

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO EM SUBSTRATO
ARTIFICIALMENTE INFESTADO COM *Fusarium oxysporum* f. sp.
*vasinfectum***

FABIANNE VASCONCELOS DANTAS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

**CAMPINA GRANDE-PB
AGOSTO DE 2012**

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO EM SUBSTRATO
ARTIFICIALMENTE INFESTADO COM *Fusarium oxysporum* f. sp.
*vasinfectum***

FABIANNE VASCONCELOS DANTAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de Concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

Orientador: Prof. Dr. Dartanhã José Soares

**CAMPINA GRANDE-PB
AGOSTO DE 2012**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

D192r Dantas, Fabianne Vasconcelos.
Reação de genótipos de algodoeiro em substrato artificialmente infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* [manuscrito] / Fabianne Vasconcelos Dantas. – 2012.
39 f. : il. color.

Digitado
Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias),
Centro de Ciências Humanas e Agrárias, Universidade
Estadual da Paraíba, 2012.

“Orientação: Prof. Dr. Dartanhã José Soares,
Embrapa Algodão”.

1. Cultivo de algodão. 2. Algodoeiro. 3. Genética vegetal. 4. Inoculação natural. I. Título.

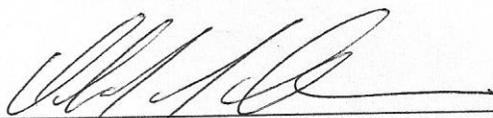
21. ed. CDD 633.51

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO EM SUBSTRATO
ARTIFICIALMENTE INFESTADO COM *Fusarium oxysporum* f. sp.
*vasinfectum***

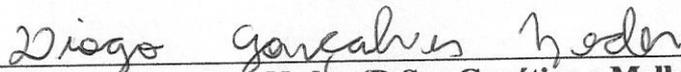
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de Concentração: Agrobioenergia e Agricultura Familiar.

Aprovada em 30 de agosto de 2012.

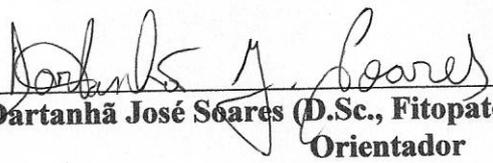
Banca Examinadora:



Prof. Olinto Liparini Pereira (D.Sc., Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa



Prof. Diogo Gonçalves Neder (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual da Paraíba



**Prof. Dartanhã José Soares (D.Sc., Fitopatologia) - Embrapa Algodão
Orientador**

Aos meus filhos Myrian, Hanna e José Neto, por terem suportado minha ausência em tantos momentos, o mérito dessa conquista é de vocês, amo-vos intensamente.

AGRADECIMENTOS

A Nosso Senhor Jesus Cristo e a Santíssima Mãe de Deus e minha, por todas as graças necessárias derramadas sobre mim, possibilitando-me concluir este trabalho. Por este motivo rezo com o salmista: "Como retribuir ao Senhor todo o bem que me fez?" (Salmo 115,12). Todo o meu louvor e gratidão por toda a minha vida, pelos benefícios recebidos.

Aos meus pais José Cabral de Vasconcelos e Neci Ferreira de Vasconcelos, que sempre me apoiaram e incentivaram em todos os momentos, amor insubstituível.

Ao meu esposo Lenilson Dantas pelo apoio e incentivo.

Aos meus irmãos Franklin, Fabrício e Fabrícia, não tenho palavras para expressar tamanha gratidão pelo apoio e amor.

Ao meu orientador Dr. Dartanhã José Soares, sou imensamente grata pelo companheirismo, compreensão e paciência, mas principalmente, pelo conhecimento adquirido, meu muito obrigada.

Ao coordenador do curso Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, pelo ensinamentos, companheirismo e dedicação ao curso, que também nos faz crescer.

Aos professores Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos, Dra. Liziane Maria de Lima, Dra. Julita Maria Frota Chagas Carvalho e Dr. Carlos Alberto Domingues da Silva, pelos valiosos ensinamentos.

Ao pesquisador da Embrapa Algodão Dr. João Luís da Silva Filho, pela grande contribuição nas análises estatísticas deste trabalho e pelas sementes disponibilizadas.

Ao pesquisador da Embrapa Algodão Dr. Luiz Paulo de Carvalho, por disponibilizar as sementes para execução deste trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Algodão M.Sc. Wirtton Macedo Coutinho, que em muitos momentos contribuiu com os seus valiosos conselhos e ensinamentos.

Aos professores Diogo Gonçalves Neder e Olinto Liparini Pereira, por participarem da banca examinadora deste trabalho, através de colaborações com críticas construtivas e sugestões que engrandeceram este trabalho final.

A Universidade Estadual da Paraíba, pela oportunidade da realização do curso.

A Embrapa Algodão, pela oportunidade da execução do trabalho.

A Capes, pelo apoio financeiro.

Aos funcionários do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Algodão, Jacilane Fernandes (Lane) e Juarez (Juá), muito mais que colegas de trabalho, amizades conquistadas.

As secretárias do mestrado Luciene e Luciana, pela disponibilidade em todos os momentos.

Aos colegas de curso Flávia, Angélica, Vandrê, Juliara, Lucimara, Dalva, Elizandra, Ivomberg e Alexson, por terem tornado a turma mais agradável através da amizade de vocês, obrigada.

Aos colegas de laboratório Rhayssa, Monaliza, Romel e Rafaela, pela ajuda prestada na execução deste trabalho, mas principalmente a minha Barbie (Angélica), muito obrigada pela grande ajuda e dedicação.

Aos meus amigos fraternos da Comunidade Católica Remidos no Senhor, que através de orações também me sustentaram e incentivaram neste trabalho.

