7062 e NS5909RG iniciaram os sintomas de lesões somente a partir do quinto dia de avaliação após a inoculação, porém a cultivar TMG7062 teve destaque na incidência de lesões em relação à cultivar NS5909RG, a partir do quinto dia de avaliação os sintomas iniciaram-se com maior incidência e severidade na cultivar TMG7062.

Munch et al., (2008), também avaliou a incidência de lesões e sintomas de *Colletotrichum* sp., e ressalta que a fase necrótica inicia entre 48 a 72 horas após a inoculação dependendo do hospedeiro e das condições ambientais, principalmente umidade e molhamento foliar. Reforça-se que as condições oferecidas ao patógeno influenciam diretamente na quantificação da sintomatologia.

Medeiros, (2004), Medeiros et al., (2008). Através da inoculação de diferentes raças de *C. lindemuthianum* em cultivares de feijoeiro, foi observado o desenvolvimento dos sintomas da doença nas folhas mais novas, nos estádios iniciais da planta, com pequenas lesões, demonstrando que a idade da planta influencia na sua suscetibilidade ao patógeno.

As avaliações se deram durante os dez dias após inoculação, sendo finalizadas quando as folhas pararam de apresentar sintomas, assim como realizado por Dalla Pria (2003), ao avaliar a quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro, através de avaliações que seguiram a intervalos de 12 ou 24 h, até surgir os primeiros sintomas, dependendo da velocidade de crescimento da doença, e finalizaram quando a porcentagem de tecido atacado não apresentava aumento.

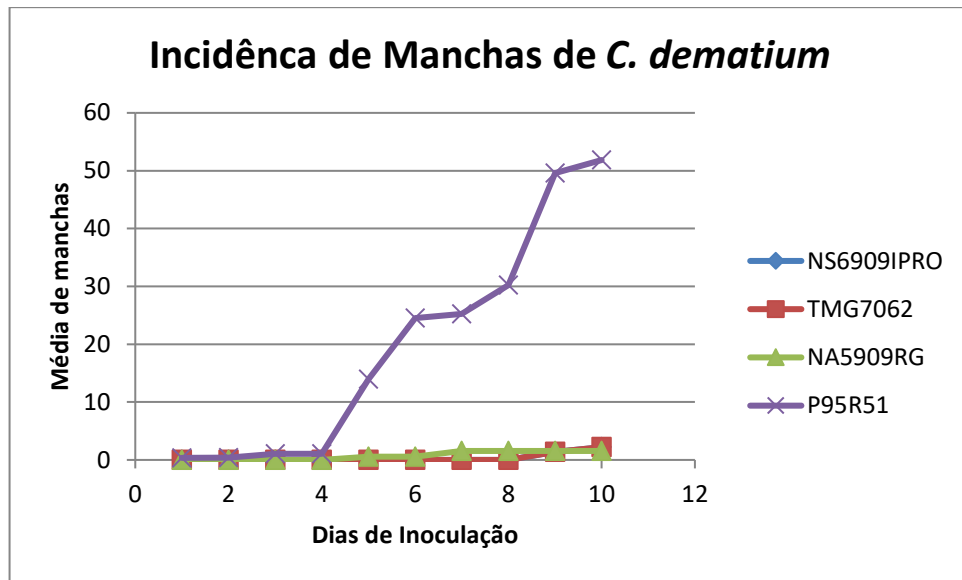


Figura 09. Incidência de manchas de *C. dematium*, durante dez dias de avaliações nas quatro cultivares estudadas.

Fonte: A autora (2018).

Conforme a figura 09, pode-se observar que a incidência de manchas ocorreu com maior frequência na cultivar P95R51, desde o primeiro dia de avaliação após a inoculação e posteriormente, evoluindo a partir do quarto dia de avaliação após a inoculação, em relação a incidência de manchas as demais cultivares não demonstraram diferenças significativas entre si até o sexto dia após a inoculação, obtendo um leve aumento posteriormente para todas as cultivares.

