**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MOLHAMENTO
FOLIAR NO MONOCICLO DO “MAL-DE-SETE-VOLTAS” DA
CEBOLA E TRANSPORTE DE *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp.
cepae PELA SEMENTE**

LUCIANA CELESTE CARNEIRO

Engenheira Agrônoma

Orientadora: Prof.^a Dr.^a **LILIAN AMORIM**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de Mestre em
Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Carneiro, Luciana Celeste

Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo do "mal-de-sete-voltas" da cebola e transporte de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* pela semente / Luciana Celeste Carneiro. - - Piracicaba, 1998.
69 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Cebola 2. Doença de planta 3. Efeito do molhamento 4. Efeito da temperatura
5. Epidemiologia 6. Fungo fitopatogênico 7. Mal-das-sete-voltas 8. Resistência de
variedade 9. Semente I. Título

CDD 635.25

*À minha irmã Bete, que
me orienta pelo caminho
da paz*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, professores, colegas e funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP pela atenção e amizade durante todo o curso, em especial:

À Prof. Lilian Amorim pela valiosa orientação e amizade,

Aos Professores Hiroshi Kimati e Cyro Paulino da Costa pelos ensinamentos e pelo incentivo à realização deste trabalho,

Às funcionárias Dr. Maria Heloísa D. Moraes, pela orientação nos trabalhos com sementes, e Silvia A. Lourenço, pelo auxílio na execução da parte experimental,

Aos colegas do grupo de epidemiologia, Renato Bassanezi, Bete Folegatti, Larissa de Mio, Elisa Basso e Nilceli Fernandes pelas sugestões e especialmente a Claudia Godoy, pelo suporte técnico.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Etiologia do “Mal-de-Sete-Voltas”	3
2.2 Sintomatologia do “Mal-de-Sete-Voltas”	7
2.3 Epidemiologia do “Mal-de-Sete-Voltas”	8
2.4 Controle do “Mal-de-Sete-Voltas”	12
2.4.1 Resistência varietal de cebola a <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	12
2.4.2 Controle químico	17
2.4.3 Medidas gerais de controle	17
2.5 Utilização de componentes monocíclicos na avaliação do efeito de variáveis ambientais no desenvolvimento de doenças	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Obtenção e manutenção dos isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	21
3.2 Avaliação do efeito da temperatura no crescimento micelial de isolados de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	22

3.3 Avaliação do efeito da temperatura e do período de molhamento na infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	23
3.3.1 Cultivo do hospedeiro	23
3.3.2 Preparo do inóculo e inoculação	24
3.3.3 Avaliação do efeito da temperatura na infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	25
3.3.3.1 Componentes monocíclicos avaliados	26
a) Período de incubação e frequência de infecção	26
b) Tamanho de lesão	26
c) Severidade	27
3.3.4 Avaliação do efeito do período de molhamento na infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	28
3.3.4.1 Componentes monocíclicos avaliados	29
3.4 Avaliação do transporte de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> via semente	29
3.4.1 Obtenção de sementes infectadas por <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	29
3.4.1.1 Cultivo de hastes florais de cebola e inoculação das inflorescências	29
3.4.1.2 Sementes provenientes de campos de produção comercial	30
3.4.2 Teste de sanidade	31

3.4.3 Teste de transmissão semente-plântula	32
4 RESULTADOS	33
4.1 Efeito da temperatura no crescimento micelial de isolados <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	33
4.2 Efeito da temperatura na infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	35
4.3 Efeito do período de molhamento na infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	42
4.4 Avaliação do transporte de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> via semente	47
5 DISCUSSÃO	48
5.1 Efeito de variáveis ambientais no crescimento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”	48
5.1.1. Temperatura	48
5.1.2 Molhamento foliar	51
5.2 Transporte de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> via semente e transmissão semente-plântula	54
5.3 Considerações finais	55
6 CONCLUSÕES	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

LISTA DE FIGURAS

Figura n°		Página
01	Progresso da taxa de crescimento micelial “in vitro” em função da temperatura dos isolados 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) e 6(F) no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). R^2 representa o coeficiente de determinação	34
02	Efeito da temperatura na frequência média de infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A, C, E, G, I) e Brownsville (B, D, F, H, J) no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios, para avaliações realizadas no 4° (A-B), 6° (C-D), 8° (E-F), 10° (G-H) e 12° (I-J) dias após inoculação e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de determinação	36
03	Comprimento médio relativo de lesões (%) causadas por <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> em função da temperatura em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B) no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de determinação	39
04	Severidade média relativa do “Mal-de-Sete-Voltas” em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B) submetidas a diferentes temperaturas no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de	

	determinação	41
05	Efeito do período de molhamento sobre a frequência média de infecção de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A, C, E) e Brownsville (B, D, F) no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios, para avaliações realizadas no 4º (A-B), 8º (C-D) e 12º (E-F) dias após a inoculação. Barras representam erro padrão da média	43
06	Comprimento médio relativo de lesões causadas por <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> em função do período de molhamento, em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B), no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios. Barras representam erro padrão da média	45
07	Severidade média relativa do “Mal-de-Sete-Voltas” em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B), submetidas a diferentes períodos de molhamento, no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios. Barras representam o erro padrão da média	46

LISTA DE TABELAS

TABELA N°		Página
01	Tabela 1 - Denominação e procedência dos isolados de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> utilizados nos experimentos	21
02	Tabela 2 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo Beta generalizado, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, onde Y = taxa de crescimento micelial, X = temperatura, B_2 e B_3 = temperaturas mínima e máxima de crescimento micelial, respectivamente e B_1 , B_4 e B_5 = parâmetros sem significado biológico para seis isolados de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i>	35
03	Tabela 3 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo Beta generalizado, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, onde Y = frequência de infecção, X = temperatura, B_2 e B_3 = temperaturas mínima e máxima para infecção, respectivamente e B_1 , B_4 e B_5 = parâmetros sem significado biológico para o ajuste conjunto dos dados referentes ao sexto dia após a inoculação dos ensaios 1 e 2, realizados com as variedades IPA-9 e Brownsville	37
04	Tabela 4 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz, $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = comprimento de lesão, B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial, B_3 = taxa de crescimento e X = temperatura para os ajustes realizados com dados conjuntos dos ensaios 1 e 2, para as variedades IPA-9 e Brownsville	40

05	Tabela 5 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz, $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = severidade, B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial, B_3 = taxa de crescimento e X = temperatura para os ajustes feitos com dados conjuntos de 2 ensaios realizados com as variedades IPA-9 e Brownsville	42
----	---	----

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MOLHAMENTO FOLIAR NO
MONOCICLO DO “MAL-DE-SETE-VOLTAS” DA CEBOLA E TRANSPORTE
DE *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* PELA SEMENTE**

Autora: LUCIANA CELESTE CARNEIRO

Orientadora: PROF^a. DR^a. LILIAN AMORIM

Resumo

Com o objetivo de obter informações sobre o desenvolvimento epidemiológico do “Mal-de-Sete-Voltas” da cebola, causado pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*, foram avaliados os efeitos das variáveis ambientais temperatura e período de molhamento no crescimento do patógeno, na infecção e no desenvolvimento da doença. Também foi avaliado o transporte do patógeno por sementes contaminadas natural e artificialmente.

O efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento micelial foi avaliado “in vitro” para seis isolados do patógeno. Foram testadas as temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, em dois ensaios, havendo resposta significativa da temperatura para todos os isolados. A temperatura mínima de crescimento micelial, estimada pelo modelo Beta generalizado, variou de 3,9 a 8 °C e a temperatura máxima ficou entre 35 e 36 °C, de acordo com o isolado. A faixa ótima de crescimento micelial foi ampla, indo desde 20 até 30 °C.

O efeito da umidade e temperatura na infecção por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento da doença foi avaliado pela quantificação dos componentes monocíclicos frequência de infecção, tamanho de lesão e severidade. Os ensaios foram conduzidos em ambiente controlado, utilizando plantas de cebola de aproximadamente quatro meses de idade, das variedades IPA-9 e Brownsville, cultivadas individualmente em vasos de alumínio. Para a avaliação do efeito da temperatura, as plantas foram inoculadas com suspensão de conídios até o ponto de escoamento superficial e mantidas

em câmara úmida por 24 horas após a inoculação. Foram testadas as temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C. Para a avaliação do efeito do período de molhamento, as plantas inoculadas foram mantidas a 25 °C e os períodos de molhamento testados foram de 0, 2, 4, 8, 12 e 24 horas.

O melhor critério para avaliar a doença foi a severidade, já que a avaliação da frequência de infecção e do tamanho de lesão foi comprometida pelo intenso coalescimento das lesões e pela danificação do tecido adjacente à área lesionada pelo patógeno.

A severidade aumentou com o aumento da temperatura no intervalo de 15 a 30 °C. Para a variedade Brownsville, a temperatura de 30 °C mostrou efeito mais pronunciado que a 25 °C, enquanto que na variedade IPA-9 as severidades foram similares sob essas duas temperaturas. A duração do molhamento foliar não mostrou correlação com a severidade, demonstrando que horas de molhamento foliar superiores ao período necessário à infecção pelo patógeno não influenciam o desenvolvimento da doença.

O transporte do patógeno via semente foi avaliado para lotes provenientes de umbelas previamente inoculadas com suspensão do patógeno e para lotes provenientes de campos de produção comercial com registro da ocorrência da doença. Os testes de sanidade revelaram que o transporte via semente é baixo, sugerindo que a contribuição de sementes contaminadas ao desenvolvimento de epidemia, dentro de um ciclo de cultivo do hospedeiro, é pequena.

**INFLUENCE OF TEMPERATURE AND LEAF WETNESS ON THE
MONOCYCLE OF THE ONION DISEASE CAUSED BY *Colletotrichum
gloeosporioides* f. sp. *cepae* AND EVALUATION OF THE PATHOGEN
TRANSPORT BY SEEDS**

Author: LUCIANA CELESTE CARNEIRO

Adviser: PROF. DR. LILIAN AMORIM

Summary

In order to obtain more information about the epidemiological development of the onion disease caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*, it was evaluated the effect of weather variables (temperature and leaf wetness duration) on the pathogen micelial growth and on infection and disease development. The transport of the pathogen by seeds natural and artificially contaminated by the pathogen was also analysed.

The effect of temperature on the micelial growth rate was analysed by two repetition trials conducted “in vitro”, for six isolates, at temperatures of 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C. All isolates presented significant response to temperature. The minimum temperature for micelial growth, estimated by generalised beta function, ranged from 3,9 to 8 °C and the maximum temperature ranged from 35 to 36 °C, according to the isolate.

The effect of temperature and leaf wetness duration on the infection of *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* and on the disease development was investigated by the quantification of monocyclic components, such as infection frequency, lesion size and disease severity. All trials were carried on twice, at controlled environment, utilising four month old onion plants of two varieties, IPA-9 and Brownsville, grown individually on aluminium pots. At the effect of temperature trials, plants inoculated with conidia suspension were placed on growth chambers regulated for 15, 20, 25 and 30 °C. After

inoculation, besides the temperatures tested, the plants were kept under leaf wetness condition for 24 hours. At the study of the effect of leaf wetness duration, inoculated plants were maintained under 25 °C and the wetness periods applied were 0, 2, 4, 8, 12 and 24 hours.

The best criterion for disease evaluation was severity. Frequency efficiency and lesion size were underestimated due to the intense lesion coalescence and to the occurrence of damaged tissue surrounding the pathogen lesion area.

Severity values increased with the increase of temperature, from 15 to 30 °C. The temperature of 30 °C showed higher severity than the temperature of 25 °C for Brownsville variety, while severity at those temperatures were similar for the variety IPA-9. There was no correlation between leaf wetness duration and severity, showing that dew periods over the one necessary for infection to take place do not affect the disease development.

C. gloeosporioides f. sp. *cepae* transport by seeds was analysed from samples collected from umbels previously inoculated with conidia suspension and also from samples collected from onion seed fields affected by the disease. Seed health testing revealed that the pathogen transport is low and probably presents a small contribution to the disease epidemic development in one host cycle.

1 INTRODUÇÃO

Quando o Mercosul entrou em vigor, a cebolicultura nacional, já abalada devido à extinção do programa governamental de sincronia de safras, encontrou uma nova ameaça: a concorrência com o produto argentino. Este entrou no país com preço equivalente ao dos bulbos nacionais, porém com qualidade bastante superior, ganhando rapidamente a preferência do consumidor. Essa situação foi compreendida por produtores e técnicos como um desafio e, acreditando no potencial produtivo brasileiro, fez com que eles estabelecessem a meta de elevar a qualidade dos bulbos produzidos no Brasil. Os passos a serem seguidos já foram definidos por autoridades, técnicos e produtores e envolvem mobilizações desde o setor produtivo até os setores de comercialização e fiscalização.

A fitopatologia tem papel importante nesta investida da cebolicultura nacional, onde pode contribuir com o desenvolvimento de pesquisas que tragam novas informações acerca da importância e do manejo das doenças que ocorrem na cultura. Uma doença endêmica no Brasil que há mais de trinta anos vem causando danos à produção é o “Mal-de-Sete-Voltas”. Apesar de ter importância reconhecida em todas as regiões produtoras do país, ela foi pouco estudada, atitude que se justifica pelo descrédito total lançado sobre a cultura da cebola nos últimos anos, o que reduziu incentivos à pesquisa. A agressividade com que o patógeno incide sobre a cultura preocupa os produtores, pois quando o agente causal não destrói por completo as plantas infectadas, leva à formação de bulbos deformados. Os danos registrados vão de 50 a 100% e o ataque é mais severo nos híbridos norte-americanos de cebola suave, altamente suscetíveis ao patógeno. O controle químico vem sendo utilizado com eficiência relativa, pois muitas vezes o

produtor diagnostica a doença quando a incidência é alta e, nesta situação, a aplicação de fungicida já não tem efeito. Além disso, o uso contínuo do princípio ativo benomyl, há cerca de 20 anos, pode, a qualquer instante, selecionar mutantes resistentes. Fontes de resistência ao patógeno foram detectadas no germoplasma nacional (Costa et al., 1974; 1975; Silva, 1976; Abreu, 1990; Assunção et al., 1997) e em espécies selvagens do gênero *Allium* (Galván et al., 1997). A maior parte das pesquisas realizadas até o momento foram relacionadas à resistência varietal, demonstrando que a resistência é do tipo horizontal (Silva, 1976) e que há possibilidade de sucesso em programas de melhoramento (Melo & Costa, 1983). Programas de desenvolvimento de híbridos de cebola tropical altamente produtivos e resistentes ao “Mal-de-Sete-Voltas” já dispõem de diversas linhagens promissoras, mas a continuidade dos trabalhos esbarra na ausência de metodologia adequada para quantificação de níveis de resistência. Dados sobre o desenvolvimento epidemiológico da doença também são escassos, sabendo-se apenas que surtos epidêmicos são registrados durante o verão, após períodos de chuvas intensas. Sementes contaminadas são consideradas as principais responsáveis por epidemias severas na Região Sul do País (Boff, 1996), embora os testes de sanidade revelem baixa porcentagem do patógeno nos lotes avaliados (Boff et al., 1995; Gandin & Thomazelli, 1996; Rota & Pierobom, 1997). As variáveis climáticas ótimas para infecção e desenvolvimento da doença são também desconhecidas.