Enfim, a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho, levarei comigo sempre a gratidão pelo apoio.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Aspectos gerais e importância da cultura.....	04
2.1.1. Algodão no Nordeste.....	05
2.1.2. Algodão colorido.....	06
2.2. Doenças no algodão.....	07
2.2.1 A murcha-de-fusário.....	08
Etiologia.....	08
Sintomatologia.....	08
Epidemiologia.....	09
Controle.....	10
2.3. Resistência genética a murcha-de-fusário.....	11
2.4. Métodos de avaliação da resistência.....	11
2.4.1 O método de "chaff-grain".....	12
3. METODOLOGIA.....	14
3.1. Escolha dos genótipos.....	14
3.2. Escolhas dos isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	16
3.3. Preparo do inóculo sólido.....	16
3.4. Preparo da suspensão de esporos.....	17
3.5. Quantificação do inóculo sólido.....	17
3.5.1. Contagem direta do número de esporos.....	17
3.5.2. Determinação do número das unidades formadoras de colônias.....	17

3.6.	Inoculação de genótipos de algodoeiro a <i>Fov</i>	18
3.7.	Métodos de avaliação da resistência à <i>Fov</i>	18
3.8.	Análise estatística.....	23
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1.	Quantificação do inóculo sólido.....	24
4.2.	Reação de genótipos de algodoeiro à inoculação com <i>Fov</i>	25
5.	CONCLUSÕES.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Genótipos de <i>Gossypium</i> spp., avaliados quanto a resistência genética à <i>Fov</i>	15
TABELA 2.	Isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> utilizados nos experimentos para avaliação de resistência de algodoeiro.....	16
TABELA 3.	Escala de notas do índice de escurecimento vascular - IVE, modificada por Becerra Lopez-Lavalle et al.(2012).....	21
TABELA 4.	Resumo da análise de variância para a variável AACPD para 14 genótipos recomendados para cultivo no semiárido.....	26
TABELA 5.	Resumo da análise de variância para a variável AACPD para 12 genótipos recomendados para cultivo no cerrado.....	26
TABELA 6.	Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), classificação da resistência a murcha-de-fusário (CRMF) e correlação de Spearman (r_s) de 14 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no semiárido, inoculados com dois isolados distintos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	28
TABELA 7.	Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), classificação da resistência a murcha-de-fusário (CRMF) e correlação de Speraman (r_s) de 12 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no cerrado inoculados com dois isolados distintos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	30

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Escala de notas de severidade da doença para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD.....	20
FIGURA 2.	Representação das notas 0 a 4 da escala do índice de escurecimento vascular - IEV baseada em Becerra Lopez-Lavalle et al.(2012). (Setas amarelas indicam o limite superior do escurecimento vascular e setas pretas indicam a inserção cotiledonar).....	22
FIGURA 3.	Curvas de progresso da murcha-de-fusário de 14 genótipos de algodoeiro recomendados para o cultivo no semiárido, inoculados com dois isolados distintos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	29
FIGURA 4.	Curvas de progresso da murcha-de-fusário de 12 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no cerrado, inoculados com dois isolados distintos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	31

RESUMO

DANTAS, Fabianne Vasconcelos. M.Sc. Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão. Agosto de 2012. **Reação de genótipos de algodoeiro em substrato artificialmente infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum***. Dartanhã José Soares (Orientador).

O algodoeiro é afetado por uma série de doenças que podem ser um fator limitante a produtividade, dentre estas merece destaque a murcha vascular causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*). Pretendeu-se neste trabalho caracterizar genótipos de algodoeiro destinados ao cultivo nas condições climáticas do Nordeste brasileiro (cerrado e semiárido) quanto a sua resistência ao agente causal da murcha-de-fusário. Foram testados 26 genótipos de algodoeiro do banco de germoplasma da Embrapa Algodão, sendo utilizado como padrão de suscetibilidade, a cultivar Deltapine 744. Para a preparação do inóculo foram utilizados dois isolados de *Fov* (CCMF-CNPA 0005 e 0007), escolhidos com base na origem (Campina Grande - PB e São Desidério - BA, respectivamente) e na agressividade dos mesmos. Para todos os ensaios o inóculo foi preparado seguindo a metodologia de “chaff-grain” com adaptações. A quantificação do inóculo foi feita pela por meio da contagem direta do número de esporos e da determinação do número de unidades formadoras de colônias. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação climatizada sobre bancadas, onde plântulas dos diferentes genótipos de algodoeiro entre cinco a sete dias de idade após emergência foram transplantadas para recipientes contendo substrato de cultivo com o fungo incorporado e como testemunhas foram utilizadas plântulas transplantadas para substrato de cultivo sem incorporação do fungo. Os genótipos testados foram avaliados por meio da determinação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e por meio da determinação do índice de escurecimento vascular modificado (IEV). Na primeira metodologia as plantas de cada repetição foram avaliadas individualmente cada atribuindo-se uma nota, baseada em uma escala de 0 a 4, a cada 4 dias durante 36 dias; a partir da notas de cada repetição foi calculado índice de intensidade de doença

(IID) para cada avaliação e, a partir do IID foi calculada a AACPD. O segundo método de avaliação consistiu na atribuição de notas de 0 a 10, baseado no IEV; os valores do IEV foram utilizados para determinar a classificação de resistência à murcha-de-fusário (CRMF). A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o pacote estatístico Sisvar[®]. A correlação dos métodos de avaliação AACPD e CRMF foi determinada por meio da correlação de Spearman (r_s). A maioria dos genótipos recomendados para cultivo no cerrado apresentaram níveis moderados de resistência à *Fov*, enquanto a maioria dos genótipos recomendados para cultivo no semiárido foram considerados altamente suscetíveis. Portanto, não foram detectados genótipos imunes ou com elevados índices de resistência à *Fov*, dentre os genótipos testados. O método de inoculação de "chaff-grain" se mostrou extremamente eficaz no processo de infecção da planta. Os métodos de avaliação por meio da área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD e índice de escurecimento vascular - IEV, apresentaram alta correlação, sendo o método de avaliação do índice de escurecimento vascular considerado menos laborioso e mais preciso quando comparado com o método de avaliação por meio da área abaixo da curva de progresso da doença.

Palavras-chave: *Gossypium* spp., inoculação natural, resistência genética.

ABSTRACT

DANTAS, F. V. M.Sc. Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão. August 2012. **Reaction of cotton in genotypes infested with artificial substrate *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum***. Dartanhã José Soares (Adviser).