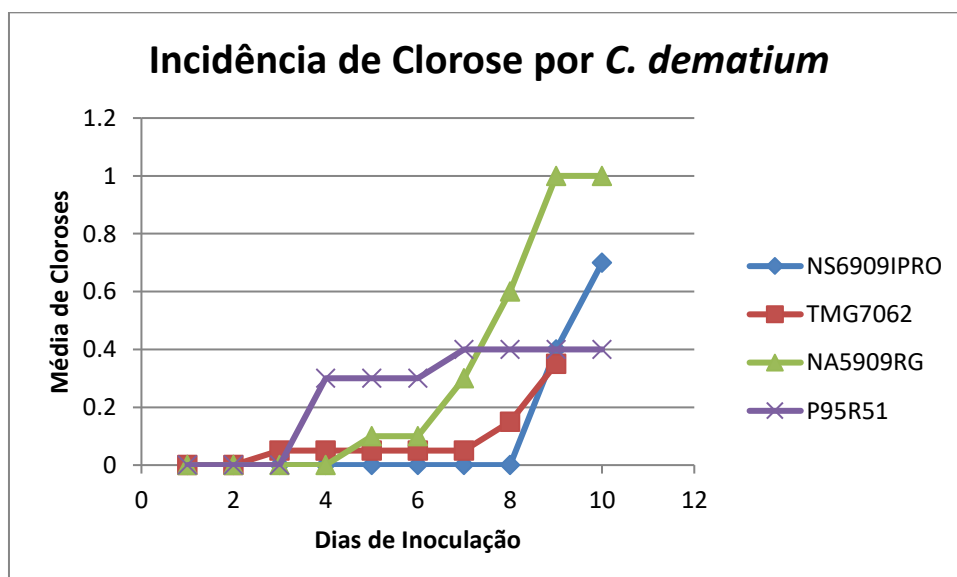


Figura 10. Incidência de clorose de *C. dematium*, durante dez dias de avaliações nas quatro cultivares estudadas.

Fonte: A autora (2018).

De acordo com a figura 10, a incidência de clorose para todas as cultivares foi expressiva, pois as médias de incidência de clorose diferem pouco entre si, as cultivares NS6909IPRO e TMG7062 mantiveram-se semelhantes até o sexto dia após a inoculação, exceto a P95R51 que se destaca a partir do quarto dia após a inoculação, amplificando a incidência de clorose até o sexto dia e se mantendo até o final das avaliações. A cultivar NA5909RG se destacou em relação as outras cultivares a partir do sexto dia após a inoculação, apresentando maior incidência de clorose.

Lins et al., (2007), estudou a infecção de plantas de café por *Colletotrichum* spp., o patógeno colonizou os tecidos vegetais das folhas, invadidos por hifas de todos os isolados a partir de 48 horas após a inoculação das plantas e isso ficou evidenciado até 144 dias após a inoculação. As hifas colonizaram todo o tecido do hospedeiro em todas as direções da folha, formando clorose, causando destruição extensiva dos tecidos das folhas.

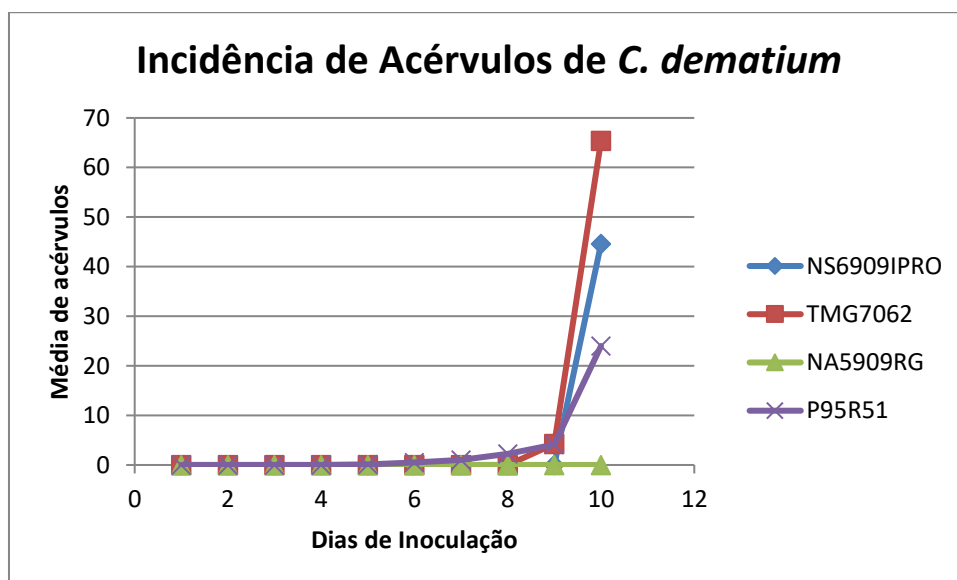


Figura 11. Incidência de Acérvulos de *C. dematium*, durante dez dias de avaliações nas quatro cultivares estudadas.