Neste trabalho foi investigado, primeiramente, o efeito de variáveis ambientais (períodos de molhamento e temperatura) no desenvolvimento da doença, utilizando duas variedades de cebola com diferentes níveis de suscetibilidade ao patógeno. Numa segunda etapa foi examinado o transporte do patógeno via semente, bem como a eficiência da transmissão das sementes para plântulas. O objetivo principal foi a geração de novas informações que possam ajudar no manejo dessa doença, contribuindo com os demais setores que visam ao progresso da cebolicultura nacional.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia do “Mal-de-Sete-Voltas”

Nos dias atuais, a etiologia do “Mal-de-Sete-Voltas” está esclarecida, mas esse tema já foi motivo de divergência entre pesquisadores, como se verá a seguir.

Em 1940, o termo “Mal-de-Sete-Voltas” foi utilizado pela primeira vez no Rio Grande do Sul, em referência a uma enfermidade que crescia intensamente nos cebolais gaúchos e cuja característica principal era um intenso retorcimento foliar (Luz & Fonseca, 1964). Nos anos de 1941 e 1942, a mesma sintomatologia (retorcimento foliar, clorose das folhas, formação de bulbos alongados denominados “charutos”, e apodrecimento basal dos bulbos) foi relatada na região fluminense e em áreas cebolicultoras de Minas Gerais, respectivamente (Luz & Fonseca, 1964). Foi apresentada a hipótese do vírus do mosaico em faixas da cebola (Onion Yellow Dwarf Mosaic Virus) ser o causador dos sintomas da parte aérea, mesmo tendo sido registrada a presença de fungos do gênero *Colletotrichum* em lesões foliares. Ao apodrecimento basal dos bulbos foi sugerido como causa a ação de fungos do gênero *Rhizoctonia* e bactérias do solo (Deslandes¹, citado por Silva, 1976). Segundo Campacci (1961), desde o início da década de quarenta, nas principais regiões produtoras de cebola do Estado de São Paulo, técnicos do Instituto Biológico vinham constatando a ocorrência de uma doença cujos sintomas muito se assemelhavam aos descritos por Deslandes. A doença era mais freqüente nos cultivos por bulbinho, afetando não somente os campos de produção, mas

¹ Deslandes, J.A. Doenças da cebola. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola do Ministério da Agricultura, 1944. 49 p. (Serviço de Investigações Fitossanitárias).

também prejudicando as sementeiras e causando podridões durante o armazenamento. Em todas as amostras provenientes de cebolais paulistas, Campacci detectou a presença de fungos do gênero *Colletotrichum*, o que o levou a testar a patogenicidade dos isolados obtidos. Este pesquisador fez uma série de ensaios, incluindo inoculação de suspensão de esporos de *Colletotrichum* sp. na semente, no solo e em mudas, conseguindo reproduzir os sintomas da doença e completar o postulado de Koch. Os isolados foram remetidos aos Estados Unidos da América, onde foram classificados como *Colletotrichum chardonianum* Nolla. Campacci concluiu seus estudos, afirmando que a doença que incidia sobre os cebolais do Estado de São Paulo era o “Cachorro-Quente”, causada por *C. chardonianum* e não o “Mal-de-Sete-Voltas”, que apesar dos sintomas semelhantes, era uma doença virótica e de ocorrência ainda não constatada nesse Estado. Para Luz & Fonseca (1964), a doença que vinha ocorrendo no Rio Grande do Sul, denominada “Mal-de-Sete-Voltas”, era a mesma que vinha sendo observada em São Paulo, o “Cachorro-Quente”. Após diversos testes de patogenicidade concluíram que os dois nomes designavam a mesma doença, que tinha como agente etiológico uma espécie do gênero *Colletotrichum*. Em 1966, Costa et al. (1966) descartaram a hipótese de ser um vírus o causador do “Mal-de-Sete-Voltas”. Após inspeções em campos de cultivo da região de Piedade (SP), Costa e seus colaboradores observaram dois quadros sintomatológicos distintos. Em um deles, plantas afetadas mostravam sintomas semelhantes ao que vinha sendo denominado “Mal-de-Sete-Voltas”, ou seja, as folhas eram mais alongadas que o normal, com tendência ao enrolamento e os bulbos apresentavam elongações anormais, adquirindo conformação de “charuto”. O outro quadro sintomatológico encontrado pelos autores era constituído por plantas com nanismo e mosaico verde em faixas ao longo do limbo foliar, o que levou à constatação do “Mosaico em Faixa”, tendo como agente etiológico o vírus do mosaico em faixas da cebola (Onion Yellow Dwarf Mosaic Virus), detectado em testes realizados na seção de virologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Desse modo, concluiu-se que “Mal-de-Sete-Voltas” e “Cachorro-Quente” eram sinônimos de uma mesma doença que, por estar atingindo proporções epidêmicas, ameaçava a cultura nas Regiões Sul e Sudeste do País.

As preocupações tornaram-se alarmantes quando em 1966, Aquino & Wanderley (1966) relataram a ocorrência devastadora da doença na Região Nordeste. Em levantamentos nos cultivos pernambucanos, os autores observaram que o gênero *Colletotrichum* era o de maior ocorrência em cebolais que apresentavam os sintomas que vinham sendo descritos para o “Mal-de-Sete-Voltas” ou “Cachorro-Quente”. Também observaram que o que vinha sendo denominado “Rola” pelos agricultores nordestinos, nada mais era que o “Mal-de-Sete-Voltas” ou o “Cachorro-Quente”, descritos anteriormente em outros Estados. Em testes de patogenicidade para isolados do gênero *Colletotrichum*, os autores conseguiram reproduzir os sintomas típicos da doença (curvatura do pescoço, folhas rígidas e encurvadas para baixo e lesões de antracnose) após inoculações nas sementes, no solo e na parte aérea.

Culturas dos isolados da região do Vale do São Francisco, juntamente com culturas de *C. chardonianum* de São Paulo, foram enviadas ao “Central Bureau Voor Schimmelcultures”, na Holanda. Ambas foram identificadas como sendo pertencentes à espécie *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Melo, 1983). Dentro da revisão taxonômica de Arx, realizada nos anos 50, mais de 600 espécies de fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum* foram reclassificadas como *C. gloeosporioides*, inclusive *C. chardonianum* (Sutton, 1992).

Robbs & Ribeiro (1966) foram de encontro às conclusões obtidas por Campacci (1961), Luz & Fonseca (1964) e Aquino & Wanderley (1966), afirmando ser *Fusarium oxysporum* o real agente etiológico do “Mal-de-Sete-Voltas”. Para os autores, este era o único responsável pelo alongamento do bulbo e das bainhas e do conseqüente retorcimento foliar. Comentaram inclusive, a “estranha suscetibilidade das plantas afetadas por *Fusarium*, causador do *mal*, ao agente etiológico da antracnose das folhas, *C. gloeosporioides*” e sugeriram a existência de duas doenças: o “Mal-de-Sete-Voltas”, causado por *F. oxysporum*, cujo sintoma típico era o alongamento das folhas e do bulbo, e a “Antracnose Foliar”, que causava enrodilhamento e clorose das folhas centrais, lesões foliares, culminando com tombamento da parte aérea. Os autores fundamentaram suas afirmativas nos seguintes fatos: isolamento de *F. oxysporum* a partir da região da gema

vegetativa de plantas com sintomas, ausência de associação constante entre *C. gloeosporioides* e os sintomas típicos da doença e ocorrência deste último em lesões de antracnose, sem necessariamente haver sintomas de alongamento dos bulbos e enrodilhamento foliar. Estes autores também descreveram a ocorrência de alguns isolados de *F. oxysporum* que diferiram quanto à patogenicidade, havendo poucos isolados agressivos. Já entre os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* testados, não foi constatada nenhuma diferença de agressividade.

Aquino & Wanderley² (citados por Silva, 1976), contestaram as hipóteses de Robbs & Ribeiro (1966) e realizaram novos testes de patogenicidade com diversos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum*. Concluíram que os sintomas causados por *F. oxysporum* não se assemelhavam ao que vinha sendo chamado de “Mal-de-Sete-Voltas”. Essa divergência foi analisada por Silva (1976) ao examinar com detalhe os relatos de Aquino e Wanderley (citados por Silva, 1976) e de Robbs & Ribeiro (1966). Mesmo sem realizar nenhum experimento específico, Silva (1976) sugeriu a existência de certos biótipos de *F. oxysporum* f. sp. *cepa* capazes de causar o retorcimento e alongamento das folhas e “encharutamento” dos bulbos. Esta conclusão não foi confirmada posteriormente. Na verdade, existe a doença denominada podridão basal, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa*, cuja sintomatologia comumente relatada no Brasil (Nunes & Kimati, 1997) e em outros países (Havey, 1996), ocorre principalmente na forma de apodrecimento do bulbo e murcha da parte aérea.

Para Kimati (1980), o termo “Mal-de-Sete-Voltas” referia-se a uma síndrome que resultava da ação de vários agentes fitopatogênicos, isoladamente ou em conjunto, incluindo o agente da “Antracnose Foliar” (em referência à doença causada por *C. gloeosporioides*) e da “Podridão Basal” (*F. oxysporum* f. sp. *cepa*). Atualmente há um consenso em denominar “Mal-de-Sete-Voltas” a doença causada por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepa* (Nunes & Kimati, 1997), já que os sintomas típicos de enrolamento foliar observados nas lavouras comerciais, na grande maioria dos casos, ocorre em função do

² AQUINO, M.L.N.; WANDERLEY, L.J.G. Estudo comparativo dos sintomas causados por fungos dos gêneros *Colletotrichum* e *Fusarium* em cebola (*Allium cepa* L.). 1º Encontro de Técnicos em Olericultura do Sub-Médio São Francisco. Juazeiro/Petrolina. 5p. (Mimeografado), 1973.

ataque deste patógeno. É importante salientar que a deficiência de zinco em cebola também promove retorcimento foliar bastante intenso, idêntico ao observado em plantas infectadas por *Colletotrichum gloeosporioides* (Bender, 1993). No entanto, os sintomas de encharutamento dos bulbos e lesões foliares são sempre ausentes.

Bajungo (1979), através de inoculações cruzadas com diferentes isolados de *C. gloeosporioides*, demonstrou que o patógeno tem especificidade de hospedeiro, não sendo o mesmo que ocorre em outras culturas. A partir desse trabalho, a denominação adotada no Brasil para se referir ao isolado da cebola passou a ser *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Em outros países onde ocorre a doença, o fungo é classificado apenas como *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., sem referência à forma especial, mas sim à fase sexuada *Glomerella cingulata* (Hill, 1996; Nunes & Kimati, 1997).

C. gloeosporioides é um fungo mitospórico que produz acérvulos sobre uma base estromática subcuticular. Os acérvulos, na maturidade, rompem a cutícula devido à formação de conidióforos e setas, expondo as unidades de frutificação. Os conídios são hialinos, unicelulares, cilíndricos, com as pontas obtusas e asseptados (Nunes & Kimati, 1997). A descrição detalhada da morfologia desta espécie foi apresentada por Sutton (1992).

2.2 Sintomatologia do “Mal-de-Sete-Voltas”

A infecção pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento do hospedeiro. Quando incide na sementeira, há tombamento das mudas, “mela” ou estiolamento. O ataque pode ocorrer mesmo antes da emergência, causando apodrecimento das mudas que ficam recobertas por uma massa rosada de esporos do fungo. É no plantio definitivo que a doença apresenta os sintomas típicos, em reboleira: o pescoço da planta (região de sobreposição das bainhas foliares) torna-se rígido e alongado, as folhas mais externas (mais velhas) secam rapidamente e as mais novas se retorcem, dando voltas em número e formas variadas (Luz & Fonseca, 1964; Nunes & Kimati, 1997). Como em alguns casos um desses sintomas pode faltar (Aquino & Wanderley, 1966) e também como eles podem

ser originados por diversos agentes, infecciosos ou não, o sintoma diagnóstico da doença vem a ser o grande número de acérvulos do patógeno, presentes no pescoço da planta, ou nas folhas. Nestas, os acérvulos encontram-se distribuídos em círculos concêntricos, dentro de lesões alongadas, deprimidas e de coloração parda. Em condições de alta umidade as lesões apresentam coloração alaranjada, devido à liberação, a partir dos acérvulos, de massas mucilaginosas contendo esporos do fungo. As lesões foliares podem crescer e coalescer, provocando a morte das folhas, deixando o talo nu e assim produzindo bulbos pequenos que apodrecem rapidamente durante o armazenamento (Nunes & Kimati, 1997).

Lesões também ocorrem na haste floral e são normalmente localizadas logo abaixo da inflorescência. Não há relato sobre a sintomatologia na umbela, mas devido ao desenvolvimento da lesão na haste floral, ocorre a destruição total da inflorescência pelo estrangulamento da haste, sintoma que recebe a denominação de “careca” (Luz & Fonseca, 1964).

Estudos realizados na Universidade de Bangkok, Tailândia, mostraram que o “encharutamento” do bulbo e o alongamento da bainha foliar, ocorrem em consequência de uma disfunção hormonal. A análise de plantas infectadas mostrou uma concentração de auxina acima dos níveis normais encontrados nas plantas saudáveis. Concentração elevada deste hormônio do crescimento também foi encontrada em filtrado estéril da cultura do patógeno (*C. gloeosporioides*). Este ao ser depositado na região do pescoço de plantas saudáveis, promoveu o crescimento anormal, característico da doença (Sunce-Ongoagwanit, 1991).

2.3 Epidemiologia do “Mal-de-Sete-Voltas”

O gênero *Colletotrichum* é encontrado em todas as regiões agrícolas do mundo, incidindo sobre uma vasta gama de espécies vegetais de interesse econômico. Apesar da distribuição cosmopolita, seu ataque é mais pronunciado nos trópicos (Waller, 1992), onde merece destaque a espécie *C. gloeosporioides*, responsável por perdas significativas

nos cultivos de manga, citros, abacate, mamão, entre outros. Nas revisões mais completas a respeito desse patógeno em hospedeiros tropicais, como a de Jeffries et al. (1990) e a de Dodd et al. (1992), nenhuma menção é feita ao “Mal-de-Sete-Voltas”. Assim, a existência de uma doença infecciosa em cebola, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, é praticamente desconhecida da literatura internacional. Se a epidemiologia dessa espécie nas regiões de clima tropical é pouco estudada, como observado por Dodd et al. (1992), ela pode ser considerada nula para o “Mal-de-Sete-Voltas”. Os trabalhos mais extensivos foram realizados para a antracnose da mangueira, em função de seu elevado valor comercial como fruto de exportação para as regiões temperadas.

Até o momento, o “Mal-de-Sete-Voltas” foi relatado somente no hemisfério sul, em regiões de clima tropical e subtropical. Alguns autores nacionais chegaram a considerá-la uma doença tipicamente brasileira, mas já há registros de sua ocorrência em outros países. Na Nigéria, a primeira constatação data de 1969, ficando esquecida até os anos 80, quando surtos epidêmicos passaram a dizimar as plantações localizadas no nordeste do país (Ebenebe, 1980). Reduções severas na produção de bulbos também foram registradas na Índia (Chawda & Rajasab, 1996), Tailândia (Nittaya-Kanlong et al., 1987; Nitaya-Konlong et al., 1988) e Indonésia (Suhardi, 1993).