Cotton is affected by a number of diseases, which can be a limiting factor to productivity. Among these, vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) has demanded special attention due to its soil-borne nature and difficulties to management. The objective of this work was to characterize cotton genotypes appropriate for crop in semiarid and cerrado regions in the Northeast of Brazil considering its resistance to the causal agent of *Fusarium* wilt. We tested 26 genotypes of cotton from the Embrapa Algodão breeding program. The cultivar Deltapine 744 was used as a susceptible control. For all bioassays, inoculum was prepared according to the chaff-grain methodology with adaptations, using the isolates CCMF-CNPA 0005 and CCMF-CNPA 0007. The inoculum was quantified through the direct counting of spores and number of colonies forming units per gram of solid inoculum (ufc.g^{-1}). The bioassays were conducted in an acclimatized greenhouse. After emergence, seedlings of different cotton genotypes of five to seven days old were transferred into plant pots containing growing substrate with fungus inoculum. Seedlings transplanted into the growing substrate without incorporating the fungus inoculum were used as control. The genotypes tested were assessed through two different methodologies to determine resistance to *Fov*. The first assessment method determined the area with the disease progress curve - AUDPC, by using a disease scale with five scores ranging from 0 (no symptoms) to 4 (plant's death). The second evaluation method consisted in assessing a disease score ranging from 0-10 based on the index of vascular browning - VBI, as well as estimating the Fusarium wilt resistance rank - FWRR. The statistical analysis was conducted through Sisvar statistical system. The correlation of assessment methods FWRR and AUDPC was determined by the Spearman rank correlation (r_s). Most cultivars appropriate for crop in the Cerrado region showed moderate levels of resistance to *Fov*, whereas most

genotypes recommended for crop in the semiarid region were considered highly susceptible. The chaff-grain method proved to be effective for screening cotton genotypes against *Fusarium* wilt. There was a high correlation (>0.90) between the evaluation methods of AUDPC and VBI. We considered VBI the easiest and the most accurate method to evaluate the cotton resistance to *Fov*.

Key words: *Gossypium* spp., genetic resistance, natural inoculation.

1. INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium* spp.) é a principal fonte de matéria-prima das indústrias têxteis, sendo a cotonicultura uma das primeiras atividades agrícolas desenvolvidas no Brasil. A cadeia produtiva dessa cultura possui elevada importância socioeconômica para o país, tanto pela geração de emprego quanto pela geração de renda. Considerando apenas a safra 2010/2011 o setor algodoeiro foi responsável por um faturamento de US\$ 37 bilhões (NEVES e PINTO, 2012).

Até meados da década de 1980, a região semiárida do Nordeste brasileiro era uma das principais regiões produtoras de algodão do país, entretanto, devido a uma série de fatores, incluindo a ocorrência de pragas e doenças, a partir do final daquela década, a cotonicultura nesta região entrou em rápido declínio. Foi a partir de 1990 que a cotonicultura brasileira começou a esboçar o cenário hoje vislumbrado do agronegócio algodoeiro, considerado um dos mais modernos e organizados do país (NEVES e PINTO, 2012).

Atualmente a região Centro-oeste responde pela maior parte do algodão produzido no país, sendo o Estado do Mato Grosso o maior produtor. O uso de tecnologias modernas, envolvendo agricultura de precisão e o uso intensivo de insumos agrícolas tem contribuído para que o cerrado brasileiro detenha as mais altas produtividades em áreas não irrigadas (BELTRÃO et al., 2009). Mais recentemente o Estado da Bahia passou a figurar entre as principais regiões produtoras, sendo hoje considerado o segundo maior estado brasileiro produtor de algodão (IBGE 2012). Paralelamente a essa tendência de crescimento da cotonicultura nas regiões de cerrado, várias iniciativas têm sido tomadas para soerguer a cotonicultura no semiárido da região Nordeste, através do cultivo de algodoeiro com fibras coloridas em sistemas agroecológicos ou orgânicos, com a utilização de mão de obra familiar, visando à fixação do homem no campo (QUEIROGA et al., 2008).

Em ambas as situações existem uma constante busca, por parte dos produtores, de materiais que sejam geneticamente superiores e que apresentem resistência as principais pragas e doenças que acometem a cultura. Embora as variedades desenvolvidas para o cerrado brasileiro

sejam frequentemente avaliadas quanto a sua resistência às principais doenças, o mesmo não pode ser dito em relação às cultivares recomendadas para cultivo nas regiões semiáridas do Nordeste brasileiro (QUEIROGA et al., 2008).

O algodoeiro é afetado por uma série de doenças que podem constituir fator limitante para sua exploração, principalmente nas condições do cerrado brasileiro. Por outro lado, no semiárido nordestino, poucas são as doenças com elevado potencial destrutivo para a cultura. A murcha vascular causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fov), é uma das poucas doenças do algodoeiro que constitui um problema tanto na região do cerrado quanto na região semiárida (SUASSUNA e COUTINHO, 2011; COUTO, 2008).

A murcha-de-fusário, também conhecida como fusariose, foi relatada pela primeira vez no Brasil em lavouras de algodão no município de Alagoinha, Estado da Paraíba, na década de 30 (SUASSUNA et al., 2008b). Muitos fatores influenciam o desenvolvimento da murcha-de-fusário no campo, como cultivares suscetíveis ao patógeno, condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, tipo e fertilidade de solo, além da interação com nematóides, os quais agravam a doença e subsequentemente aumentam as perdas de rendimento (DAVIS et al., 2006).

A murcha-de-fusário pode incidir em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. No estágio de plântula usualmente ocorre o escurecimento das nervuras e amarelecimento das folhas cotiledonares, com posterior seca e morte das plântulas. Em plantas adultas ocorrem amarelecimento e murcha das folhas e ramos. Plantas que ocasionalmente sobrevivam à doença usualmente emitem novas brotações, contudo as mesmas não são produtivas (SUASSUNA et al., 2008b).

O patógeno pode ser disseminado por sementes, e a curta distância por partículas de solo contaminado e restos culturais atrelados a máquinas agrícolas, podendo ainda ser dispersos por meio de água de chuva ou irrigação. Além da fácil disseminação, a inexistência de métodos curativos eficazes para o manejo dessa doença tornam a mesma ainda mais preocupante (ALLEN, 2007).

O princípio da exclusão é o meio mais utilizado no manejo da murcha-de-fusário, visando evitar a introdução do patógeno em áreas livres do mesmo, tanto pelo uso de sementes sadias, como também pelo tratamento de sementes com fungicidas (SUASSUNA E COUTINHO, 2011).