Fonte: A autora (2018).

A incidência de acérvulos foi superior para a cultivar TMG7062, e inferior para a cultivar NA5909RG. Em contra-partida, a partir do nono e décimo dia após a inoculação, iniciou-se a incidência de acérvulos de forma expressiva e acentuada. Lins et al., (2007) avaliou a produção de acérvulos em de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro, e teve resultados de que os acérvulos produzidos por *C. dematium* foram observados a partir de 96 dias após a inoculação das plântulas de café, com produção de setas pontiagudas sem produção de conídios nas extremidades.

Os resultados demonstram que a cultivar TMG7062, possuiu maior incidência na produção de acérvulos, provenientes de elevado crescimento micelial do patógeno e aglomeração de conídios e conidióforos, demonstrando a severidade do fungo, na utilização de diferentes mecanismos de infecção.

Orozco (2003), também descreveu a formação de acérvulos, porém em tecidos de cafeeiro inoculados com *C. gloeosporioides* e observou a incidência de acérvulos em microscópio de luz, nove dias após a inoculação, assim como foi visualizado no presente trabalho.



Figura 12: Alta incidência de acérvulos na cultivar TMG7062.

Fonte: A autora (2018).

8 CONCLUSÃO

Para a transmissão semente-plântula, todas as cultivares apresentaram morte pré-emergente.

O potencial de inóculo foi significativo para todas as cultivares, em sua maioria sendo quantificado em 75-100% de inóculo do patógeno nas sementes.

Em relação a severidade de *C. dematium*, a cultivar P95R51 apresentou uma média superior as demais em relação a incidência de lesões e de manchas, para a incidência de cloroses e acérvulos foi inferior, porem incidiu todos os sintomas de forma significativa, demonstrando-se altamente suscetível;

Na cultivar NS6909IPRO, as lesões apresentaram-se com menor intensidade em relação a todas as cultivares estudadas, houve alta incidência de cloroses e acérvulos nos últimos dias após a inoculação;

A cultivar NA5909RG, apresentou alta incidência de lesões, cloroses e não apresentou a incidência de acérvulos;

Na cultivar TMG7062, a incidência de lesões foi alta, de cloroses foi significativa em relação as demais, e de acérvulos foi superior, demonstrando-se resistente à infecção de *C. dematium*.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, GEORGE. N. Plant Pathology. 5. ed. San Diego: California: Elsevier Academic Press, 2005. 948 p.
- ALMEIDA M. R; et al; **Livro manual de fitopatologia**, vol. 2,pag, 604; Doenças da soja; 1995.
- ALMEIDA, A. M. R.; et al. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 581p.
- ALMEIDA, H. O. BARBOSA, M. O. MARQUES, A. E.; T. H. A. PEREIRA, MAGALHÃES JÚNIOR, M. J.; TESSAROLLO, N. G.; GAMES, P. D.; BARROS, E. G.; STOLF-MOREIRA, R.; MARCELINO-GUIMARAES, F C.; ABDELNOOR, R. V.;
- ARAÚJO E. R et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de aroeira produzidas no estado da Paraíba; **Revista AGROTEC** – v. 34, n. 1, p 9–20, 2013. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/index.php/at/article/viewFile/20380/11276>>. Acesso em: 25 de maio de 2017.
- ARAUJO, D. V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; ZAMBENEDETTI, E. B.; CELANO, F. A. O.; CARVALHO, E. M.; CAMARGO, 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.
- ARAÚJO, D.C.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C.; ZAMBENEDETTI, G.B.; CELANO, F.; CARVALHO, E.M; CAMARGOS, V. Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes de algodão na transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatol. Bras**, v.31, n.1, p. 35-40, 2006.
- ARAUJO, E.; ROSSETO, E.A. Introdução à Patologia de sementes In: SOAVE, J.; WETZEL. Patologia de sementes. **Associação Brasileira de tecnologia de sementes ABRATES**, comitê de patologia de sementes COPASEM. Campinas, SP, 1987. 146-161.
- BAKER, K. F; SMITH, S. H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 4, p. 311-332, 1966.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BARNETT, Horace Leslie et al. Gêneros ilustrados de fungos imperfeitos. **American Phytopathological Society (APS Press)**, 1998.
- BENITEZ T; RINCÓN A. M; LIMÓN M. C; CODÓN A. C. Biocontrolmecha-
- BERGAMIN FILHO, A.; KITAJIMA, E. W. História da Fitopatologia. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres. 4. ed., v.1, cap.1, p. 3-17, 2011.
- BLAZQUEZ C. H; JONES J. B; JONES J. P; STALL R. E; ZITTER T. A.