Os relatos da doença demonstram que as epidemias ocorrem durante o verão, após períodos de chuvas intensas. Essa constatação se ajusta à conclusão obtida por Dodd et al. (1992) numa revisão sobre a epidemiologia de doenças causadas por *C. gloeosporioides* nos trópicos, na qual foi demonstrada a importância da chuva como agente de disseminação do fungo em diferentes espécies de hospedeiro. Segundo os autores, a maioria dos estudos desenvolvidos em regiões de clima tropical e com isolados provenientes de diferentes hospedeiros, mostraram que a temperatura ótima para o desenvolvimento do patógeno é de 25 °C.

O requerimento hídrico é o principal fator limitante na disseminação do patógeno e, por conseqüência, para o desenvolvimento de epidemias. Para espécies de *Colletotrichum*, pelo menos 4 horas de molhamento foliar, são necessárias para que os

esporos germinem e a infecção ocorra. A presença de água livre também é necessária à esporulação e assume importância crucial na disseminação do patógeno, tanto nos processos de liberação, como dispersão (Waller, 1992). Fungos dos gêneros *Colletotrichum* e *Sphaceloma* e algumas bactérias produzem seus propágulos protegidos por uma substância mucilaginosa composta de açúcares e proteínas, cuja finalidade é proteger esporos e talos bacterianos da dessecação. Essa mucilagem impede a disseminação desses propágulos pelo ar e requer água livre para ser dissolvida. A dispersão desses microorganismos é feita, então, pela água da chuva ou irrigação, por meio de respingos formados pelo impacto da gota d'água sobre a superfície esporulante da lesão (Amorim, 1995b). Os respingos originados pelo impacto da gota transportam esporos do patógeno até as superfícies sadias do hospedeiro, quer seja na mesma planta, quer seja em plantas vizinhas.

A comprovação desse mecanismo de transmissão a curtas distâncias para o isolado de *C. gloeosporioides* da cebola foi feita por Chawda & Rajasab (1992) na Índia. Em campos de cultivo atacados pela doença, estes pesquisadores instalaram armadilhas caça-esporos aéreos e armadilhas caça-gotas, de onde coletaram dados por quatro ciclos da cultura. Conídios de *C. gloeosporioides* foram encontrados somente nas armadilhas caça-gotas e a porcentagem de área foliar visivelmente afetada por lesões de antracnose variou de 6 a 30% em diferentes estádios de desenvolvimento do hospedeiro.

Em ensaios conduzidos em laboratório, através da simulação de gotas de chuva, Chawda & Rajasab (1992) observaram que tanto o impacto da gota, como a água de escoamento superficial, liberam eficientemente os conídios de lesões presentes nas folhas ou na haste floral. Também concluíram que os respingos são responsáveis pelo transporte de conídios do solo para as folhas mais baixas, e dessas para as demais folhas. O escoamento superficial se encarrega de transportá-los das lesões foliares para a base das folhas. Assim, a partir de um foco inicial da doença, plantas vizinhas serão infectadas através desses mecanismos, seguindo um gradiente de dispersão ao redor da fonte de inóculo, o que reflete na distribuição da doença em reboleiras (Kimati, 1980; Boff, 1993; Nunes & Kimati, 1997). A doença também pode incidir em área total, como foi relatado

nos anos de 1961 e 1964 nos municípios de Cobobró e Belém do São Francisco, em Pernambuco (Aquino & Wanderley, 1966). A perda de 100% na produção das lavouras pernambucanas foi favorecida devido ao predomínio, na região, de cultivos em quadros com irrigação por inundação. Nesse sistema, basta um único quadro conter o foco da doença, para que lesões esporulantes liberem conídios para água de drenagem que ao ser lançada sobre um novo quadro, dissemina a doença em área total.

Surtos epidêmicos como os de Pernambuco ocorrem quando há combinação favorável de fatores como disponibilidade hídrica, temperatura e alta concentração de inóculo, já que a doença é considerada endêmica no país (Costa et al., 1974; Silva, 1976; Kimati, 1980). Desse modo, a baixa incidência do “Mal-de-Sete-Voltas” nos anos de 1962 e 1963, em Pernambuco, pode ser explicada por variações na disponibilidade hídrica ou na ausência do hospedeiro, reduzindo a concentração do inóculo e restringindo o progresso da doença.

Na ausência do hospedeiro vivo, o patógeno sobrevive de um cultivo ao outro em restos culturais. Chawda & Rajasab (1992) demonstraram que conídios de *C. gloeosporioides* permanecem viáveis por cerca de quatro meses em folhas de cebola mantidas em condições ambiente. Não há relato na literatura a respeito da sobrevivência do patógeno no solo.

Constatação relacionando hospedeiros secundários como fonte de inóculo do patógeno foi feita em Java, em cultivos de cebolinha (*Allium cepa* var. *aggregatum*) (Suhardi, 1993). Em áreas de cultivo comercial infestadas por *C. gloeosporioides* foram encontradas diversas plantas daninhas, mas somente a espécie *Euphorbia hypericifolia* foi infectada pelo patógeno, que foi detectado em cerca de 60% das plantas.

A disseminação da doença a longas distâncias é feita através de sementes e bulbos contaminados. Boff e colaboradores, ao analisarem lotes de sementes comercializadas em Santa Catarina nos anos de 1989, 1991, 1992 e 1993, detectaram a ocorrência do patógeno somente nos anos de 1992 e 1993 (Boff et al., 1995). Com base nestas constatações, os autores atribuíram o aumento da incidência de epidemias de “Mal-de-Sete-Voltas” no Estado de Santa Catarina, a partir de 1993, à utilização de sementes

contaminadas. Os testes de sanidade, como os realizados por Boff et al. (1995) detectam e quantificam o transporte do patógeno pela semente, mas não informam se ocorrerá transmissão do propágulo da semente para a planta. Nenhum estudo foi realizado a fim de determinar a taxa de transmissão de *C. gloeosporioides* da semente para a planta de cebola.

2.4 Controle do “Mal-de-Sete-Voltas”

2.4.1 Resistência varietal de cebola a *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Fontes de resistência ao “Mal-de-Sete-Voltas” são encontradas no germoplasma brasileiro da espécie *Allium cepa*, como na cultivar Barreiro, em algumas populações do segmento Baia (Rocha-Chata e Pera Chata) e na variedade de cebolinha Roxa de Belém (*Allium cepa* var. *aggregatum*). Silva (1976) esclarece que esses materiais sofreram seleção natural local, constituindo populações distintas, adaptadas às condições do meio. Estes materiais coexistiram com a presença endêmica do agente etiológico do “Mal-de-Sete-Voltas”, fato esse que talvez tenha dado origem aos níveis elevados de resistência. A baixa frequência de genes de resistência que havia em cada população inicial foi aumentada, ou seja, a coexistência entre patógeno e hospedeiro permitiu que a seleção elevasse as frequências gênicas, alterando ou combinando genes favoráveis à resistência (Silva, 1976). Os agricultores tiveram papel importante nesse processo de seleção, já que, devido ao costume de produzirem suas próprias sementes, escolhiam os melhores materiais. A cultivar Barreiro é de origem italiana e foi introduzida no Bairro Barreiro por ocasião da fundação da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Esta se tornou a principal fonte de resistência ao “Mal-de-Sete-Voltas” da cebola para uso em programas de melhoramento. As populações pertencentes ao segmento Baia, por sua vez, tiveram origem a partir da cultivar Garrafal, introduzida no Rio Grande do Sul por imigrantes portugueses há mais de um século e mantidas desde então.

O primeiro relato da resistência em cebola ao “Mal-de-Sete-Voltas” foi realizado por Costa e colaboradores no ano de 1973 (Costa et al., 1974). Em dois ensaios conduzidos sob casa-de-vegetação, foram avaliadas 20 cultivares de cebola no estágio juvenil de desenvolvimento. No primeiro ensaio, a inoculação com o patógeno foi feita aos 15 dias após a semeadura e no segundo, aos 2 meses, utilizando, respectivamente, concentrações de 6×10^3 e 6×10^6 esporos/mL. Através da análise visual e da porcentagem de plântulas sobreviventes, os autores determinaram que a cultivar Barreiro, o híbrido Baia x Barreiro, a cebolinha vermelha de São Francisco e seu híbrido com Baia Periforme mostraram resistência ao patógeno, todos com sobrevivência superior a 70%. Segundo os autores, a concentração de 6×10^3 não permitiu distinção entre resistência e suscetibilidade.

Em 1974, na Estação Experimental de Jatinã, no município de Belém do São Francisco (PE), os materiais mais promissores observados no trabalho descrito anteriormente, foram avaliados quanto à resistência em condições de campo. Quatro experimentos foram conduzidos em dois sistemas de cultivo: dois em quadros com irrigação por inundação, e dois no sistema de leirões com irrigação por sulcos de infiltração. Em cada sistema de plantio, um ensaio sofreu inoculação foliar com suspensão do patógeno, e o outro sofreu infestação natural, considerando a presença endêmica do patógeno nessa região. As avaliações foram realizadas durante a colheita por meio das seguintes variáveis: produção de bulbos dentro dos padrões comerciais, porcentagem de plantas saudas, porcentagem de plantas com lesões de antracnose, porcentagem de plantas com lesões e enroscamento foliar e porcentagem de plantas em relação ao “stand” inicial. O trabalho não foi publicado na íntegra, mas foi mencionado que as cultivares Barreiro, o híbrido Baia x Barreiro e a cebolinha Roxa do São Francisco, em ambos ensaios, mostraram-se como promissoras fontes de resistência ao patógeno (Costa et al., 1975).

Silva (1979) avaliou a reação de três variedades de alho-poró (*Allium porrum*) e trinta e sete materiais entre cultivares e híbridos de cebola. Em condições de casa-de-vegetação, plântulas foram inoculadas quinze dias após a semeadura com suspensão de 6

x 10^6 conídios/mL. O critério de avaliação foi baseado no índice de sobrevivência, que expressa os dias de sobrevivência das plântulas após a inoculação. A espécie *A. porrum* foi considerada imune, já que as três variedades testadas não apresentaram qualquer manifestação sintomática da doença. Por outro lado, as cultivares e os híbridos de cebola apresentaram níveis variáveis entre resistência e extrema suscetibilidade. Ao lado da resistência das cultivares Barreiro e Baia, que já haviam sido relatadas, novas fontes de resistência foram determinadas, como as variedades Roxa-Chata e Branca-Chata. Os índices de sobrevivência mais baixos foram observados em materiais estrangeiros, como as cultivares Texas Grano, Excel e o híbrido Granex.

Buscando encontrar variação no índice de resistência de materiais de dias longos, Abreu (1990) testou quarenta populações entre cultivares e híbridos, utilizando a mesma metodologia descrita por Silva (1979). A cultivar Barreiro, utilizada como padrão resistente, obteve o mais alto índice de sobrevivência e os materiais mais promissores foram os híbridos 614 Natumeg, Arad F1 e Galil F1.

Silva (1976), visando estabelecer o modo de herança da resistência, analisou a reação da população parental, do híbrido e das populações segregantes F_2 , F_3 , F_4 e F_5 do cruzamento de uma população suscetível do grupo Baia com a cultivar Barreiro. A metodologia de inoculação foi a mesma descrita anteriormente para seleção de híbridos e cultivares. A avaliação, baseada no critério índice de sobrevivência, mostrou que o híbrido F_1 e as gerações segregantes se constituíram num grupo intermediário entre as duas populações parentais, refletindo a presença de poligenes de resistência. Silva também caracterizou a resistência sob o ponto de vista epidemiológico, transformando a proporção de plantas mortas no tempo em $\log_e 1/(1-x)$. As equações de regressão obtidas indicaram que o progresso da doença para a cultivar Baia foi maior que para a Barreiro. As gerações F_1 e F_2 mostraram progresso intermediário em relação ao parental.

Em três isolados provenientes de regiões distintas, testados em quatro cultivares, não se observou a ocorrência de interação diferencial patógeno-hospedeiro. Apesar do pequeno número de isolados testados, a ordem de classificação das cultivares quanto à resistência foi a mesma observada por Costa et al. (1974; 1975).

A ausência de interação diferencial patógeno-hospedeiro, a redução na taxa de infecção e a distribuição contínua de níveis de resistência nas populações segregantes, em que os pais apresentavam extremos de resistência e suscetibilidade, levaram Silva a postular que a resistência de cebola ao “Mal-de-Sete-Voltas” era de natureza horizontal, segundo os conceitos de Vanderplank (1968). Contudo, a natureza fisiológica da resistência ainda não é conhecida.

Melo & Costa (1983) estudaram a eficiência e o progresso genético após dois ciclos de seleção massal para resistência à doença na população Pira-Ouro (Baia Periforme x Barreiro). Utilizando o critério índice de sobrevivência, as gerações F_1 , F_2 , F_5 , F_6 , F_7 e F_8 foram avaliadas quanto à reação ao patógeno, embora somente as gerações F_7 e F_8 tenham sofrido seleção massal. Os resultados mostraram que a população Pira-Ouro, após dois ciclos de seleção massal, apresentou o dobro de plantas sobreviventes em relação às gerações não selecionadas. Os ganhos obtidos, considerados altos, foram explicados, em parte, devido ao modo de seleção aplicada. Segundo os autores, a seleção massal em cebola é feita antes do florescimento, aproveitando os efeitos genéticos aditivos, havendo contribuição dos dois sexos para o progresso genético total.

Após as constatações de Silva (1976; 1979) e de Melo & Costa (1983), passaram a entrar em prática alguns programas de melhoramento visando à obtenção de variedades comerciais resistentes ao “Mal-de-Sete-Voltas”. O Instituto Pernambucano de Pesquisa Agropecuária (IPA) vem desenvolvendo variedades adaptadas às condições de cultivo do Vale do São Francisco com resistência ao “Mal-de-Sete-Voltas”. O mais recente lançamento é a cultivar Valeouro IPA-11, desenvolvida a partir de uma população segregante originada do cruzamento entre as cultivares Roxa IPA-3 e Belém IPA-9. Esta cultivar foi produzida após oito ciclos de seleção massal, em campos da Estação Experimental de Belém do São Francisco (PE) naturalmente infestados por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* e *Pyrenochaeta terrestris* (Candeia et al., 1997). O Departamento de Genética da ESALQ desenvolveu diversas linhagens com a fonte de resistência da cultivar Barreiro em seu “background” genético.

Apesar desses materiais se mostrarem promissores ao programa de híbridos altamente produtivos do tipo Baia, o nível de resistência que possuem ainda não é conhecido.

Galván et al. (1997) buscaram novas fontes de resistência ao “Mal-de-Sete-Voltas” em espécies selvagens do gênero *Allium*. Foram testados alguns acessos das espécies *A. altaicum*, *A. fistulosum*, *A. galanthum*, *A. oschaninni*, *A. pskemense*, *A. roylei* e também a espécie domesticada *A. cepae*. A metodologia empregada foi diferente daquela utilizada pelos demais autores já citados. As plantas foram inoculadas três meses após a semeadura (após a emissão da 4ª folha verdadeira) e a reação do hospedeiro foi medida por meio de uma escala variando de zero (nenhum sintoma) a 3 (mais que 20 % da área foliar tomada por lesões). Foram utilizados três isolados distintos, provenientes do Brasil, Nigéria e Indonésia. Os acessos de *A. cepa* e *A. oschaninii* foram os mais suscetíveis aos três isolados. Segundo os autores, resistência parcial foi observada nos acessos de *A. altaicum*, *A. fistulosum*, *A. galanthum*, *A. pskemense* e *A. roylei*. Os maiores níveis de resistência foram observados em exemplares de *A. galanthum* e *A. fistulosum*. *A. roylei* mostrou-se altamente resistente ao isolado brasileiro, mas foi altamente suscetível aos isolados da Nigéria e aos da Indonésia.