Embora o uso dessas, e outras práticas sejam fundamentais para o manejo da doença, o uso de cultivares resistentes é considerada a melhor estratégia. Apesar de não existir cultivares imunes a murcha-de-fusário, tem sido desenvolvidas cultivares comerciais classificadas como resistente e moderadamente resistente, principalmente para as condições do cerrado brasileiro

(SUASSUNA e COUTINHO, 2011), entretanto essa premissa não tem sido aplicada com a mesma ênfase para as cultivares desenvolvidas para o Nordeste.

Portanto, para suprir a demanda do cultivo do algodoeiro na região Nordeste, tanto em sistemas agroecológicos quanto na agricultura empresarial é de suma importância que os programas de melhoramento do algodoeiro também foquem suas pesquisas no desenvolvimento de cultivares, tanto de fibras brancas como coloridas, que apresentem elevados níveis de resistência para esse importante patógeno.

Para que isso seja possível se faz necessário o uso de métodos de caracterização da resistência que sejam facilmente reproduzíveis e que permitam a avaliação concomitante de um grande número de genótipos. Dentre os métodos disponíveis, o método de “chaff-grain” tem sido utilizado com sucesso em outros patossistemas, e tem como uma das principais vantagens a simulação de condições naturais de infecção da planta (LESLIE e SUMMERELL, 2006). Assim sendo, pretendeu-se neste trabalho caracterizar genótipos de algodoeiro destinados ao cultivo nas condições climáticas do Nordeste brasileiro, quanto a sua resistência à *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, por meio de inoculação natural, utilizando-se dois métodos distintos de quantificação da doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais e importância da cultura

O gênero *Gossypium* é constituído de 52 espécies, dentre as quais, apenas 4 são economicamente exploradas para a produção de fibras: *G. herbaceum* L., *G. arboreum*, *G. barbadense* e *G. hirsutum*. Os dois últimos contribuem com cerca de 8% e 90%, respectivamente, da fibra produzida mundialmente, as demais espécies são selvagens e não apresentam valor econômico (CARVALHO, 2008).

O algodoeiro é considerado a espécie domesticada que em termos econômicos é mais bem aproveitada, além da produção da fibra, principal fonte de matéria-prima das indústrias têxteis, também produz diversos subprodutos como o línter, utilizado para fabricação de algodão hidrófilo, pólvora e tecidos rústicos, o óleo, que serve tanto para a alimentação humana como para produção de energia na fabricação do biodiesel, e o caroço, pode ser utilizado como suplemento na alimentação humana e animal (NEVES e PINTO, 2012).

Atualmente os principais produtores de algodão são a China, com 6,4 milhões de toneladas em 2010 liderando a produção de algodão em pluma, Índia com 5,3 milhões de toneladas, Estados Unidos, com 3,9 milhões de toneladas, Brasil com 2 milhões de toneladas ultrapassando pela primeira vez nos últimos dez anos o Paquistão, que ocupa hoje a quinta posição entre os maiores países produtores de algodão com 1,9 milhão de toneladas de pluma (NEVES e PINTO, 2012). No cenário mundial da cotonicultura, o Brasil se destaca não só como um dos maiores produtores mundiais, mas também como o quarto país exportador e o primeiro em produtividade em sistema de sequeiro, além de ser o sexto maior consumidor, com quase 1 milhão toneladas/ano (ABRAPA, 2012).

O Centro-oeste é responsável pela maior parte da produção brasileira de algodão, sendo o estado do Mato Grosso o maior produtor, com participação de 52% na produção nacional (IBGE, 2012). De acordo com o nono levantamento da safra 2011/2012 da Companhia Nacional de

Abastecimento (CONAB, 2012), o estado obteve um aumento médio na produção de algodão em caroço de 0,9% a mais do que no ano de 2011. O sucesso da cultura do algodoeiro nesta região é atribuído ao clima favorável, terras planas, programas de governos estaduais de incentivo à cultura e, sobretudo, o uso intensivo de tecnologias modernas, as quais conferem qualidade superior ou equivalente do algodão brasileiro, aos melhores algodões do mundo (KOURI, 2006).

De acordo com o IBGE (2012), a segunda maior produção nacional concentra-se na região Nordeste do Brasil, no estado da Bahia, representando cerca de 30% da produção brasileira. Somando-se ambos os estados, considerados os dois maiores produtores do país, totaliza-se, atualmente, 82% da produção brasileira de algodão.

2.1.1. Algodão no Nordeste

A cotonicultura é uma das práticas agrícolas mais tradicionais no semiárido nordestino, isso fez com que o cultivo do algodoeiro tivesse um papel de grande relevância para a economia da região, principalmente por ser uma espécie adaptada às condições edafoclimáticas da região Nordeste e também por gerar emprego e renda, fixando a mão de obra no campo, dando uma importante conotação social à cultura (KOURI, 2006). Dentre os estados nordestinos, a Bahia se destaca como o segundo maior produtor de algodão a nível nacional, com um crescimento de 3,6% em área plantada no ano de 2012 (IBGE, 2012). Os demais estados da região Nordeste, possuem uma parcela pouco significativa na produção nacional, mas no último levantamento realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foi verificado significativo crescimento das áreas destinadas ao cultivo do algodoeiro, principalmente utilizando cultivares de fibras coloridas, possibilitando novas perspectivas para a região (IBGE, 2012).

Com exceção do cerrado baiano, onde a agricultura empresarial é predominante, o sistema de produção do algodoeiro no Nordeste, principalmente no semiárido se dá por meio de pequenos produtores, com a predominância da mão de obra na agricultura familiar para o plantio, colheita e outras operações, sendo adotados mais comumente os sistemas agroecológicos ou orgânicos, utilizando-se cultivares de fibra colorida e/ou branca, em monocultivo ou consórcios (BELTRÃO, 2011).

2.1.2. Algodão colorido

O algodão colorido é tão antigo quanto o de fibra branca, pois a maioria das espécies primitivas de algodoeiro possuíam fibras coloridas, como também algodões cultivados pelos indígenas no Peru. Alguns algodões brasileiros de fibra marrom eram usados como plantas ornamentais até serem explorados em plantios comerciais, em particular no estado da Paraíba a partir do ano 2000, por ocasião de interesse dos empresários japoneses pelo algodão de fibra colorida, dando origem a primeira cultivar lançada pela Embrapa Algodão, a BRS 200 de coloração marrom claro (CARVALHO, 2008).