BOCCHESI, C. A. C. ; MARTINELLI, J. A. ; MATSUMURA, A. T. S. ; FEDERIZZI, *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, St. Paul, v.64, p.461–467, 1974.

BRACCINI, A. L.; REIS, S.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária da semente de genótipo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com diferentes graus de impermeabilidade do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.2, p.195-200, 2003.

CARDOSO, G. Efeito do potencial de inóculo de *Bipolaris oryzae* em sementes na transmissão para plântulas do arroz. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)- Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

CASTRO G. S. A; BOGIANI C. J; SILVA G. M; GAZOLA E; ROSOLEM A. C; CHONGO, G.; GOSSEN, B.D.; BERNIER, C.C. Infection by *Colletotrichum truncatum* in resistant and susceptible lentil genotypes. **Canadian Journal Plant Pathology**, v.24, p.81-85, 2002.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Contém informações institucionais, técnicas, notícias, projetos, publicações e serviços; Safra de Soja 2017/2018. Disponível em: <http://www.conab.gov>.

CORRÊA, C.L. Sobrevivência de *Bipolaris oryzae* em Sementes de arroz armazenadas sob duas condições ambientais. 2006, 36f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes)**, UFPel, Pelotas, 2006.

DA SILVA ROCHA, F. et al. Danos causados por diferentes potenciais de inóculo de *Aspergillus ochraceus* no vigor de sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, 2014.

DA SILVA, A. C; LIMA E. P. C; BATISTA H. R; Importância da soja para o agronegócio brasileiro. Disponível em: <http://www.apec.unesc.net/V_EEC/sesoes_tematicas/Economia%20rural%20e%20agricultura%20familiar/A%20IMPORT%C3%82NCIA%20DA%20SOJA%20PARA%20O%20AGRONEG%C3%93CIO%20BRASILEIRO.pdf> Acesso em: 01 de maio de 2017.

DALLA PRIA, M; AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 401-407, 2003.

DE MELO, C. L. P.; RAGAGNIN, V. A.; ARRUDA, K. M. A.; DE BARROS, E. G.; CARNEIRO, P. C. S.; DE PAULA JÚNIOR, T. J.; MOREIRA, M. A.; CARNEIRO; J. E. S. Caracterização fenotípica e molecular de genitores de feijão tipo carioca quanto à resistência a patógenos. **Pesq. agropec. bras.**, v. 43, n. 4, p. 495-504, 2008.

DE MENDONÇA, R. F. et al; Mancha de *Corynespora*: Desafio para a cultura do café conilon no estado do Espírito Santo. Enciclopédia Biosfera, **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.8, N.14; p. 7 2 5 – 2012.

DE SOUSA, T. P. et al. Incidência de fungos associados a sementes de soja transgênica variedade BRS Valiosa RR. **Revista Agroecossistemas**, v. 3, n. 1, p. 52-56, 2013.

Desafios fitossanitários para a produção de soja; Defesa vegetal e sustentabilidade do agronegócio; Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.34, n.276, p.66-75, set./out. 2013.

DHINGRA, O.D; Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: Zambolim L, **Sementes: Qualidade Fitossanitária**. Viçosa: UFV; DFP, pp. 75-112, 2005.