Empregando metodologia semelhante à de Galván et al. (1997), Assunção et al. (1997) avaliaram a resistência das cultivares IPA-9, IPA-3, IPA-10, IPA-11, Brownsville, IPA-6, Red Creole, Texas Early Grano 502 e Roxinha do Belém, a 15 isolados do patógeno, coletados em áreas produtoras de cebola dos Estados da Bahia e Pernambuco. A inoculação foi feita dois meses após a semeadura, quando as plantas apresentavam a quarta folha verdadeira e as avaliações foram feitas utilizando-se uma escala de notas variando de 0 (ausência de sintomas) a 4 (tombamento e morte da planta). As cultivares mais suscetíveis foram Texas Early Grano 502, Brownsville e Red Creole. Já as cultivares IPA-11, IPA-9 e IPA-3 apresentaram maior resistência aos isolados, segundo a metodologia de avaliação empregada.

2.4.2 Controle químico

A literatura apresenta poucos relatos sobre o controle químico do agente causal do “Mal-de-Sete-Voltas”. A eficiência do princípio ativo benomyl foi demonstrada por Remiro & Kimati (1974) e Wanderley et al. (1975) há mais de vinte anos e, ao longo desse tempo, várias publicações técnicas vêm recomendando a utilização desse produto, como os Guias de Fungicidas Agrícolas (Cardoso et al., 1979; Kimati et al., 1986; 1997) e os Compêndios de Defensivos Agrícolas (Andrei, 1993; 1996). O uso contínuo do benomyl é problemático por poder selecionar mutantes resistentes a esse princípio, como já constatado para *C. gloeosporioides* da manga (Spalding, 1982). Outros princípios ativos vêm sendo testados e dentre eles, o protetor prochloraz apresentou eficiência superior ao benomyl + mancozeb no controle da doença, em aplicações semanais em campos de produção do Estado de Pernambuco (Maranhão et al., 1997).

2.4.3 Medidas gerais de controle

As duas medidas de controle do “Mal-de-Sete-Voltas” até então apresentadas, uso de variedades resistentes e controle químico, são as medidas mais frequentemente utilizadas pelos agricultores. Contudo, se empregadas isoladamente não conferem controle eficiente caso a doença se estabeleça de forma intensa.

A entrada do patógeno em áreas ainda não infestadas pode ser evitada com o uso de sementes sadias, quer seja pela procedência idônea, quer pela erradicação do patógeno por meio do controle químico, o qual pode ser feito pelo próprio agricultor (Ferreira & Kimati, s/d). A entrada do patógeno também pode ser impedida, evitando-se a movimentação de máquinas ou mesmo pessoas entre lavouras, caso em uma delas esteja infestada pelo patógeno.

Se focos da doença forem constatados, tanto no canteiro, como no cultivo definitivo, as plantas ou mudas infectadas devem ser eliminadas, aplicando em seguida, fungicida nas plantas (mudas) adjacentes. Em lavouras onde há reboleira de plantas com

sintomas do “Mal-de-Sete-Voltas”, recomenda-se a interrupção da irrigação por aspersão a fim de evitar a disseminação do patógeno.

Em lavouras onde a doença atingiu proporções epidêmicas, recomenda-se a eliminação de restos culturais e a prática de rotação de cultura por 1 a 3 anos. Ao retornar o cultivo nessas áreas, sugere-se o monitoramento da lavoura para erradicação de focos da doença, bem como a utilização de variedades resistentes. Na Região Sul do País é sugerido, ainda, a antecipação do transplântio como forma de escape à época mais quente (Boff, 1993).

2.5 Utilização de componentes monocíclicos na avaliação do efeito de variáveis ambientais no desenvolvimento de doenças

A ocorrência de epidemias em plantas cultivadas é determinada pela interação entre patógeno, ambiente e hospedeiro e também pela ação do homem, cuja interferência ocorre de acordo com o manejo empregado na cultura (Bergamin Filho, 1995b). Para Sutton (1988), o fator ambiental é o mais importante dentre os demais fatores desta interação, principalmente para as doenças da parte aérea. O ambiente é, na verdade, o regulador da velocidade da epidemia quando inóculo virulento e hospedeiro suscetível estão presentes. As condições ambientais podem determinar o grau de predisposição do hospedeiro, influenciando desde o estabelecimento da doença numa cultura até o desencadeamento da epidemia. Da mesma forma, as variáveis climáticas podem ter efeito direto ou indireto sobre o patógeno, atuando nas várias fases de seu ciclo de vida. Finalmente, a interação hospedeiro x patógeno pode sofrer ação das condições ambientais, o que pode implicar em maior ou menor grau de severidade da doença (Bedendo, 1995).

Entre os fatores meteorológicos que mais afetam o desenvolvimento de doenças estão a temperatura e a umidade (umidade relativa do ar, orvalho e chuva) (Vale & Zambolim, 1996). A temperatura constitui a variável do ambiente mais comumente correlacionada com a incidência e a severidade das doenças de plantas, apresentando um

efeito importante em cada componente biológico do patossistema, influenciando principalmente os períodos de incubação e latência, o crescimento das lesões e a sobrevivência dos patógenos. Para cada patossistema existe um ótimo de temperatura para o crescimento de fitopatógenos e uma temperatura máxima e mínima na qual os fitopatógenos não são capazes de se desenvolver (Vale & Zambolim, 1996). Nas regiões tropicais e subtropicais, no entanto, a umidade tem alta influência nos processos de infecção, esporulação, dispersão e sobrevivência dos patógenos.

O conhecimento dos efeitos da interação entre esses fatores de clima e as diferentes fases do ciclo da doença pode permitir a previsão com maior efetividade não somente da ocorrência das epidemias mas também da taxa de aumento das doenças. Estes efeitos, uma vez bem caracterizados, podem, posteriormente, ser incorporados em simuladores e em modelos de crescimento de determinadas culturas, visando sua utilização em sistemas de manejo de doenças, com base na previsão de danos causados na cultura.

A avaliação do efeito do molhamento e da temperatura no desenvolvimento de doenças foliares pode ser feita no monociclo (Bacchi, 1993; Martins, 1994; Dalla Pria, 1997), que representa os eventos compreendidos dentro de um único ciclo de infecção, ou seja, os processos que ocorrem entre a inoculação e a reprodução do patógeno. A superposição de diversos ciclos de infecção (policiclo) determina o progresso da doença, estabelecendo-se a epidemia (Bergamin Filho, 1995a). Os componentes monocíclicos, por representarem os elos da cadeia de infecção, são tão influenciados pelas variáveis umidade e temperatura quanto a epidemia como um todo, justificando, assim, a utilização desses componentes na avaliação da interação ambiente-patógeno-hospedeiro (Bergamin Filho & Amorim, 1996). Além de seu uso na determinação do efeito de variáveis climáticas no progresso de doenças, os componentes monocíclicos também são usados para avaliar a resistência do hospedeiro, principalmente a resistência horizontal (Parlevliet, 1979; 1993).

Os componentes monocíclicos mais utilizados em estudos epidemiológicos, são: período de incubação, período latente, frequência de infecção, esporulação, tamanho de

lesão e variáveis correlatas como taxa de crescimento de lesão e severidade (Parlevliet 1979; Amorim, 1995a). A seguir estão descritos cada componente:

Período de incubação: período de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas;

Período latente: período de tempo entre a inoculação e a produção de esporos;

Frequência de infecção: número de lesões produzidas por unidade de área, a partir de uma concentração conhecida de inóculo;

Esporulação: número de esporos produzidos por unidade de área de tecido afetado e/ou por unidade de tempo;

Período infeccioso: tempo em que as lesões permanecem esporulantes;

Tamanho de lesão e taxa de crescimento de lesão: correspondem à área final e à velocidade de incremento na área lesionada, respectivamente;

Severidade: porcentagem da área ou volume de tecido coberto por sintomas.

A temperatura tem mostrado, em diferentes patossistemas, grande influência nos períodos de incubação e de latência, na frequência de infecção, tamanho de lesão e na severidade. Já a umidade mostra maior efeito na frequência de infecção, esporulação e período infeccioso (Rotem et al., 1978; Rotem, 1978).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e manutenção dos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Foram obtidos seis isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* a partir de plantas de cebola com sintomas típicos do “Mal-de-Sete-Voltas”. A denominação adotada para cada isolado e sua procedência estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Denominação e procedência dos isolados de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* utilizados nos experimentos.

Isolado	Procedência
1	Monte Alto/SP
2	São José do Rio Pardo/SP
3	Brasília/DF
4	Piracicaba/SP
5	Belém do São Francisco/PE
6	Divinolândia/SP

O isolamento inicial foi feito a partir de lesões foliares esporulantes. Partes de tecido lesionado permaneceram em câmara úmida por 12 horas sob luz constante e temperatura ambiente (+/- 25 °C), a fim de favorecer a esporulação e facilitar o isolamento. Com auxílio de agulha histológica, porções da massa mucilaginosa desenvolvida sobre acérvulos do fungo foram retiradas e transferidas para placas de Petri

contendo meio ágar-água. As placas foram mantidas a 25 °C e luz contínua por três dias, quando foi possível a visualização do crescimento micelial. Discos dos bordos das colônias desenvolvidas em ágar-água foram repicados para o meio de aveia-ágar (40 g de farinha de aveia, 18 g de ágar e 1000 mL de água), o qual favoreceu o crescimento micelial e a esporulação. Durante todo o período de realização dos ensaios, os isolados foram mantidos em placas de Petri contendo meio de aveia, a 25 °C e luz constante. Procurou-se manter a infectividade dos isolados por meio da inoculação de suspensão de conídios em plantas sadias da variedade suscetível Brownsville e posterior reisolamento do patógeno a partir de lesões foliares. Esse procedimento foi realizado após intervalos de dois meses de cultivo “in vitro”.

3.2 Avaliação do efeito da temperatura no crescimento micelial de isolados de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Foram realizados dois ensaios a fim de avaliar o efeito da temperatura no crescimento micelial do patógeno. No primeiro ensaio foram avaliados os isolados 1, 2, 3 e 4 e no segundo foram avaliados os mesmos isolados, além dos números 5 e 6.

Discos dos bordos de colônias fúngicas de sete dias de idade foram repicados para o centro de placas de Petri contendo meio de aveia. As placas foram incubadas no escuro, sob as temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições no primeiro ensaio e três repetições no segundo. Cada repetição foi composta por uma placa de Petri. As avaliações foram iniciadas a partir do terceiro dia após a instalação dos ensaios e se constituíram na medida diária do diâmetro da colônia, com auxílio de régua. Em cada avaliação foram tomadas duas medidas do diâmetro, perpendiculares entre si, para que se atenuasse possíveis erros devido ao crescimento irregular das colônias. Para a análise dos resultados foram considerados os valores médios das duas leituras (diâmetros médios). As avaliações se estenderam até que as colônias incubadas a 15 °C atingissem o bordo da placa.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por meio de regressões não-lineares, utilizando o programa STATISTICA para Windows versão 5.0 (Statsoft, Tulsa, E.U.A.). Com os diâmetros médios de cada repetição, foram estabelecidas curvas de progresso do crescimento micelial ao longo do tempo, para cada isolado, em cada temperatura. As curvas foram ajustadas segundo o modelo de Gompertz: $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = diâmetro médio das colônias (cm), B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial, B_3 = taxa de crescimento micelial e X = tempo (em dias após a repicagem). O valor de B_1 foi fixado em 8,6 cm e 8,4 cm nos ensaios 1 e 2, respectivamente. Esses valores são referentes ao diâmetro da placa de Petri, descontando o diâmetro do disco de micélio. Com os valores da taxa de crescimento micelial (parâmetro B_3 do modelo de Gompertz) foram estabelecidas, para cada isolado, curvas da taxa de crescimento micelial em função da temperatura. Os pontos foram melhor ajustados pela função Beta generalizada, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, descrita por Hau & Kranz (1990), onde os parâmetros B_2 e B_3 representam as temperaturas mínima e máxima, respectivamente, Y representa a taxa de crescimento e X , a temperatura. Os parâmetros B_1 , B_4 e B_5 são parâmetros do próprio modelo e não possuem significado biológico. Para obter o melhor ajuste aos pontos, foram adotadas as temperaturas de 5 °C e 40 °C como valores iniciais dos parâmetros B_2 e B_3 .

3.3 Avaliação do efeito da temperatura e do período de molhamento na infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

3.3.1 Cultivo do hospedeiro

Os ensaios foram realizados no primeiro semestre dos anos de 1997 e 1998. Como a cebola responde sensivelmente ao fotoperíodo, o plantio foi feito na época de cultivo comercial da cultura no Estado de São Paulo. Assim, nos dois anos de experimentação, a semeadura foi feita após a segunda quinzena do mês de fevereiro.

Foram utilizadas duas variedades de cebola, IPA-9 e Brownsville. A variedade IPA-9 é um material de dias curtos, desenvolvido pelo Instituto Pernambucano de Pesquisa Agropecuária (IPA). É resultado de diversos ciclos de seleção massal para resistência ao “Mal-de-Sete-Voltas”. Brownsville também é uma variedade de dias curtos, porém seu melhoramento ocorreu na América do Norte, na ausência do agente causal da doença, configurando maior suscetibilidade ao patógeno.

Tanto a produção de mudas, como o posterior cultivo em vasos foram conduzidos em casa-de-vegetação. As mudas foram produzidas em bandejas de isopor de 128 células preenchidas com substrato Plantmax. Cerca de 45-50 dias após a semeadura as mudas foram transplantadas para vasos de alumínio preenchidos com 2,5 L de solo esterilizado (mistura de esterco de curral, areia e solo argiloso, na proporção de 1,5 : 1,0 : 3,0, respectivamente).

3.3.2 Preparo do inóculo e inoculação

Todos os ensaios foram realizados com o isolado 1. Para se obter abundante esporulação do fungo, preparou-se suspensão de conídios a partir da massa mucilaginosa formada pelas colônias mantidas em meio de aveia. Uma alíquota dessa suspensão (0,2 mL) foi colocada em novas placas com meio de aveia e espalhada com alça de Drigalski. Após duas semanas de incubação, verificou-se, por toda a placa, o desenvolvimento de colônias alaranjadas referente à formação da matriz mucilaginosa envolvendo os conídios. A partir dessas placas preparou-se suspensão de esporos à qual foi adicionado espalhante adesivo Tween 20 (1 gota/100mL). A concentração de conídios foi calibrada para 10^6 conídios/mL, após contagem de esporos em câmara de Neubauer.

As plantas foram inoculadas por aspersão da suspensão de conídios pela superfície de todas as folhas, até o ponto de escorrimento superficial. As plantas testemunha foram inoculadas com água acrescida de Tween 20 (1 gota/100mL).