A cultura do algodoeiro com fibras coloridas, especialmente na região do semiárido nordestino, se apresenta como uma alternativa extremamente viável, sob os pontos de vista social, econômico e ecológico. Nesse contexto, o algodão colorido é vislumbrado, sobretudo quando cultivado em sistema orgânico, como um produto diferenciado por dispensar o processo de tingimento (QUEIROGA et al., 2008). A ausência desse processo de tingimento diminui custos finais de produção além de obter um produto de maneira sustentável, considerando os aspectos econômicos, ambientais e sociotrabalhistas (CUNHA e FREIRE, 2011).

Portanto, levando em consideração a relevância socioeconômica da cotonicultura tanto a nível mundial como nacional, é importante considerar a busca por produtos com sustentabilidade. No Brasil, algodões orgânicos de fibra branca e colorida, são produzidos nos estados do Paraná, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Paraíba (CUNHA e FREIRE, 2011). O número de países com experiências no cultivo de algodão ecológico ainda é bastante reduzido, o que destaca ainda mais este novo e importante mercado produtivo a ser explorado e desenvolvido no semiárido nordestino (BELTRÃO et al., 2010).

Com a prática do cultivo do algodão orgânico e/ou agroecológico, a partir do lançamento de cultivares coloridas pela Embrapa Algodão, têm surgido novos mercados consumidores, como por exemplo, no uso de produtos ecologicamente corretos. A oferta de novas cultivares de algodão, mais produtivas e precoces, também é um anseio por parte dos cotonicultores desta região, existindo possibilidades de expansão de novas áreas para estes novos sistemas de produção (BELTRÃO et al., 2010).

Mesmo com a prática da cultura em escala de produção mais baixa em relação à região Centro-oeste, o Nordeste tem condições de fornecer produtos de qualidade para um mercado específico em expansão, apoiado tanto na produção do algodão colorido como do algodão orgânico, representando ganhos para o país e para a região, principalmente para os pequenos produtores do semiárido (BRASIL, 2007).

2.2. Doenças no algodão

O algodoeiro é afetado por uma série de doenças, com mais de 250 patógenos relatados no mundo, entretanto menos de 10 doenças são consideradas de relevante importância econômica a nível mundial (HILLOCKS, 1992). Na maioria dos países produtores de algodão, as doenças de maior importância são a mancha-angular, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, ocasionando lesões angulares nas folhas, inicialmente de coloração verde e oleosa e posteriormente parda e necrosada; o mosaico comum, causado pelo *Abutilon mosaic virus* (AbMV), que apresenta manchas amareladas, paralisação do crescimento e esterilidade (SUASSUNA et al., 2008b); a galha das raízes, causada pelo nematóide *Meloidogyne incognita*, que causa redução no tamanho das raízes por causa da formação de galhas, tanto na raiz pivotante como nas laterais; o nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), que apresenta como sintomas típicos, a redução do sistema radicular e do porte da planta, e como consequência a perda na produção (KIRKPATRICK e ROTHROCK, 2001); e a murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, que provoca amarelecimento, murcha e morte das plantas afetadas (DAVIS et al., 2006).

No Brasil, podemos destacar, ainda, a ramulose causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, cujos sintomas são manchas necróticas circulares ou alongadas nas folhas mais novas e superbrotamento da região apical; a mancha-de-ramulária, causada por *Ramularia areola*, que apresenta lesões branco-azuladas de formato angular; e mais recentemente o mofo branco, cujos sintomas são murcha, necrose e podridão úmida das hastes, pecíolo e maçãs, e tem como agente causal o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (SUASSUNA e COUTINHO, 2011).

Se considerarmos apenas a região semiárida, as doenças da parte aérea possuem menor importância, enquanto que aquelas veiculadas pelo solo, especialmente a murcha-de-fusário, possuem maior relevância. Isso se deve principalmente ao fato do agente causal dessa doença, ser transmitido pelas sementes, ser capaz de sobreviver por vários anos no solo, mesmo na ausência de seu principal hospedeiro, e não dispor de métodos curativos de manejo, que sejam eficazes e economicamente viáveis (HILLOCKS, 1992).

2.2.1. A murcha-de-fusário

Etiologia

A murcha-de-fusário do algodoeiro é causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *vasinfectum* (G.F. Atk.) W.C. Snyder & H.N. Hansen, e foi identificada pela primeira vez em 1892, em cultivos de algodoeiro no estado do Alabama (Estados Unidos) e no Brasil em lavouras de algodão no município de Alagoinha - PB, na década de 30 (SUASSUNA et al., 2008b). Atualmente este patógeno apresenta uma distribuição mundial e é capaz de infectar todas as quatro espécies domesticadas de algodoeiro, *Gossypium arboreum* L., *G. barbadense* L., *G. herbaceum* L. e *G. hirsutum* L. (DAVIS et al., 2006). As perdas devido a esta doença são bastante variáveis. Campos severamente infestados e cultivados com cultivares suscetíveis podem resultar em perdas altamente significativas. No Brasil, este patógeno foi responsável pelo declínio da cotonicultura paulista na década de 1950 (GRIDI-PAPP et al., 1979) e estima-se que essa doença seja responsável por perdas de produção superiores a 30 % (FUZATTO et al., 1994).

Sintomatologia

Muitos fatores podem influenciar o desenvolvimento da murcha-de-fusário no campo, incluindo a virulência da população do fungo, a suscetibilidade da cultivar plantada, as condições climáticas, principalmente em relação a restrição hídrica, o tipo de solo, a fertilidade do solo e a interação com nematóides e outros patógenos habitantes do solo. Todos estes fatores podem impactar a severidade da doença e subsequentemente as perdas de produção (DAVIS et al., 2006; SOUSA et al., 2008).