EMBRAPA, Soja em números (Safrá 2015/2016). Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 15 de outubro de 2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de produção de soja. Paraná 2003**. Londrina, 2002. 195p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de produção de soja. Paraná 2003**. Londrina, 2002. 195p.

FERREIRA, D.F. SISVAR: Sistema de análise de variância; Versão 5.6. Lavras: UFLA; 2016.

FILHO, R. M. L., Oliveira, S. M., & Menezes, M. (2003). Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. *Fitopatol. bras*, 28, 6.

FILHO, Rinaldo M. Lima; OLIVEIRA, Sônia MA; MENEZES, Maria. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatol. bras**, v. 28, p. 6, 2003.

GALLI, J. A., et al. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes*, v. 27, n. 2, p. 182-187, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/2045>>. Acesso em: 04 de outubro de 2018.

GARCIA JÚNIOR, Daniel et al. Relation between incidence of *Fusarium graminearum* in seeds, emergence and occurrence of giberela in wheat seedlings. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 4, p. 302-308, 2008.

GILLESPIE, J.H.; LANGLEY, C.H. A general model to account for enzyme variation in natural populations. **Genetics**, Pittsburgh, v.76, n.4, p.837-887, 1974

GODOY, C. V. et al. Doenças da Soja. SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA (SBF). 2014. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125697/1/DoencasdaSoja.pdf>.
Acesso em: 04 abr. 2018.

GOMES, N. S. B. et al. Patogenicidade de *Colletotrichum acutatum* em folhas destacadas de erva-mate. **Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2001.

GOMES, R. T.; KITAJIMA, E. W.; TANAKA, F. A. O.; MARQUES, J. P. R.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomia de lesões foliares causadas pelo vírus da mancha clorótica do clerodendrum, transmitido pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis* em diferentes espécies. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 4, p. 291-297, 2010.

GOULART, A. C. P. EFICIÊNCIA DO TRATAMENTO QUÍMICO DE SEMENTES DE SOJA NO CONTROLE DE *Colletotrichum dematium* VAR. *truncata*. Revista Brasileira de Sementes, vol. 13, no 1, p. 1-4, 1991. **Embrapa Agropecuária Oeste (Embrapa Western Agriculture)** - Dourados, MS, Brazil.

GOULART, A. C. P.; Detecção e controle químico de *Colletotrichum* em sementes de soja e algodão; **Embrapa Agropecuária Oeste**, ISSN 1679-043X; 100; pag. 20; Dourados MS; março, 2009.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. de A.; ANDRADE, P. J. M. Qualidade sanitária de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) produzidas no Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 1, p. 42-46, 1995.

GOULART, A. C. P.; Tratamento de sementes com fungicidas: uma prática de baixo custo que previne grandes prejuízos, **Revista cultivar grandes culturas**, Pelotas, Edição número 135, Agosto de 2010.

GOULART, A. C. P.; Tratamento de sementes de soja com fungicidas recomendações técnicas, **Embrapa Agropecuária Oeste**, Dourados MS, 1998.

GOULART, A.C.P. Eficiência do tratamento químico de sementes de soja no controle de *Colletotrichum dematiun* var. *Taumate*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 13, n. 1, p.1-8, 1991.

GOULART, A.C.P. Fungos em sementes de soja: detecção e importância. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. 58p. (**EMBRAPA-CPAO**. Documentos, 11)

GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2ª edição. New York: John Wiley & Sons, 458p, 1994.

HAMAWAKI, O. T. et al. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de genótipos de soja do ciclo precoce/médio em Uberlândia, Minas Gerais. **Fitopatologia brasileira**, v. 27, n. 2, p. 201-205, 2002.

HANCOCK, J.G. & MILLAR, R.L. Association of cellulolytic, proteolytic, and xylolytic enzymes with southern anthracnose, springs black stem, and *Stemphylium* leaf spot of alfalfa. **Phytopathology**, St. Paul, v. 55, p.356-360, 1965.

- HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, v.67, p. 597-607, 1975.
- HENNING A. A; Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais; Embrapa soja, **Documentos 264**; Londrina; Setembro, 2005.
- HENNING, A. A. Patologia de sementes. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1996. 43p.
- HENNING, A. A. Patologia de sementes. Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E), 1994.
- HENNING, A.A. Patologia e tratamento de sementes: noções gerais. Londrina: EMBRAPA- CNPSo, 2005.
- HENNING, A.A.; FRANÇA-NETO, J.B. Problemas na avaliação de germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. Revista Brasileira de Sementes, v.2, n.3, p.9-22, 1980.
- HENNING, A. A. et al. Manual de identificação de doenças de soja – 5.ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014.
- HERNÁNDEZ, V. G. Efeito do potencial de inóculo de *Exserohilum rostratum* associado às sementes de arroz quanto aos danos em plântulas, qualidade sanitária e fisiológica, Pelotas, 2016.
- HIRAKURI M. H; LAZZAROTTO J. J; O Agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, n. 349, jun. 2014.
- AZEVEDO J.L; (Eds.) Controle biológico, Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v.1, 26.
- ITAKO, A. T.; JÚNIOR, J. B. T.; DA SILVA JÚNIOR, T. A. F.; SOMAN, J. M.; MARINGONI, A. C. Efeito de produtos químicos sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro. **IDESIA**, v. 30, n. 2, 2012.
- JUHÁSZ A. C. P; DE PÁDUA G. P; WRUCK D. S. M; FAVORETO L; RIBEIRO N. R; KHARE, M.N.; CHACKO, S. Factors affecting seed infection and transmission of *Colletotrichum dematium* f. sp. truncata in soybean. **Seed Science and Technology**, v.11, p.853-858, 1983.
- KIMATI, H. et al .ed.. Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. V.2. 3 ed. São Paulo; **Agronomica Ceres**, 1997.
- KRUPPA, C.; RUSSOMANO, O.; FABRI, E. Fungos em sementes de urucum. Comunicado técnico do instituto Biológico de são Paulo, N 170, 2012.
- PRESTES, A. M. Virulência, atividade enzimática e padrões de isoesterases de isolados de *Pyrenophora avenae*, agente etiológico da mancha de grãos e folhas de aveia. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 28, n. 1, p. 11-16, 2003.

LAMDAN N. L.; SHALABAY S.; ZIV T.; KENERLEY C. M.; HORWITZ B. A. LINS, Severina RO; ABREU, Mário S.; ALVES, Eduardo. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 488-495, 2007.

LUCCA FILHO; JACOBSEN, C. Patologia de sementes. In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos- 3ra edição. Pelotas: Rua Pelotas, 2012. p. 274-365.

MACHADO, J. C.; COUTINHO, W. M.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M. G. G.C.; FERREIRA, D. F. Use of osmotic solutes to control seed germination of rice and common bean in seed health blotter tests. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 36, n. 1, p. 66-75, 2008.

Manual de Fitopatologia; São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 848-85.

MEDEIROS, L.A.M. **Resistência genética do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum***. 2004. 116p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MELO S.C.M; Recursos genéticos de microrganismos. In: Albuquerque, A.C.S; Silva A.G; Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucional e políticas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. v.2, p.679-700.

MENDES, M.P. Relação entre potencial de inóculo de *Colletotrichum truncatum* e desempenho de sementes de soja tratadas e não tratadas com fungicidas. 2014, 63 f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)**, Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2014.

MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M. (Ed.) Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. São Paulo: **Ciba Agro**, 1995., p.115-136.

MERTZ, L. M. , Fernando Augusto Henning, Paulo Dejalma Zimmerl. Bioprotectors and chemical fungicides in the treatment of soybean seeds. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, p.13-18, jan-fev, 2009.

MIGNUCCI, J.S.; LIM, S.M. Powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) development on soybeans with adult-plant resistance. **Phytopathology**, v.70, n.9, p.919-921, 1980.

MINUZZI, A. et al. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no Estado do Mato Grosso do Sul. **Embrapa Agropecuária Oeste-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**, 2010.

MORAES, MHD de; MENTEN, José Otávio Machado. Transmissão de *Alternaria* spp. através de sementes de feijão e seu efeito sobre a qualidade fisiológica das sementes. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 4, p. 381-383, 2006.

MÜNCH, S.; LINGNER, U.; FLOSS, D.S.; LUDWIG, N.; SAUER, N.; DEISING, H.B. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* spp., **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 41-51, 2008.