3.3.3 Avaliação do efeito da temperatura na infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

Após a inoculação, as plantas foram cobertas individualmente com sacos plásticos transparentes e umedecidos e estes, amarrados próximo à base dos vasos para a formação de câmara úmida. A seguir, as plantas foram colocadas em câmaras de crescimento Conviron®, modelo E7, reguladas para fotoperíodo de 12 horas e temperaturas constantes de 15, 20, 25 e 30 °C. Passadas 24 horas após a inoculação, os sacos plásticos foram retirados e as plantas permaneceram nas câmaras de crescimento sob as mesmas temperaturas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com oito e quatro repetições no primeiro e segundo ensaios, respectivamente. Cada parcela experimental foi composta por um vaso, este contendo uma planta. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de regressões não-lineares, utilizando o programa STATISTICA para Windows versão 5.0 (Statsoft, Tulsa, E.U.A.). Os ajustes aos dados foram feitos pelo modelo de Gompertz, $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = componente avaliado, X = temperatura, B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial e B_3 = taxa de crescimento e pelo modelo Beta generalizado, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, descrito por Hau & Kranz (1990), onde os parâmetros B_2 e B_3 representam as temperaturas mínima e máxima, respectivamente, Y = parâmetro avaliado e X = temperatura. Os parâmetros B_1 , B_4 e B_5 são parâmetros do próprio modelo e não possuem significado biológico.

3.3.3.1 Componentes monocíclicos avaliados

a) Período de incubação e frequência de infecção

O período de incubação representa o tempo (em dias) decorrido entre a inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas da doença. Todas as plantas foram examinadas todos os dias, a partir da retirada da câmara úmida, para a determinação do período de incubação em cada temperatura. A frequência de infecção foi determinada por meio da contagem do número de lesões em todas as folhas. No primeiro ensaio foram feitas duas avaliações, uma no 6º e outra no 12º dia após a inoculação. No segundo ensaio foram feitas cinco avaliações, a primeira após o surgimento das lesões e as demais a cada intervalo de 48 horas. A partir da frequência de infecção em cada folha, calculou-se a frequência média de infecção por planta e então a frequência média de infecção por tratamento. Para cada avaliação foram construídos gráficos da frequência média de infecção em função da temperatura, para análise visual dos resultados. A função Beta generalizada (descrita no item 3.3.3) foi ajustada por meio de regressão não-linear aos dados da segunda avaliação, realizada no 6º dia após a inoculação.

b) Tamanho de lesão

O componente tamanho de lesão constituiu-se na medida do comprimento da lesão, com auxílio de régua, numa única avaliação realizada no 12º dia após inoculação. As lesões foliares causadas por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* têm formato elíptico, cujo comprimento se desenvolve no sentido longitudinal da folha. Também foi observado, em exames preliminares, que o crescimento da lesão é mais acelerado no sentido de seu comprimento. Foram medidas somente as lesões que mantiveram o formato elíptico característico, já que com o decorrer do desenvolvimento da doença muitas lesões coalesceram ou deram origem a tecido danificado (clorótico, seco ou murcho) na região que as cercava, impedindo a distinção do comprimento real de cada lesão. Por esse

motivo, o número de lesões que tiveram seu comprimento medido variou de 5 a 15 por tratamento. A partir do comprimento médio das lesões de cada folha calculou-se o comprimento médio por planta e então o comprimento médio por tratamento. Os valores máximos de comprimento de lesão foram considerados como 100% e os demais foram calculados a partir desse valor. Os dados de comprimento relativo de lesão dos ensaios 1 e 2 foram ajustados conjuntamente pelo modelo de Gompertz, descrito em 3.3.3.

c) Severidade

O terceiro componente, a severidade, foi avaliado no 12º dia após a inoculação quando as folhas atingidas mais intensamente pelo patógeno passaram a apresentar 100% de área foliar danificada. Considerou-se severidade, a porcentagem de área foliar danificada pelo patógeno em relação à área foliar total. Para a estimativa de severidade, mediu-se a área foliar das plantas e a área danificada.

Para determinação da área foliar, as plantas tiveram suas folhas cortadas na altura da inserção com a bainha com auxílio de estilete. A área de cada folha foi medida com um medidor de área foliar LI-COR® (modelo LI-3000A) e, devido à estrutura tubular das folhas de cebola, as mesmas foram achatadas com um cilindro antes de serem submetidas à determinação de suas áreas. A área foliar foi calculada como sendo o dobro da área medida pelo equipamento.

As lesões foliares, bem como trechos de tecido danificado indiretamente pelo patógeno foram copiados para filmes plásticos transparentes e a área da figura foi medida com o medidor de área foliar já mencionado. Quando o limbo foliar foi inteiramente danificado pelo patógeno, sua área foi estimada com o valor da área de outra folha de mesma idade, extraída de outra planta de mesmo porte. Adotou-se este procedimento em razão da deformação e fragilidade das folhas completamente necrosadas, que impediram a avaliação de sua área com a metodologia utilizada neste ensaio. Todas as folhas foram avaliadas, exceto as duas mais velhas. Estas já se encontravam em processo natural de senescência no momento da avaliação.

Foi calculada a severidade por planta e em seguida a severidade média por tratamento. Para comparação entre os dois ensaios, os dados de severidade média foram transformados em severidade relativa. Os máximos valores de severidade foram considerados como 100% e os demais foram calculados a partir desse valor. Os dados de severidade relativa dos dois ensaios foram ajustados conjuntamente pelo modelo de Gompertz, já descrito no item 3.3.3.

3.3.4 Avaliação do efeito do período de molhamento na infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

Foram conduzidos dois ensaios a fim de avaliar o efeito do período de molhamento na infecção e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”. A idade do hospedeiro era de 4 meses para o primeiro ensaio e 4 meses e uma semana para o segundo ensaio.

No primeiro ensaio foram testados os períodos de 0, 2, 4, 8 e 12 horas de molhamento e no segundo, os períodos de 0, 2, 8, 12 e 24 horas de molhamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 repetições para cada variedade. Cada parcela experimental foi composta por 1 vaso contendo 1 planta.

Após a inoculação, cada planta foi coberta com saco plástico transparente, os quais foram presos próximo à base do vaso para formação de câmara úmida. Em seguida as plantas foram colocadas em câmaras de crescimento reguladas para fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C. Os diferentes períodos de molhamento foram conseguidos com a retirada das câmaras úmidas após o período desejado. O período de zero horas de molhamento correspondeu à ausência de câmara úmida após a inoculação.

No primeiro ensaio as plantas foram incubadas em câmaras de crescimento Conviron® modelo E7 e no segundo, em uma única câmara, modelo PGW 36. Esta última foi ajustada para o funcionamento de dois níveis de luz fluorescente e dois níveis de luz

incandescente. Esse procedimento foi adotado para que intensidade luminosa provida pelo modelo PGW 36 fosse a mesma daquela do modelo E7.

3.3.4.1 Componentes monocíclicos avaliados

Os mesmos componentes monocíclicos descritos em 3.3.3.1 foram avaliados, seguindo mesma metodologia, exceto a frequência de infecção, que foi quantificada em três avaliações, realizadas a intervalos de 96 horas. Os dados foram analisados pela correlação entre cada componente monocíclico e os diferentes períodos de molhamento, utilizando o coeficiente de Pearson. Foram construídos gráficos de frequência média de infecção, comprimento médio relativo de lesão e severidade média relativa em função do período de molhamento.

3.4 Avaliação do transporte de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* via semente

3.4.1 Obtenção de sementes infectadas por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Foram avaliadas duas fontes distintas de sementes infectadas pelo patógeno. Numa, umbelas de cebola foram produzidas em casa-de-vegetação e, na fase de formação de sementes, foram inoculadas com suspensão de conídios. A segunda fonte foi obtida de campos de cultivo comercial de sementes onde houve registro da ocorrência da doença.

3.4.1.1 Cultivo de hastes florais de cebola e inoculação das inflorescências

Plantas das variedades IPA-9, IPA-10 e Régia, de 3 meses de idade, foram cedidas pela Estação Experimental da SVS do BRASIL. As plantas foram originadas de bulbos vernalizados (para induzir a formação da haste floral) e cultivadas em número de

duas por vaso plástico de 10 L de capacidade, em casa-de-vegetação. Após a transferência para Piracicaba, o cultivo continuou a ser feito em casa-de-vegetação.

As inoculações tiveram início cerca de 20 dias após a fase de polinização, o que corresponde a um período intermediário entre os estádios de “grão pastoso” e de escurecimento do tegumento (Brewster, 1994). Optou-se por iniciar as inoculações nessa época para evitar que o fungo danificasse intensamente as umbelas florais e não fosse possível a formação de sementes. Foram feitas 4 inoculações de suspensão de conídios de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*, na concentração de 10^6 esporos/mL, em intervalos semanais. O preparo do inóculo seguiu os mesmos passos descritos no item 3.3.2, utilizando o isolado 1. As umbelas foram inoculadas com pulverizador manual até a fase de escorrimento superficial. Imediatamente após a inoculação, as umbelas foram cobertas com saco plástico transparente para formação de câmara úmida. A inoculação foi feita no final da tarde e a câmara úmida foi mantida até a manhã seguinte, quando foi retirada para evitar temperatura demasiadamente alta e conseqüente prejuízo tanto no desenvolvimento de sementes quanto na infecção pelo patógeno. Foram inoculados dois vasos de cada variedade e, como testemunha, dois vasos de cada variedade foram inoculados com água destilada acrescida de Tween 20 (1 gota/100mL).

Após a maturação, as umbelas foram colhidas e as sementes separadas manualmente das cápsulas florais. As sementes foram separadas em seis lotes: três lotes de sementes inoculadas, cada um referente a uma variedade e três lotes inoculados somente com água, um para cada variedade.

3.4.1.2 Sementes provenientes de campos de produção comercial

Amostras de 15 g de lotes das variedades Crioula e Baia Periforme foram enviadas pelo Prof. Dr. Carlos Roberto Pierobom, da Universidade Federal de Pelotas, RS. As sementes foram provenientes de campos comerciais de produção de sementes da região de Bagé, RS, onde foi registrada a ocorrência de epidemia do “Mal-de-Sete-Voltas”.

3.4.2 Teste de sanidade

Foram utilizadas três metodologias distintas de avaliação de sanidade de sementes: o teste em papel de filtro (Neergard, 1979), o teste em BDA (Koch & Moraes, 1993) e o teste de sanidade em meio de aveia (Boff et al., 1995). Antes da avaliação da sanidade, no entanto, metade das sementes de cada lote passou por desinfestação superficial em solução de hipoclorito de sódio diluído (concentração final de 1%), por 3 minutos. A outra metade foi tratada somente com água destilada, também por 3 minutos.

Os seis lotes produzidos em casa-de-vegetação foram analisados pelo teste em BDA. Após a desinfestação, as sementes foram colocadas em placas de Petri contendo meio BDA. Para cada lote foram plaqueadas 100 sementes tratadas com hipoclorito e 100 tratadas com água destilada, divididas em duas repetições para cada tratamento. Cada repetição foi composta por 5 placas de Petri com 10 sementes. As placas foram incubadas em câmara Conviron® modelo E7, ajustada para temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita após 72 horas de incubação. As colônias formadas foram observadas com auxílio de microscópio estereoscópio e microscópio óptico. A certificação de que o microorganismo observado era o agente causal do “Mal-de-Sete-Voltas” foi obtida com a repicagem e cultivo das colônias em meio de aveia e posterior inoculação de suspensão de conídios em plantas de cebola, para a observação de lesões foliares do patógeno.

As amostras provenientes do Rio Grande do Sul foram analisadas primeiramente pelo teste do papel de filtro e em seguida pelo teste em meio de aveia. No teste em papel de filtro, 25 sementes foram colocadas uma placa de Petri contendo duas folhas de papel de filtro umedecidas em água destilada. Para cada um dos quatro lotes foram plaqueadas 200 sementes desinfestadas em hipoclorito e 200 sementes tratadas com água destilada. As placas foram incubadas em câmara BOD regulada para temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita após sete dias de incubação, com auxílio de microscópio estereoscópio e microscópio óptico. Para o teste em meio de aveia, as sementes foram colocadas em placas de Petri contendo o meio de aveia, em número de

10 sementes por placa. As placas foram incubadas a 25 °C em câmaras de crescimento Conviron®, sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita no 3º dia após o plaqueamento, com auxílio de microscópio estereoscópio e microscópio óptico.

3.4.3 Teste de transmissão semente-plântula

O teste de transmissão semente-plântula foi realizado somente para os lotes de sementes produzidos em casa-de-vegetação, segundo metodologia descrita por Neergard (1979). Foram avaliadas 200 sementes por lote: 100 sementes desinfestadas em hipoclorito de sódio diluído (concentração final 1%) por 3 minutos e 100 sementes tratadas com água destilada por 3 minutos. Cada semente foi colocada em um tubo de ensaio (16 x 150 mm) contendo 10 mL de ágar-água. Os tubos foram vedados com tampão de espuma e colocados em suportes metálicos para se manterem na posição vertical. Em seguida foram incubados em câmara de crescimento Conviron®, modelo E7, ajustada para 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias aproximadamente. Foi avaliado o número de plântulas com sintomas da doença.

4 RESULTADOS

4.1 Efeito da temperatura no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*

O efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento micelial de isolados de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* foi descrito pela função Beta generalizada (Figura 1). Houve efeito significativo da temperatura sobre a taxa de crescimento para todos os isolados avaliados. Observou-se que com o aumento da temperatura houve incremento na taxa de crescimento micelial até 30 °C aproximadamente, a partir da qual a taxa decresceu de forma acentuada (Figura 1). Não houve crescimento micelial a 40 °C, razão pela qual essa temperatura não foi incluída na análise estatística. A 35 °C somente os isolados 1, 4 e 6 apresentaram crescimento, porém com taxa bastante inferior às observadas nas demais temperaturas. A temperatura mínima do crescimento micelial estimada pelo modelo variou entre 3,9 e 8 °C e a máxima ficou entre 35 e 36 °C (Tabela 2), de acordo com o isolado. Todos os parâmetros estimados pelo modelo Beta generalizado estão listados na Tabela 2.

Figura 1 - Progresso da taxa de crescimento micelial “in vitro” em função da temperatura dos isolados 1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E) e 6(F) no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). R^2 representa o coeficiente de determinação.

Tabela 2 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo Beta generalizado, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, onde Y = taxa de crescimento micelial, X = temperatura, B_2 e B_3 = temperaturas mínima e máxima de crescimento micelial, respectivamente e B_1 , B_4 e B_5 = parâmetros sem significado biológico para seis isolados de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

Isolados	Parâmetros do modelo Beta generalizado					R^2
	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	
1	0,0199	8,0	35	0,81	0,34	0,96
2	0,0011	4,7	35	1,53	0,62	0,99
3	0,0017	5,5	35	1,43	0,62	0,96
4	0,0331	7,8	35	0,73	0,24	0,98
5	0,0004	4,7	35	1,74	0,81	0,97
6	0,0003	3,9	36	1,74	0,92	0,99

4.2 Efeito da temperatura na infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

O efeito da temperatura na frequência de infecção está representado na Figura 2, onde estão expostos os resultados de diversas avaliações realizadas ao longo do tempo. Embora as temperaturas de 25 e 30 °C tenham apresentado a maior frequência de infecção no sexto dia após a inoculação, o número de lesões diminuiu ao longo do tempo, ao contrário do que aconteceu nas temperaturas de 15 e 20 °C, as quais mostraram um ligeiro aumento no número de lesões. Este comportamento foi observado nos dois ensaios, para as duas variedades. A redução da frequência de infecção ocorreu devido ao crescimento e conseqüente coalescimento das lesões, demonstrando que o progresso da doença nos tecidos infectados é mais acelerado a 25 e 30 °C que a 15 e 20 °C. Nestas temperaturas mais baixas, o número de lesões apresentou um ligeiro aumento ao longo das avaliações em razão do maior período de incubação e do menor coalescimento.