Os sintomas da murcha-de-fusário podem aparecer em qualquer fase do desenvolvimento da cultura, embora alguns sintomas desenvolvam-se em plântulas, usualmente eles aparecem meses depois no início da floração (KIRKPATRICK e ROTHROCK, 2001). Em plantas jovens ocorre escurecimento das nervuras e amarelecimento dos cotilédones que usualmente secam e morrem precocemente, enquanto em plantas mais velhas os sintomas incluem clorose e necrose das folhas, seguido de nanismo e murcha da planta. Plantas que são infectadas precocemente, ou seja, nos primeiros dois meses após a semeadura, podem morrer antes de produzir capulhos, enquanto que as plantas infectadas no início ou após a floração, quando sobrevivem, são pouco

produtivas ou mesmo improdutivas e tendem a senescer mais cedo que as plantas sadias (DAVIS et al., 2006).

Os sintomas da doença, dependendo da fase em que a planta é infectada, podem ser confundidos com o de outros patógenos, como por exemplo, a murcha-de-verticílio, tornando-se difícil de distinguir no campo através dos sintomas apresentados, no entanto o escurecimento do sistema vascular da planta formando um anel contínuo permite, de modo geral, a distinção da murcha vascular causada por *Fov* de outras doenças que podem afetar a planta. Porém, essas diferenças nem sempre são facilmente observadas de forma a permitir a correta identificação da doença no campo, desse modo torna-se necessário a confirmação através do isolamento do agente causal (KIRKPATRICK e ROTHROCK, 2001). Ao seccionar-se transversalmente o caule ou raízes afetadas, nota-se o escurecimento dos feixes vasculares, causados pela oxidação e polimerização dos compostos fenólicos e outros compostos que podem atuar como fitoalexinas. Além disso, infecção do xilema pelo fungo causa a perda do turgor, que também contribui para alterações fisiológicas da planta (HILLOCKS, 1992).

Epidemiologia

O patógeno pode ser transmitido pelas sementes e pode também ser disperso por solo e resíduos da cultura aderidos a veículos e outros maquinários, ou ser carregados pela água de irrigação ou mesmo enchentes (ALLEN, 2007). Entretanto a disseminação a longas distâncias se dá principalmente por meio de sementes contaminadas, como foi relatado em diversos países como Estados Unidos, Índia, China, África e Austrália (BENNETT et al., 2008). O patógeno permanece viável na semente durante meses, podendo assim ser introduzido no campo de cultivo, desempenhando papel fundamental na introdução do patógeno em novas áreas e na dispersão de diferentes biótipos de uma área para outra (DAVIS et al., 2006). Como já mencionado anteriormente a doença é agravada na presença de nematóides fitoparasitas, dos gêneros *Meloidogyne*, *Rotylenchulus* e *Pratylenchus*, que provocam ferimentos nas raízes, facilitando a penetração do fungo. Em especial a associação de *M. incognita* e *Fov* causa perdas significativas em diversos países produtores de algodão, tanto em cultivares suscetíveis como moderadamente resistentes. Esse nematoide está presente nos principais países produtores de algodão no mundo, inclusive no Brasil (HILLOCKS, 1992). Quando há interação entre esses patógenos, usualmente os sintomas da doença são observados mais precocemente e de forma mais intensa (HAO et al., 2009).

Controle

Várias práticas tem sido recomendadas para o manejo da murcha-de-fusário, entretanto o uso de resistência genética é a mais recomendada (DAVIS et al., 2006).

A rotação de culturas é recomendada com o intuito de reduzir o inóculo inicial de *Fov*, reduzindo a incidência da doença. Entretanto o fungo tem capacidade de sobreviver no solo por longos períodos, tanto na forma de clamidósporos, como em restos vegetais, ou então colonizando hospedeiros secundários (SMITH et al., 2001; DAVIS et al., 2006).

O tratamento químico de sementes é recomendado visando principalmente evitar a introdução do patógeno em novas áreas ou eliminar o inóculo inicial que possa estar presente nas sementes. Por outro lado, o uso de fungicidas para a proteção e/ou tratamento das plantas afetadas, apesar de exequível, é na maioria das vezes pouco viável do ponto de vista prático e econômico, além de possuir limitada eficiência (KIRKPATRICK e ROTHROCK, 2001; LIMA et al., 2005).

Embora o uso destas, e outras práticas sejam fundamentais para o manejo da doença, o uso de cultivares resistentes é considerada a melhor estratégia, uma vez que não existem métodos curativos eficazes e viáveis do ponto de vista econômico para o controle dessa doença (SUASSUNA e COUTINHO, 2011). O sucesso do uso de cultivares resistentes depende em parte do conhecimento sobre a diversidade genética entre os isolados do patógeno, uma vez que podem existir populações do patógeno com diferentes níveis de agressividade, é preciso ter em mente que uma mesma cultivar pode apresentar um comportamento distinto dependendo da variabilidade dessas populações (BIBANCO et al., 2010). Apesar de existirem cultivares comerciais de algodoeiro consideradas resistentes e moderadamente resistentes à murcha-de-fusário, ainda não existem cultivares imunes a essa doença. O uso de resistência genética no manejo da murcha-de-fusário do algodoeiro tem sido em parte dificultado pela alta variabilidade nas populações do patógeno, aliado ao fato da necessidade de incorporar resistência a nematóides, além é claro da falta de padronização das condições experimentais, principalmente no que concerne aos métodos de inoculação e avaliação empregados (DAVIS et al., 2006; SUASSUNA e COUTINHO, 2011; BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

2.3. Resistência genética a murcha-de-fusário

Apesar de não terem sido encontrados genótipos de algodoeiro imunes a *Fov*, cultivares comerciais com moderados à elevados níveis de resistência, têm sido desenvolvidas em vários países, inclusive no Brasil (HILLOCKS, 1992; HALL, 2007; SUASSUNA et al., 2008a). A resistência a *Fov* é bastante variável, tanto em *G. hirsutum* quanto em *G. barbadense*, porém é considerada mais completa neste último (HILLOCKS, 1992). Enquanto em *G. barbadense* considera-se que a resistência seja geralmente governada por poucos genes de efeito principal, em *G. hirsutum* a resistência é considerada mais complexa, uma vez que é governada por vários genes de efeito principal e modificadores (SUASSUNA et al., 2008a).