MUNSELL, A. H. **Munsell soil-color charts**. 2009.

MUSSURY, R. M.; BETONI, R.; SILVA, M. A.; SCALON, S. P. Q. Anatomia foliar de soja infectada por *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow e tratadas com extratos vegetais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 18-25, 2012.

NECHET, K.L.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; GIANLUPPI, V.; MEYER, M.C. Avaliação de genótipos de soja em relação à antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e mela (*Tanatephorus cucumeris*) nas condições de Roraima, 2004. 16p. (Embrapa Roraima. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 02)

NERBASS, F. R; CASA, R. T; ANGELO, H. R. Sanidade de sementes de milho comercializadas na safra agrícola de 2006/07 em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 7, n. 1, p. 30-36, 2008.

NICHOLSON, R. L.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. Histochemical demonstration of transitory esterase activity in *Venturia inaequalis*. **Phytopathology**, St. Paul, v.62, p.1241-1247, 1972.

OROZCO, M.E.F. Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e comparação com *Colletotrichum kahawae*. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Lavras. Lavras MG. 2003.

PASTORELO, M. et al; Variação do volume de aplicação de fungicidas no controle de doenças e no rendimento da soja. **XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola CONBEA**, Campo Grande MS, 27 a 31 de julho de 2014. Disponível em:

PEREIRA, C. F. Influência de *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, *Phomopsis sojae* e *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* nos testes de vigor de sementes de soja. 2008.

PEREIRA, E. B. C; PEREIRA, A. V; FRAGA, A. C. Qualidade de sementes de cultivares precoces de soja produzidas em três épocas. **Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2000.

PESKE, S.T; LUCCA FILHO A. O; BARROS A.C.S.A. Produção de Sementes In:

PIERO, R. M. D; PASCHOLATI, S. F. Produção de celulases por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 26, p. 361-341, 2000.

PIEROBOM, C. R. et al. CRESCIMENTO MICELIAL DE RAÇAS DE *Colletotrichum lindemuthianum* SOB DIFERENTES POTENCIAIS HÍDRICOS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 11, n. 3, 2005.

POLONI, A.; Estudo da virulência e variabilidade fisiológica e genética do fungo *Bipolaris sorokiniana*; **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2008.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 5th edition. The McGraw-Hill Companies, 2002.

RAMOS, D. P. et al. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, Jan/Mar, 2014.

RESENDE, L. M; Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum*, tratamento fungicida e adubação nitrogenada no milho; **Dissertação de mestrado UFLA**; Lavras, 2003.

REY, M.S.; LIMA, N.B; SANTOS, J.; PIEROBOM, C.R. Transmissão semente-plantula de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.465-470,, 2009.

ROLIM, P.R.; Centurion, M.A.P.C.; Menten, J.O.M. *Alternaria* sp. em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.): incidência na semente, tipos morfológicos, patogenicidade e transmissibilidade de diferentes isolados. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.16, n.2, p.130-9, 1990.

SÁNCHEZ, G. R; MERCADO, E. C.; PEÑA, E. B.; DE LA CRUZ, H. R.; PINEDA, E. G. El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. **Biológicas**, v. 12, p. 90–95, 2013.

Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos, 2006.

SINCLAIR, J.B; Latent infection of soybean plants and seeds by fungi. **Plant Disease**, v. 75, p. 220 – 224, 1991.

SINGH, R.; SINGH S.B.; SINGH P.N.; Effect of environmental conditions on development of anthracnose of soybean. **Annals of Plant Protection Sciences** 9:146-147, 2001.

SIQUEIRA, C.S.; MACHADO, J.C.; CORREA, C.J.; BARROCAS, E.N. (b). Colonization of maize seeds by two species of *Sternocarpella* transformed with fluorescent proteins and assessed through scanning electron microscopy. **Journal of seed science**, v.37, n2, p. 168-177, 2014.

SULTANA, A.; RASHID, B. Impact of Seed Transmission of *Bipolaris sorokiniana* on the Planting Value of Wheat Seeds. **J. Environ. Sci. & Natural Resources**, v. 5, n. 1, p. 75-78, 2012.

TALAMINI, V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2002.