Figura 2 - Efeito da temperatura na frequência média de infecção de *C. gloeosporioides* f. *sp. cepae* em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A, C, E, G, I) e Brownsville (B, D, F, H, J) no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios, para avaliações realizadas no 4º (A-B), 6º (C-D), 8º (E-F), 10º (G-H) e 12º (I-J) dias após inoculação e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de determinação.

O ajuste ao modelo Beta generalizado foi feito somente para os dados do 6º dia após a inoculação (Figura 2 C, D), por ter sido a data em que observou-se maior número de lesões e menor ocorrência de coalescimento, conferindo assim, melhor representação da frequência de infecção. Apesar dos baixos valores dos coeficientes de determinação (Tabela 3), o ajuste foi apresentado para a comparação entre a faixa de temperatura favorável ao crescimento micelial (Figura 1 e Tabela 2) e a faixa favorável à ocorrência de infecção (Figura 2 C, D e Tabela 3).

Tabela 3 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo Beta generalizado, $Y = B_1 ((X-B_2)^{B_4}) ((B_3-X)^{B_5})$, onde Y = frequência de infecção, X = temperatura, B_2 e B_3 = temperaturas mínima e máxima para infecção, respectivamente e B_1 , B_4 e B_5 = parâmetros sem significado biológico para o ajuste conjunto dos dados referentes ao sexto dia após a inoculação dos ensaios 1 e 2, realizados com as variedades IPA-9 e Brownsville.

Variedade	Parâmetros do modelo Beta generalizado					R^2
	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	
IPA-9	0,030	15	31	1,7	0,85	0,72
Brownsville	0,016	15	33	1,7	0,71	0,57

Independentemente da variedade, as primeiras lesões foram observadas no quarto dia após a inoculação, tanto em plantas mantidas a 25 quanto naquelas a 30 °C, ou seja, ambas apresentaram o mesmo período de incubação. Desde o início, as lesões apresentaram formato elíptico e o tecido, coloração esbranquiçada. Vinte e quatro horas após o aparecimento, as lesões atingiram aproximadamente o dobro de seu comprimento inicial, o tecido lesionado tornou-se deprimido, de coloração parda e com a presença de acérvulos dispostos em anéis concêntricos. Nas plantas mantidas a 20 °C, as primeiras lesões surgiram no 6º dia após a inoculação e naquelas mantidas a 15 °C, as primeiras

lesões foram observadas no 7º dia após a inoculação. Em todas as temperaturas testadas as lesões apresentaram formato elíptico característico, contendo esporulação do patógeno. Sob as temperaturas de 25 e 30 °C estas características das lesões puderam ser observadas somente nas folhas que não apresentaram coalescimento intenso.

O comprimento das lesões mostrou relação positiva com a temperatura (Figura 3). O ajuste dos dados foi feito pelo modelo de Gompertz, cujos parâmetros estimados encontram-se na Tabela 4. Na figura 3B observa-se que apesar da relação positiva entre comprimento de lesão e temperatura, o coeficiente de determinação foi baixo, principalmente em razão da diferença entre os resultados dos ensaios 1 e 2. O ajuste dos dados pelo modelo de Gompertz para os ensaios 1 e 2 separadamente apresentou coeficientes de determinação superiores a 0,9. Na variedade IPA-9 o comprimento de lesão foi pouco influenciado por temperaturas superiores a 20 °C embora isso não tenha sido observado na variedade Brownsville.

A temperatura também apresentou efeito significativo sobre a severidade da doença e este efeito foi bem representado pelo modelo de Gompertz (Figura 4 e Tabela 5). Para a variedade Brownsville (Figura 4B), a temperatura de 30 °C mostrou efeito mais pronunciado que 25 °C, enquanto que na variedade IPA-9 (Figura 4A) as severidades foram similares nestas duas temperaturas. A magnitude do erro padrão, principalmente para as temperaturas de 25 e 30 °C (Figura 4), expressa a grande variação dos valores de severidade observados dentro de um mesmo tratamento.

Apesar da idade da folha não ter sido considerada na quantificação de cada componente monocíclico, observou-se maior número de lesões e maior intensidade de coalescimento nas folhas mais velhas, para todas as temperaturas testadas. Notou-se que a partir da lesão ou das lesões coalescidas, o tecido adjacente, em direção à ponta da folha, tornava-se clorótico e rapidamente (cerca de 24 horas) secava. O tecido localizado entre a área lesionada e a inserção com a bainha foliar permanecia sadio. Essa sintomatologia foi observada mais intensamente sob as temperaturas de 25 e 30 °C.

Figura 3 – Comprimento médio relativo de lesões (%) causadas por *C. gloeosporioides* f. *sp. cepae* em função da temperatura em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B) no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de determinação.

Tabela 4 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz, $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = comprimento de lesão, B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial, B_3 = taxa de crescimento e X = temperatura para os ajustes realizados com dados conjuntos dos ensaios 1 e 2, para as variedades IPA-9 e Brownsville.

Variedades	Parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz			R^2
	B_1	B_2	B_3	
IPA-9	53,13	13472,00	0,57	0.98
Brownsville	67,53	9,89	0,14	0.57

Quando a infecção pelo patógeno ocorria junto à região da bainha foliar, toda a folha entrava em senescência da mesma maneira descrita anteriormente. Assim, a quantidade de folhas que apresentou lesão na bainha foliar determinou a maior ou menor severidade da planta, explicando, em parte, a amplitude dos valores de erro padrão.

Sob as temperaturas de 25 e 30 °C notou-se, em ambas variedades, que algumas plantas apresentaram estiolamento e retorcimento foliar. Esses sintomas foram observados somente entre as quatro folhas mais novas, mesmo estas não apresentando lesões do patógeno.

Figura 4 - Severidade média relativa do “Mal-de-Sete-Voltas” em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B) submetidas a diferentes temperaturas no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios e modelo de ajuste (linhas). Barras representam o erro padrão da média. R^2 representa o coeficiente de determinação.

Tabela 5 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz, $Y = B_1 \exp(-B_2 \exp(-B_3 X))$, onde Y = severidade, B_1 = estimativa da assíntota máxima, B_2 = parâmetro relacionado ao inóculo inicial, B_3 = taxa de crescimento e X = temperatura para os ajustes feitos com dados conjuntos de 2 ensaios realizados com as variedades IPA-9 e Brownsville.

Variedades	Parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz			R^2
	B_1	B_2	B_3	
IPA-9	37,92	33442,50	0,49	0,96
Brownsville	143,97	27,28	0,11	0,83

4.3 Efeito do período de molhamento na infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

A frequência de infecção não foi influenciada pela duração do período de molhamento, uma vez que esses dois componentes não apresentaram correlação (Figura 5). Os coeficientes de correlação de Pearson, para as três avaliações, variaram de $R = -0,12$ a $R = 0,24$ para IPA-9 e de $R = 0,18$ a $0,77$ para Brownsville, todos não significativos a 5% de probabilidade. Pode-se observar que ao longo das avaliações o número de lesões decresceu, demonstrando a coalescência de lesões, assim como foi verificado na avaliação do efeito de temperatura (item 4.2).

Houve aparecimento de lesões mesmo no período de zero horas de molhamento, nas duas variedades, em decorrência do método de inoculação, ou seja, da utilização de suspensão de conídios em água. No tratamento zero horas de molhamento, o filme de água formado com a inoculação, mesmo tendo duração menor que nos demais tratamentos, permaneceu por tempo suficiente para o patógeno causar infecção.

Figura 5 - Efeito do período de molhamento sobre a frequência média de infecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A, C, E) e Brownsville (B, D, F) no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios, para avaliações realizadas no 4º (A-B), 8º (C-D) e 12º (E-F) dias após a inoculação. Barras representam erro padrão da média.

O comprimento de lesão também não apresentou correlação com diferentes períodos de molhamento (Figura 6). A análise de independência dos dados conjuntos dos ensaios 1 e 2, determinada pelos coeficientes de correlação de Pearson ($R = 0,57$ para IPA-9 e $R = 0,42$ para Brownsville), mostrou resultados não significativos a 5% de probabilidade.

Ausência de correlação também foi observada para os dados de severidade em função do período de molhamento (Figura 7). Tanto a análise separada dos dados dos ensaios 1 e 2, quanto a análise conjunta dos dados de ambos ensaios, determinaram coeficientes de correlação de Pearson ($R = -0,29$ para IPA-9 e $R = 0,15$ para Brownsville) não significativos a 5% de probabilidade.

O mesmo quadro sintomatológico descrito no item 4.2 para a temperatura de 25 °C foi observado nos ensaios de avaliação do efeito do período de molhamento. Novamente foi observado elevada magnitude do erro padrão da média (Figura 7) para o componente severidade, tanto na variedade IPA-9 como na Brownsville.

Figura 6 - Comprimento médio relativo de lesões causadas por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* em função do período de molhamento, em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B), no primeiro (círculos cheios) e segundo (círculos vazios) ensaios. Barras representam erro padrão da média.

Figura 7 - Severidade média relativa do “Mal-de-Sete-Voltas” em plantas de cebola das variedades IPA-9 (A) e Brownsville (B), submetidas a diferentes períodos de molhamento, no primeiro (círculos cheios) e no segundo (círculos vazios) ensaios. Barras representam o erro padrão da média.

4.4 Avaliação do transporte de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* via semente

Dentre os lotes produzidos em casa-de-vegetação, o patógeno foi detectado somente no lote da variedade IPA-10. Das 200 sementes avaliadas, três delas deram origem a colônias de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*, o que correspondeu a 1,5% de sementes contendo estruturas do patógeno. Dentre estas, duas pertenciam às sementes que foram desinfestadas em hipoclorito de sódio e uma às sementes tratadas somente em água destilada. As plantas que foram inoculadas com suspensão de conídios (produzidos em meio de aveia após a repicagem das colônias originadas nas sementes), desenvolveram lesões típicas do patógeno. As sementes dos quatro lotes provenientes de campos comerciais do Rio Grande do Sul não deram origem a colônias do patógeno, nas três metodologias utilizadas.

No teste de transmissão semente-plântula, realizado para os lotes produzidos em casa-de-vegetação, somente uma semente, do lote da variedade IPA-10, apresentou estrutura do patógeno (massa mucilaginosa), mas não germinou. As demais sementes deste lote germinaram e produziram plântulas saudáveis. Os lotes das variedades IPA-9 e Régia apresentaram 92 e 93% de germinação, respectivamente, e não foi constatada a ocorrência do patógeno.

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito de variáveis ambientais no crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* e no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas”

5.1.1 Temperatura

Dodd et al. (1992), ao reunirem informações sobre a epidemiologia de *C. gloeosporioides* nos trópicos, concluíram que a temperatura ótima para o crescimento dessa espécie está ao redor de 25 °C, informação que está de acordo com os resultados obtidos nos ensaios “in vitro” e “in vivo”. No trabalho de Wilson et al. (1990) com *C. acutatum*, agente causal da antracnose em morango, foi demonstrado que as temperaturas ótima, máxima e mínima para o crescimento micelial desse patógeno estão bastante próximas das determinadas para *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Considerando os patógenos foliares de cebola, sem contudo mencionar o agente causal do “Mal-de-Sete-Voltas”, Maude (1998) relata que a faixa ótima de temperatura para o crescimento “in vitro” dos patógenos que predominam em regiões de clima quente está entre 24 e 37 °C.

Neste trabalho, a taxa de crescimento micelial é ótima desde 20 até 30 °C. O parâmetro B_5 da equação Beta generalizada está relacionado à amplitude da temperatura ótima, e, quanto menor o valor do parâmetro, maior a amplitude ótima (Bassanezi et al., 1998). O valor de B_5 variou de 0,24 a 0,92 (Tabela 2), mostrando que o crescimento micelial máximo ocorre numa ampla faixa de temperatura.

O intervalo de temperatura favorável ao crescimento micelial é maior que aquele onde há infecção. Na temperatura de 15 °C (Figura 1), por exemplo, a taxa de crescimento

micelial é elevada, mas a frequência de infecção (Figura 2) é muito baixa. Os parâmetros B_2 e B_3 da equação Beta generalizada, que representam as temperaturas máxima e mínima de crescimento micelial, respectivamente, revelaram valores de 4,9 °C para B_2 e 36 °C para B_3 (Tabela 2), ao passo que para frequência de infecção, as temperaturas estimadas foram de 15 e 33 °C para B_2 e B_3 , respectivamente (Tabela 3). Este comportamento já foi reportado em outros patossistemas e, em particular, em espécies de *Alternaria*, por meio da comparação entre a amplitude térmica favorável à germinação “in vitro” e a faixa de temperatura favorável à infecção (Rotem, 1994). Isto deve-se provavelmente ao fato de a germinação ser apenas parte do mecanismo de pré-penetração do patógeno. A infecção inclui muitos outros eventos, provavelmente com diferentes exigências de temperatura.

A severidade da doença aumentou com o aumento da temperatura no intervalo de 15 a 30 °C (Figura 4). Contudo, a faixa ótima para o desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas” não foi estabelecida porque não foram incluídas, nos ensaios, temperaturas próximas ao limite máximo para o crescimento do patógeno. O modelo de Gompertz, apesar de ter demonstrado o efeito significativo das diferentes temperaturas sobre a severidade, neste caso, não tem função preditiva, pois não explica o comportamento real de doenças perante a variável temperatura. Este modelo é bastante utilizado para descrever curvas de progresso de doença (Berger, 1981). A curva descrita por este modelo pressupõe estabilização assintótica de severidade nas temperaturas mais elevadas, o que não representa a realidade biológica, pois a severidade deve decrescer sob temperatura máxima, na qual a doença não se desenvolve. O comportamento de doenças de plantas em função da temperatura tem sido melhor explicado pela função Beta generalizada (Hau & Kranz, 1990), a mesma utilizada para descrever o efeito da temperatura no crescimento micelial. Esta função estima as temperaturas máxima e mínima de desenvolvimento, além de apresentar formato de sino, típico de resposta de eventos biológicos a variações de temperatura. É provável que a temperatura máxima para o desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas” esteja compreendida no intervalo de 30-35 °C, já que os ensaios “in vitro” determinaram que o limite máximo para o crescimento micelial encontra-se nesse intervalo.