De um modo geral, considera-se que os mecanismos envolvidos na resistência de algodoeiro a *Fov*, sejam tanto pela formação de barreiras físicas quanto pela acumulação de fitoalexinas, restringindo dessa forma o crescimento do patógeno no tecido vascular (HALL, 2007). Sabe-se hoje que as respostas físicas e químicas do algodoeiro à *Fov*, são considerados mecanismos complementares de defesa da planta, dessa forma os métodos de avaliação e seleção de genótipos de algodoeiro resistentes à esse patógeno, devem levar em consideração a simulação do processo natural de infecção evitando a indução de estresses desnecessários a planta, permitindo que a mesma expresse o máximo potencial de resistência devido exclusivamente ao efeito do patógeno (HALL, 2007; BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

2.4. Métodos de avaliação da resistência

Na escolha dos métodos de inoculação e avaliação de genótipos deve-se dar prioridade àqueles que se tenha confiabilidade, precisão, rapidez, eficiência e reprodutibilidade em várias condições (COUTO, 2008).

Inúmeros são os métodos disponíveis para avaliação da resistência à *Fov* nos mais variados patossistemas, entretanto os métodos mais frequentemente utilizados são laboriosos, muitas vezes extremamente agressivos a planta, além de em alguns casos não serem confiáveis ou não permitirem a avaliação de um grande número de genótipos. Podemos de modo geral, dividir estes métodos em dois tipos básicos, os chamados métodos de inoculação artificiais e os métodos de inoculação naturais.

O método de inoculação artificial mais comumente usado é o chamado *dipping* ou imersão de raízes e pode apresentar uma série de variações. Este método é considerado altamente

eficiente, porém é um método laborioso e extremamente drástico por causar injúria no sistema radicular da planta. Como neste método o patógeno é colocado em contato direto com os vasos condutores da planta, usualmente não é possível detectar genótipos que possam apresentar resistência *a priori* a penetração do patógeno (MACHADO et al., 2009). Adicionalmente a concentração de inóculo utilizada e o tempo de exposição das raízes podem afetar o resultado final além de ser muito dispendioso para ser utilizado em estudos com uma grande quantidade de genótipos sob condições ambientais controladas (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

Dentre os métodos de inoculação naturais, a técnica mais frequente é a de infestação do solo com uma suspensão de conídios do fungo, ou mesmo o plantio em solos naturalmente infestados com o patógeno. Em ambos os casos a principal desvantagem é a possibilidade de ocorrer escape da infecção pelo fato do patógeno não atingir o sítio de infecção. No primeiro caso existe ainda a desvantagem de que a técnica também é laboriosa e dispendiosa devido à necessidade da produção de grande quantidade de esporos do fungo em meio de cultura e ajuste da concentração das suspensões de esporos. No segundo caso, a principal desvantagem é a desuniformidade da concentração do inóculo em virtude do patógeno usualmente se distribuir de forma agregada no solo, formando as chamadas reboleiras onde a concentração do inóculo usualmente é maior do que no restante da área (CIA et al., 1991; SUASSUNA et al., 2008b; MACHADO et al., 2009).

Dentre os métodos naturais de infecção, existem ainda aqueles que envolvem a produção do inóculo em um substrato sólido e a posterior incorporação desse inóculo no substrato de cultivo das plantas. Esses métodos têm como vantagens a uniformização da concentração do inóculo, reduzindo a possibilidade de escape, e a simulação do processo natural de infecção, o qual permitiria uma resposta mais realista da reação do genótipo ou da planta à infecção pelo patógeno. Por tanto esses métodos são, em geral, menos laboriosos, pois uma vez produzido o inóculo este pode permanecer viável por vários meses, sem comprometimento dos resultados, reduzindo assim os custos e aumentando a eficiência operacional do processo (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012). Dentre esses métodos podemos citar a técnica de “chaff-grain” utilizada com sucesso em vários patossistemas, envolvendo diferentes espécies de *Fusarium* (LESLIE e SUMMERELL, 2006).

2.4.1. O método de "chaff-grain"

O método de "chaff-grain" (LESLIE e SUMMERELL, 2006) consiste no cultivo do fungo em um substrato composto de uma mistura de grãos e farelos de cereais a qual é posteriormente incorporada e homogeneizada junto com o substrato de cultivo das plantas, permitindo assim uma uniformização da concentração e da dispersão do inóculo do fungo. Adicionalmente, uma vez que as partículas colonizadas pelo fungo são incorporadas ao substrato de cultivo das plantas, o patógeno terá condições iniciais de se desenvolver mesmo na ausência do hospedeiro, o que usualmente não acontece quando a infestação do solo é feita diretamente por uma suspensão de esporos, pois além de poder existir alguma substância inibitória neste substrato, muitas vezes a germinação dos esporos só ocorre mediante a liberação de algum exsudado do sistema radicular da planta hospedeira (HILLOCKS, 1992). Assim como os demais, este método também apresenta algumas variações, sendo recomendados para patógenos habitantes do solo, capazes de sobreviver em restos de cultura ou como saprófitas (LESLIE e SUMMERELL, 2006) e tem sido utilizado com sucesso em outros patossistemas como mamona-*Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* (COSTA et al., 2011), e soja-*Fusarium solani* f. sp. *glycines* (KLINGELFUSS et al., 2007), além de ser particularmente apropriado para espécies de fungos que não formam clamidósporos, principalmente para numerosas espécies de *Fusarium* (LESLIE e SUMMERELL, 2006). No mais, este método é facilmente reproduzível, permite a avaliação concomitante de um grande número de genótipos, além de simular condições naturais de infecção da planta.

3. METODOLOGIA

3.1. Escolha dos genótipos

Foram utilizados 26 genótipos de algodoeiro do banco de germoplasma da Embrapa Algodão, sendo 13 cultivares, 10 linhagens avançadas e 3 linhagens elite oriundas de cruzamentos com materiais de alta qualidade de fibra, CNPA GO 2002-2043 x BRS Aroeira, CNPA GO 2002-2043 x AC-1-13-3-1, CNPA BA 3008 x AC 1-13-3-1, aqui designadas de L1, L2 e L3, respectivamente, desenvolvidas tanto para o cultivo no semiárido como para o cerrado nordestino (Tabela 1). Foi utilizado como padrão de suscetibilidade, a cultivar Deltapine 744, gentilmente cedida pelo Dr. R. M. Davis, da Universidade de Davis, na Califórnia (EUA).

Tabela 1. Genótipos de *Gossypium* spp., avaliados quanto a resistência à *Fov*.