A frequência de infecção não se revelou um componente adequado para

quantificação da doença, fato que foi evidenciado pela redução do número de lesões ao longo das avaliações (Figuras 2 e 5), ao mesmo tempo em que se observava o aumento da área foliar danificada pelo patógeno. Isso ocorreu devido à elevada taxa de crescimento da lesão e o conseqüente coalescimento, impossibilitando a determinação da real frequência de infecção. O componente tamanho de lesão, apesar de ter mostrado resposta significativa ao aumento da temperatura (Figura 3), não se apresentou como um componente viável para a avaliação do “Mal-de-Sete-Voltas” também em razão do intenso coalescimento das lesões. Talvez concentrações menores de inóculo facilitem a tomada do comprimento. Contudo, acredita-se que este não seja um componente ideal para a quantificação da doença, pois foi observado que o seu desenvolvimento não ocorre somente pelo crescimento da lesão, mas também pela necrose generalizada do tecido adjacente à lesão, em direção à ponta das folhas. Assim, o componente que melhor expressou o efeito da temperatura no desenvolvimento da doença foi a severidade, por quantificar toda a área foliar danificada pelo patógeno. Segundo Bergamin Filho & Amorim (1996), essa característica de crescimento da doença é comum a outros patógenos de ocorrência tropical como *Magnaporthe grisea* em arroz, *Exserohilum turcicum* em milho, *Microcyclus ulei* em seringueira, *Mycosphaerella musicola* em banana, *Alternaria solani* em tomate, entre outros exemplos. Em geral, o crescimento de doenças é explicado tanto pelo aumento de novas lesões, como pelo crescimento das lesões existentes. Nos trópicos, grande parte das doenças se desenvolvem da segunda maneira, observação que levou Bergamin Filho & Amorim (1996) a postularem este comportamento da doença como estratégia de sobrevivência dos patógeno tropicais. Dessa maneira, ocupar sítios sadios dos hospedeiro por meio do crescimento da lesão, reduz a exposição destes organismos às condições adversas das regiões tropicais presentes o ano todo, como elevadas temperaturas, intensa radiação solar e curta duração do orvalho. Tais condições são desfavoráveis à sobrevivência e germinação de esporos fúngicos. Nas regiões temperadas, apesar do inverno rigoroso reduzir drasticamente a população de patógenos, estes, durante a estação de cultivo de seus hospedeiros, encontram condições ambientais bastante favoráveis ao crescimento de doenças foliares por meio do surgimento de novas lesões.

5.1.2 Molhamento foliar

A ausência de relação entre diferentes períodos de molhamento e severidade, demonstrou que os processos de infecção e colonização por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* em cebola não são favorecidos por horas crescentes de molhamento foliar. Essa constatação diverge dos trabalhos encontrados na literatura, os quais relatam a influência da duração do molhamento foliar nos processos de infecção e desenvolvimento de doenças, em diversos patossistemas (Shoemaker & Lorbeer, 1977; Hartung et al., 1981; Alderman & Lacy, 1983; Lalancette et al., 1988; Carisee & Kushalappa, 1990; Chakraborty, 1990; Thakur et al., 1991; Evans et al., 1992; Jacome & Schuh, 1992; Carisse et al., 1993; Schuh & Adamowicz, 1993). Assim, as considerações a seguir serão conduzidas com o objetivo de esclarecer qual o papel do molhamento foliar no desenvolvimento do “Mal-de-Sete-Voltas” e que componentes epidemiológicos são relevantes para o estabelecimento e desenvolvimento dessa doença.

Huber & Gillespie (1990) reuniram informações sobre o requerimento hídrico necessário ao desencadeamento do processo infeccioso de diversos patógenos, concluindo que as horas de molhamento requeridas por diferentes gêneros e espécies de fungos fitopatogênicos estão distribuídas dentro de uma ampla faixa, variando de 0,5 a 100 horas de molhamento foliar. A espécie *Colletotrichum acutatum*, incluída na análise de Huber & Gillespie (1990), necessita de apenas três horas de água livre para que ocorra infecção em frutos de morango. Em plantas de *Stylosanthes scabra*, sob temperatura favorável, conídios de *C. gloeosporioides* germinaram e formaram apressório após três horas de molhamento foliar (Chakraborty, 1990). Segundo Waller (1992), para espécies do gênero *Colletotrichum* são necessárias, pelo menos, 4 horas de molhamento foliar para que os esporos germinem e a infecção ocorra. Sabendo-se, então, que o requerimento hídrico é bastante variável para os diferentes patógenos e que o gênero *Colletotrichum* requer um período relativamente curto para germinar e penetrar, algumas considerações sobre a metodologia empregada neste trabalho devem ser feitas: os diferentes períodos de molhamento testados correspondem ao tempo de permanência de sacos plásticos sobre a planta após a inoculação. Zero horas de

molhamento representa ausência do saco plástico, o que, no entanto, não significa ausência de água livre sobre a planta, pois o filme de água formado sobre as folhas após a inoculação levou cerca de uma hora para secar dentro da câmara de crescimento. Deve-se adicionar a esse período, o espaço de tempo compreendido entre o preparo do inóculo e a inoculação (cerca de duas horas), onde os conídios em suspensão tinham água em abundância para dar início ao processo de germinação. Portanto, a permanência de água livre sobre o limbo foliar para o que foi chamado zero horas de molhamento, corresponde ao mínimo exigido para espécies de *Colletotrichum* causarem infecção. A determinação do requerimento hídrico para germinação, infecção e colonização por *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* requer estudos dirigidos a esta finalidade, mas diante dos dados levantados, acredita-se que a generalização aqui feita não esteja distante do ideal para o patógeno em questão.

Os trabalhos de Shoemaker & Lorbeer (1977) e Alderman & Lacy (1983) estudaram o efeito da umidade e da temperatura na infecção e desenvolvimento de *Botrytis squamosa*, causador da “Queima das Pontas” em cebola. Ambos os trabalhos demonstraram que pelo menos seis horas de molhamento foliar são necessárias para que haja infecção e que a doença foi mais intensa quanto mais prolongado o molhamento foliar. Acredita-se que a resposta da “Queima das Pontas” ao molhamento foliar esteja relacionada ao fato de seu crescimento ser dado pelo aumento do número de lesões, característica de patógenos de clima frio (Bergamin Filho & Amorim, 1996), como *Botrytis squamosa* (Maude, 1998). É por essa razão que os conídios de *B. squamosa* apresentam melhor resposta à água livre presente na superfície foliar, pois quanto maior o período de molhamento, maior o número de esporos que germinarão, aumentando as chances de sucesso no processo infeccioso e, por consequência, o crescimento da doença. O crescimento do “Mal-de-Sete-Voltas”, como já comentado, ocorre pelo aumento do tamanho da lesão, comportamento típico de doenças causadas por patógenos tropicais. Assim, uma vez tendo penetrado no tecido do hospedeiro e dado início ao processo de infecção, *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*, agora protegido pela camada cerosa da epiderme (Brewster, 1994), não mais utiliza água da superfície foliar, mas sim a água do tecido do hospedeiro para continuar o processo de colonização. O filme de água sobre a folha, então, teria sua importância limitada à germinação dos esporos que

darão início ao processo infeccioso.

Neste trabalho, o efeito da água foi estudado apenas no monocíclico, ou seja, apenas no processo que ocorre entre a deposição do patógeno sobre o hospedeiro e sua reprodução. Considerando apenas o monociclo, o papel da água fica restrito à sua essencialidade nos processos de infecção. Considerando o policiclo, ou seja, o progresso da doença em função de vários ciclos do patógeno, a água tem papel de destaque. Tanto na forma de gotas de chuvas, como da água de escoamento, ela é responsável pela disseminação de muitos patógenos.

A água da chuva, bem como a água de irrigação por aspersão é um importante agente de disseminação, estando envolvida até mesmo na disseminação de patógenos tipicamente dispersos pelo ar (Fitt et al., 1989). Contudo, assume importância crucial na disseminação de patógenos como os do gênero *Colletotrichum*, cujos esporos são envoltos numa massa mucilaginosa hidrossolúvel. Para esses microorganismos, somente respingos de chuva ou água de irrigação são capazes de disseminá-los.

Os relatos da literatura são unânimes ao mencionar que epidemias do “Mal-de-Sete-Voltas” ocorrem após período de chuvas intensas. Sugere-se, portanto, que o principal papel da água no “Mal-de-Sete-Voltas” esteja relacionado à sua capacidade de disseminação, já que para o processo de infecção e desenvolvimento de lesões, são necessárias apenas poucas horas de molhamento foliar, as quais são fornecidas pela própria duração da precipitação ou irrigação, não havendo resposta positiva quando períodos de molhamento acima do mínimo necessário são empregados. Isso explica, em parte, a grande importância da doença na região semi-árida do Brasil, onde a permanência de horas de molhamento é bastante inferior às demais regiões produtoras de cebola do país. Em trabalhos de previsão de doenças causadas por *Colletotrichum falcatum* em cana (Kumar et al., 1998), *C. acutatum* em citros (Timmer & Zitko, 1998) e *C. gloeosporioides* em *Stylosanthes scabra* (Chakraborty & Billard, 1995), os modelos desenvolvidos apresentaram as variáveis número de dias chuvosos e intensidade da chuva como os parâmetros que mais influenciaram a ocorrência e desenvolvimento dessas doenças.

5.2 Transporte de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* via semente e transmissão semente-plântula

A baixa porcentagem de sementes transportando *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* nos lotes produzidos em casa-de-vegetação e a ausência do patógeno nos lotes do Rio Grande do Sul, são resultados que estão de acordo com as constatações dos demais autores. Segundo Pierobom³, os índices de transporte de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola são normalmente baixos, em torno de 3%, mesmo em sementes extraídas de umbelas selecionadas de plantas com intenso sintoma da doença. A detecção de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola no Rio Grande do Sul, sob diferentes temperaturas, mostrou porcentagem máxima a 25 °C (quando 9,5% de sementes transportaram o patógeno) e mínima a 15 °C onde não foi observada a ocorrência do patógeno (Rota & Pierobom, 1997). Num estudo do aspecto fitossanitário das sementes comercializadas no Estado de Santa Catarina, Boff e colaboradores (Boff et al., 1995) analisaram amostras provenientes da produção de sementes dos anos de 1989 (sementes produzidas em Santa Catarina), 1991, 1992 e 1993 (sementes produzidas em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul, mas comercializadas em Santa Catarina). Nos quatro ciclos de coleta realizados, apenas nos anos de 1992 e 1993 foi constatada a presença de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* nos campos de produção e, pela análise de sanidade, entre esses dois anos, houve um aumento do número de amostras onde o patógeno foi detectado (21% nos lotes de 1992 e 73% nos lotes de 1993). Contudo, a ocorrência média do patógeno por amostra foi de 0,45% e 0,47% para os anos de 1992 e 1993, respectivamente, confirmando a baixa incidência de sementes que transportam o patógeno. Na safra de sementes de 1994/1995 da região Oeste Catarinense, Gandin & Thomazelli (1996) revelaram que apesar da alta incidência da doença no final do ciclo vegetativo da cultura, o patógeno não foi detectado nos lotes das duas variedades analisadas, Crioula e Bola Precoce.

A habilidade dos patógenos transportados via semente em causar epidemias, depende

³ PIEROBOM, C. R. (Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Fitopatologia). Comunicação Pessoal, 1988

da sua capacidade de transmissão (Neergard, 1979). Neste trabalho, o teste de transmissão para plântulas não teve resultado relevante devido à baixa incidência do patógeno nas sementes analisadas. Contudo, independentemente da taxa de transmissão, sabe-se que o transporte via semente é baixo. Assim, pode-se afirmar que a chegada do patógeno a áreas ainda não infestadas pode ocorrer pelas sementes, mas não que a ocorrência de epidemias severas esteja associada, num único ciclo de cultivo, ao uso de lotes contaminados. Fatores como o acúmulo de inóculo inicial (restos culturais) e condições ambientais favoráveis à disseminação do patógeno devem ser analisados quando se questiona a ocorrência de epidemias de “Mal-de-Sete-Voltas”.

5.3 Considerações finais

Os resultados deste trabalho revelaram que a severidade é influenciada pela temperatura, mas não pela duração do molhamento foliar além do tempo necessário ao estabelecimento da infecção. A severidade aumentou com o aumento da temperatura no intervalo entre 15 e 30 °C e apesar de não ter sido observada a temperatura máxima para o desenvolvimento da doença, a faixa de temperatura ótima é ampla e provavelmente esteja entre 25 e 30 °C, o que mostra a inviabilidade de previsão da doença com base na variável temperatura.

A importância da água no desenvolvimento epidemiológico da doença está relacionada à chuva e à irrigação por aspersão por disseminarem o patógeno a partir de restos culturais presentes no solo e a partir de lesões esporulantes de plantas infectadas.

Apesar dos baixos valores de severidade para as temperaturas entre 15 e 20 °C, a constatação de que a doença ocorre sob temperaturas amenas revela que ela pode estar presente desde o início do desenvolvimento da cultura nas regiões Sul e Sudeste do País, época que coincide com o inverno nestas regiões. Mesmo com a baixa frequência de infecção observada nessa faixa de temperatura, as lesões formadas esporulam, o que permite que a doença seja disseminada. Como nessas condições a severidade é baixa e os sintomas característicos (encharutamento e retorcimento foliar) não ocorrem, a doença não torna-se

evidente no campo até que a temperatura se eleve e a epidemia se instale. A grande importância do “Mal-de-Sete-Voltas” nas regiões cebolicultoras do Nordeste Brasileiro provavelmente esteja relacionada à ocorrência constante de temperaturas favoráveis à doença. O inóculo inicial, apesar de não ter sido avaliado neste trabalho é um importante fator a ser considerado no desenvolvimento epidêmico, principalmente restos culturais contendo estruturas do patógeno. Assim, inóculo inicial, temperaturas elevadas e presença de chuva e água de irrigação para disseminação do patógeno, são os principais componentes que desencadeiam epidemias severas do “Mal-de-Sete-Voltas”

A maior suscetibilidade da variedade Brownsville em relação à IPA-9, (relatada por Assunção et al., 1997), pôde ser observada neste trabalho pela não estabilização da curva de severidade a partir de 25 °C (Figura 4), demonstrando a maior suscetibilidade de Brownsville a temperaturas mais elevadas.

6 CONCLUSÕES

1 A severidade é o componente monocíclico mais adequado à quantificação do “Mal-de-Sete-Voltas” da cebola. Os componentes frequência de infecção e crescimento de lesão não são recomendados devido ao coalescimento das lesões e à danificação do tecido que circunda a área danificada pelo patógeno.

2 A severidade da doença é influenciada pela temperatura, mas não pelo período de molhamento foliar além do período necessário à infecção pelo patógeno. A severidade aumenta com o aumento da temperatura no intervalo entre 15 e 30 °C.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.L.M. Reação de cultivares de cebola de ciclos longos ao “Mal-das-Sete-Voltas”. **Summa Phytopathologica**, v.16, p.239-241, 1990.
- ALDERMAN, S.C.; LACY, M.L. Influence of dew period and temperature on infection of onion leaves by dry conidia of *Botrytis squamosa*. **Phytopathology**, v.73, n.7, p.1020-1023, 1983.
- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995a. cap. 32, p. 646-690. 1v.
- AMORIM, L. Disseminação. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995b. cap. 14, p. 268-294. 1v.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. Organização Andrei. 4. ed. São Paulo, 1993.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. Organização Andrei. 5. ed. São Paulo, 1996.

- AQUINO, M.L.N.; WANDERLEY, L.J.G. O “Mal-de-Sete-Voltas” nos cebolais do São Francisco. Recife: Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio - Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco, 1966. 42p. (Boletim técnico nº 16).
- ASSUNÇÃO, I.P.; COELHO, R.S.B.; LIMA, J.A.S. et al. Identificação de fontes de resistência em cebola ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, Suplemento Agosto, p. 245, 1997. /Resumo/
- BACCHI, L.M.A. Quantificação de parâmetros monocíclicos relacionada a epidemias no sistema *Uromyces appendiculatus* - feijoeiro. Piracicaba, 1993. 99p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BAJUNGO, H. E. Caracterização patogênica, serológica e fisiológica de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. [*Sensu* ARX, 1957] f. sp. *cepae* n.c. Piracicaba, 1979. 35p. Dissertação (M.S.)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BASSANEZI, R.B., AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B. Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. **Plant Pathology**, v.47, p.289-298, 1998.
- BEDENDO, I.P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. cap. 18, p. 331-341. 1v.
- BENDER, D.A. Onions. In: BENNETT, W.F. (Ed.) **Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants**. New York: APS PRESS, 1993. p.131-137.

- BERGAMIN FILHO, A. A epidemia como um sistema. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995a. cap. 29, p. 574-601. 1v.
- BERGAMIN FILHO, A. Conceitos e objetivos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995b. cap. 27, p. 540-553. 1v.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1996. 299p.
- BERGER, R.D. Comparison of the gompertz and logistic equations to describe plant disease progress. **Phytopathology**, v.71, n.7, p.717-719, 1981.
- BOFF, P. Antracnose foliar da cebola: diagnóstico e controle. **Agropecuária Catarinense**, v.16, n.2, p.34-37, 1993.
- BOFF, P. Seed infection by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* is the main cause of recent onion bulb rot in south Brasil. **Onion Newsletter for the Tropics**, n.7, p.16-17, 1996.
- BOFF, P.; STADNIK, M.J.; FERRARI, R.; SILVA, T.D. Estado fitossanitário de sementes de cebola comercializada em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Sementes**, v.17, n.2, p.165-170, 1995.
- BREWSTER, J.L. **Onions and other vegetables alliums**. Wellesbourne: CAB International, 1994. 236p.

- CAMPACCI, C.A. Notas sobre o “cachorro-quente” da cebola. **Revista de Olericultura**, v.1, p.61-64, 1961.
- CANDEIA, J.A.; MENEZES, D.; MENEZES, J.T.; MARANHÃO, E.A.A.; FRANÇA, J.E.D. Cultivar de cebola amarela VALEOURO IPA-11. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37, Manaus, 1997. Sociedade de Olericultura do Brasil; **Resumos**.
- CARDOSO, C.O.N.; CARDOSO, E.J.B.N.; TOLEDO, A.C.D. et al. **Guia de fungicidas**. 2. ed. São Paulo: Grupo paulista de fitopatologia, 1979. 235 p.
- CARISSE, O.; KUSHALAPPA, A.C. Development of an infection model for *Cercospora carotae* on carrots based on temperature and leaf wetness duration. **Phytopathology**, v.80, n.11, p.1233-1238, 1990.
- CARISSE, O.; KUSHALAPPA, A.C.; CLOUTIER, D.C. Influence of temperature, leaf wetness, and high relative humidity duration on sporulation of *Cercospora carotae* on carrot leaves. **Phytopathology**, v.83, n.3, p.338-343, 1993.
- CHAKRABORTY, S. Anthracnose of *Stylosanthes scabra*: effects of leaf surface wetness on disease severity. **Plant Disease**, v.74, n.5, p.379-384, 1990.
- CHAKRABORTY, S.; BILLARD, L. Quantitative relationships between *Colletotrichum gloeosporioides* infection of *Stylosanthes scabra* and weather under field conditions. **Plant Pathology**, v.44, p.63-72, 1995.
- CHAWDA, H.T.; RAJASAB, A.H. Epidemiological investigations on anthracnose and purple blotch of onion (*Allium cepa* L.) **Onion Newsletter for the Tropics**, n.4, p.65-66, 1992.

CHAWDA, H.T.; RAJASAB, A.H. Onion anthracnose disease symptoms: a review. **Onion Newsletter for the Tropics**, n.7, p.82-84, 1996.

COSTA, C.P.; KITAJIMA, E.W.; NAGAI, H. Ocorrência do mosaico em faixas de cebola no Brasil. **Revista de Olericultura**, v.6, p.67-74, 1966.

COSTA, C.P.; FERNANDES, F.T.; FONSECA, J.N.L. Resistência de cebola (*Allium cepa* L.) ao “Mal-das-Sete-Voltas” (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). **Revista de Olericultura**, v.14, p.24-25, 1974.

COSTA, C.P.; MELO, A.M.L.T.; AQUINO, M.L; WANDERLEY, L.J.G. et al. Resistência de cultivares de cebola (*Allium cepa* L.) ao “Mal-das-Sete-Voltas” (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em condições de campo. **Revista de Olericultura**, v.15, p.216-219, 1975.

DALLA PRIA, M. Quantificação de parâmetros monocíclicos da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e da mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) do feijoeiro. Piracicaba, 1997. 82p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

DODD, J.C.; ESTRADA, A.; JEGER, M.J. Epidemiology of *Colletotrichum gloeosporioides* in the tropics. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (Ed.) **Colletotrichum: biology, pathology and control**. London: CAB International, 1992. cap.16, p.308-325.

EBENEKE, A.C. Onion twister disease caused by *Glomerella cingulata* in Northern Nigeria. **Plant Disease**, v.64, n.11, p.1030-1032, 1980.

- EVANS, K.J.; NYQUIST, W.E.; LATIN, R.X. A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of alternaria leaf blight of muskmelon. **Phytopathology**, v.82, n.8, p.890-895, 1992.
- FERREIRA, M.D.; KIMATI, H. **Produção de mudas de cebola em sementeira**. Guaxupé: Cooperativa regional de cafeicultores em Guaxupé Ltda, /198_/ . 7p. (Informe técnico Cooxupé, 1).
- FITT, B.D.L.; McCARTNEY, H.A.; WALKLATE, P.J. The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. **Annual Review of Phytopathology**, v.27, p.241-270, 1989.
- GALVÁN, G.A.; WIETSMA, W.A.; PUTRSEMEDJA, A.H.; KIK, C. Screening for resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in *Allium cepa* and its wild relatives. **Euphytica**, v.95, p.173-178, 1997.
- GANDIN, L.C.; THOMAZELLI, L.F. Qualidade e produtividade de sementes de cebola na Região Oeste Catarinense - safra 1994/95. **Agropecuária Catarinense**, v.9, n.2, p.29-32, 1996.
- HARTUNG, J.S.; BURTON, C.L.; RAMSDELL, D.C. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, v.71, n.4, p.449-453, 1981.
- HAU, B.; KRANZ, J. Mathematics and statistics for analyses in epidemiology. In: Kranz, J. (Ed.) **Epidemics of plant diseases: mathematical analyses and modeling**. Berlin: Springer-Verlag, 1990. p 12-52.
- HAVEY, M.J. Infectious biotic diseases. In: SCHWARTZ, F.H.; MOHAN, S.K. (Ed.). **Compendium of onion and garlic diseases**. Saint Paul: APS Press, 1996. p.7-43.

- HILL, J.P. Infectious biotic diseases. In: SCHWARTZ, F.H.; MOHAN, S.K. (Ed.). **Compendium of onion and garlic diseases**. Saint Paul: APS Press, 1996. p.7-43.
- HUBER, L.; GILLESPIE, T.J. Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. **Annual Review of Phytopathology**, v.30, p.553-577, 1992.
- JACOME, L.H.; SCHUH, W. Effects of leaf wetness duration and temperature on development of black sigatoka disease on banana infected by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. **Phytopathology**, v.82, n.5, p.515-520, 1992.
- JEFFRIES, P.; DODD, J.C.; JEGER, M.J.; PLUMBLEY, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, v.39, p.343-366, 1990.
- KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola. In: GALLI, F. (coord.). **Manual de fitopatologia**. 2.ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980. cap.5, p.49-65. 2v.
- KIMATI, H.; GIMENES-FERNANDES, N.; SOAVE, J. **Guia de fungicidas agrícolas**. São Paulo: Grupo paulista de fitopatologia, 1997. 225p. 1v.
- KIMATI, H.; SOAVE, J.; ESKES, A.B. et al. **Guia de fungicidas agrícolas**. São Paulo: Grupo paulista de fitopatologia, 1986. 281p.
- KOCH, E.F.A.; MORAES, M.H.D. Avaliação de métodos para detecção de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* e *Alternaria porri* em sementes de cebola (*Allium* sp.). **Informativo ABRATES**, v.3, n.3, junho 1993. /Resumo/

KUMAR, A.; SATYAVIR; NIWAS, R. Prediction of red rot *Colletotrichum falcatum* incidence in sugarcane under field conditions using climatic variables. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 7., Edinburgh, 1998.

Resumos.

LALANCETTE, N.; ELLIS, M.A.; MADDEN, L.V. Development of an infection efficiency model for *Plasmopara viticola* on american grape based on temperature and duration of leaf wetness. **Phytopathology**, v.78, n.6, p.794-800, 1988.

LUZ, K.N.; FONSECA, F.G. A antracnose e o “Mal-de-Sete-Voltas” em cebolas (1). **Revista de Olericultura**, v.4, p.173-180, 1964.

MARANHÃO, E.H.A.; CAVALCANTI, V.A.L.B.; CANDEIA, J.A. et al. Avaliação do controle químico do “Mal-de-Sete-Voltas” em cebola, causado pelo fungo *C. gloeosporioides* Penz., no Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37, Manaus, 1997. Sociedade de Olericultura do Brasil; **resumos**.

MARTINS, M.C. Quantificação de parâmetros monocíclicos e controle químico da ferrugem do pessegueiro. Piracicaba, 1994. 69p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MAUDE, R.B. Onion diseases. In: JONES, D.G. (Ed.). **The epidemiology of plant diseases**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. cap. 20, p.402-422.

MELO, I.S. Seleção massal e de progênies de meio-irmãos em cebola (*Allium cepa* L.) para resistência a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Piracicaba, 1983. 103p. Dissertação (MS) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- MELO, I.S.; COSTA, C.P. Seleção massal em cebola (*Allium cepa* L.), população “Pira-Ouro”, para resistência a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sensus ARX, 1957. **Summa Phytopathologica**, v.9, p.215-219, 1983.
- NEERGARD, P. **Seed pathology**. London: The Macmillan Press, 1979. cap.28, p.753.
- NITTAYA-KANLONG; PHAN-INCHAN; LAKSANA-WANNAPHI. Anthracnose, onion twister disease and their control. *Thailand Phytopathology*, v.8, p.97-104, 1988. /Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1996/
- NITAYA-KONLONG; PORNSAWAN-SRISOMSUK; PUN-INCHUN. *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agente of onion twister disease. *Thailand Agricultural Research Journal*, v.5, p.49-53, 1987. /Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1996/
- NUNES, M.E.T.; KIMATI, H. Doenças do alho (*Allium sativum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. et al. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. cap.5, p.58-69. 2v.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v.17, p.203-222, 1979.
- PARLEVLIET, J.E. What is durable resistance, a general outline. In: JACOBS, Th.; PARLEVLIET, J.E. (Ed.). **Durability of disease resistance**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1993. p.23-39.
- REMIRO, D.; KIMATI, H. Controle do “Mal de Sete Voltas” da cebola com Benomil. **Summa Phytopathologica**, v.1, p.52-53, 1975.

- ROBBS, C.F.; RIBEIRO, R.L. Estudos preliminares sobre o “Mal-de-Sete-Voltas” da cebola (*Allium cepa*, L.) no Vale do São Francisco. **Revista de Olericultura**, v.6, p.106-115, 1966.
- ROTA, G.R.M.; PIEROBOM, C.R. Detecção de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* e outros fungos em sementes de cebola (*Allium cepa* L.) em teste de sanidade, com incubação sob diferentes temperaturas. **Informativo Abrates**, v.7, n.1/2, 1997. /Resumo/
- ROTEM, J. **The genus *Alternaria*. biology, epidemiology and pathogenicity**. Saint Paul: APS Press, 1994. 326p.
- ROTEM, J. Climatic and weather influences on epidemics. In: HORSFALL, J.; COWLING, E.B. (Ed.). **Plant disease an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1978. cap. 15, p.317-337. 2v.
- ROTEM, J.; COHEN, Y.; BASHI, E. Host and environmental influences on sporulation in vivo. **Annual Review of Phytopathology**, v.16, p.83-101, 1978.
- SCHUH, W.; ADAMOWICZ, A. Influence of assessment time and modeling approach on the relationship between temperature-leaf wetness periods and disease parameters of *Septoria glycines* on soybeans. **Phytopathology**, v.83, n.9, p.941-948, 1993.
- SHOEMAKER, P.B.; LORBEER, J.W. The role of dew and temperature in the epidemiology of botrytis leaf blight of onion. **Phytopathology**, v.67, p.1267-1272, 1977.
- SILVA, N. Reação de cultivares e híbridos de cebola a *Colletotrichum gloeosporioides*, Penz. (Sensu ARX, 1957). **Summa Phytopathologica**, v.5, p.165-167, 1979.

- SILVA, N. Resistência em cebola (*Allium cepa*) a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz [sensu ARX, 1957]. Piracicaba, 1976. 87p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SPALDING, D.H. Resistance of mango pathogens to fungicide used to control post harvest diseases. **Plant Disease**, v.66, p.1185-1186, 1982.
- SUHARDI, H.A. Anthracnose on shallot (*Allium cepa* group *aggregatum*) in Java. **Onion Newsletter for the Tropics**, n.5, p. 48-50, 1993.
- SUNCE-ONGOAGWANIT. Onion twister disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Bangkok (Thailand), 1991. 93p. Thesis (M.Sc.) - Kasetsart University. /Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1996/
- SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.) ***Colletotrichum: biology, pathology and control***. London: CAB International, 1992. cap. 1, p. 1-26.
- SUTTON, J.C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v.14, n.4, p.305-312, 1988.
- THAKUR, R.P.; RAO, V.P.; KING, S.P. Influence of temperature and wetness duration on infection of pearl millet by *Claviceps fusiformis*. **Phytopathology**, v.81, n.8, p.835-838, 1991.

- TIMMER, L.W.; ZITKO, S.E. Forecasting outbreaks of post bloom fruit drop of citrus caused by *Colletotrichum acutatum*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 7., Edinburgh, 1998. **Resumos**.
- VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. In: LUZ, W.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.149-207, 1996.
- VANDERPLANK, J.E. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968. 260p.
- WALLER, J.M. *Colletotrichum* diseases of perennial and other cash crops. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.) **Colletotrichum: biology, pathology and control**. London: CAB International, 1992. cap.8, p.167-185.
- WANDERLEY, L.J.G.; CAMPACCI, C.A.; AQUINO, M.L.N.; QUEIROZ, M.A.; MELO, P.C.T.; MELO, M.A.L.T.; COSTA, C.P. Resultados preliminares sobre o controle do "Mal-de-Sete-Voltas" em cebola. **Revista de Olericultura**, v.15, p.220-224, 1975.
- WILSON, L.L.; MADDEN, L.V.; ELLIS, M.A. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v.8, n.1, p.111-116, 1990.