Genótipos	Região de cultivo recomendada*
Cultivares	
Deltapine 744	-
BRS Aroeira	Semiárido
BRS 187 8H	Semiárido
BRS 201	Semiárido
CNPA 7H	Semiárido
BRS Seridó	Semiárido
BRS Araripe	Semiárido
BRS 200	Semiárido
BRS Verde	Semiárido
BRS Rubi	Semiárido
BRS Safira	Semiárido
BRS 293	Cerrado
Fiber Max (FM) 910	Cerrado
Linhagens Avançadas	
CNPA 2008-1265	Cerrado
CNPA 2008-1708	Cerrado
CNPA 2008-906	Cerrado
CNPA 2007-419	Cerrado
CNPA 2007-421	Cerrado
CNPA 2007-592	Cerrado
CNPA 2009-1381	Cerrado
CNPA 2008-1003	Cerrado
CNPA 2008-819	Cerrado
CNPA 2008-1238	Cerrado
Linhagens Elite	
CNPA GO 2002-2043 x BRS Aroeira (L1)	Semiárido
CNPA GO 2002-2043 x AC-1-13-3-1 (L2)	Semiárido
CNPA BA 3008 x AC 1-13-3-1 (L3)	Semiárido

* Para o caso das linhagens avançadas e linhagens elite, entende-se como região de cultivo recomendada aquela para a qual as mesmas estão sendo desenvolvidas.

3.2. Escolha dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

Foram utilizados dois isolados de *Fov* pertencentes à Coleção de Culturas de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão – CCMF-CNPA (Tabela 2). A escolha destes isolados foi definida com base na origem e na agressividade dos mesmos em ensaios conduzidos em estudos prévios.

Tabela 2: Isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*) utilizados nos experimentos para avaliação de resistência de algodoeiro.

Isolados	Origem
CCMF-CNPA 0005	Campina Grande, PB.
CCMF-CNPA 0007	São Desidério, BA.

3.3. Preparo do inóculo sólido

Para todos os ensaios o inóculo sólido foi preparado seguindo a metodologia de “chaff-grain” descrita por Leslie e Summerell (2006), adaptada por Costa (2012). Foi preparada inicialmente uma mistura de 5:1 de farelo de trigo e grãos de aveia, em um Becker de capacidade de 2 L ao qual foram adicionados aproximadamente 500 mL desta mistura e completado o volume para 1 L com água de torneira, mexendo-se vigorosamente para remover as bolhas de ar e permitir o umedecimento uniforme da mistura. Quando necessário o volume foi completado para 1 L. Os Beckers foram mantidos por 12 horas em geladeira a 5 °C. Decorrido este período o excesso de água foi escorrido por decantação invertendo-se o Becker sobre tecido permeável. Posteriormente a mistura foi espremida para eliminar o máximo de água possível. A mistura foi então transferida para Erlenmeyers de 1 L, até o volume aproximado de 500 mL, e autoclavada por 15 minutos, por dois dias consecutivos. Após a segunda autoclavagem foram adicionados 3 mL de uma suspensão de esporos de *Fov*, preparada conforme descrito no item 3.4. A mistura de farelo inoculado foi mantida em câmara de crescimento a 25 ± 2 °C, e agitado diariamente, até o quarto dia, para permitir uma colonização uniforme do substrato. Decorrido mais três dias, o substrato completamente colonizado, foi depositado sobre papel de filtro e deixado secar em temperatura ambiente durante a noite. Posteriormente, o material foi forçadamente peneirado em

uma peneira de 07 "mesh" para melhor uniformização das partículas, e em seguida, acondicionado em sacos de papel e armazenado na geladeira até a realização dos ensaios.

3.4. Preparo da suspensão de esporos

Os isolados de *Fov* foram cultivados em placas de Petri contendo o meio “synthetic nutrient-agar” (SNA) e mantidos em câmara de crescimento a temperatura de 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Decorrido este período, foram adicionados às placas com as colônias de *Fov*, 10 mL de água destilada esterilizada + Tween[®] 20 (1%) e com o auxílio de uma alça de Drigalsky, foi realizada a remoção superficial dos esporos do fungo. A suspensão obtida foi filtrada em uma camada dupla de gaze esterilizada e a concentração inicial de esporos, para cada um dos isolados, foi determinada por meio da contagem em câmara de Neubauer. Em seguida foi feito o ajuste para a concentração final de 5×10^4 esporos.mL⁻¹, a qual foi utilizada para a infestar o substrato de cultivo.

3.5. Quantificação do inóculo sólido

3.5.1. Contagem direta do número de esporos

Depois de produzido o inóculo, conforme descrito nos itens 3.3 e 3.4, foi feita a quantificação do número de esporos do fungo por volume de substrato. Para tal, foram removidas cinco sub-amostras de 10 mL do inóculo sólido, as quais foram suspendidas, separadamente, em 100 mL de água destilada esterilizada, acrescido de 1 mL de Tween[®] 20. Após preparada a suspensão foi feita a contagem do número de esporos do fungo com auxílio da câmara de Neubauer. Os dados obtidos foram utilizados para calibrar a quantidade de esporos do inóculo sólido a ser adicionado no substrato de cultivo das plantas, para ambos os isolados.

3.5.2. Determinação do número de unidades formadoras de colônias

Para determinar o número de unidades formadoras de colônias (UFC), foi utilizado o método de contagem de placa pela técnica de plaqueamento por diluição em série de 10. Inicialmente, 1 g do inóculo de *Fov* foi suspenso em 9 mL de água destilada esterilizada, logo em seguida foi feita a filtração em uma camada dupla de gaze. Da suspensão obtida foi removida uma alíquota de 1 mL, a qual foi transferida para outro tubo contendo 9 mL de água

destilada esterilizada. Esse procedimento foi realizado sucessivamente até a obtenção da diluição de 10^{-7} vezes a concentração inicial do inóculo. De cada uma das diluições de 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} , foi retirado 1 mL, o qual foi distribuído sobre placas de Petri contendo 20 mL do meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA).

As placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C por 3 dias, para desenvolvimento das colônias de *Fov*. A determinação do número de células viáveis (UFC.g⁻¹), por grama de inóculo sólido, foi determinado por meio da contagem das colônias nas placas com meio de cultura.

3.6. Inoculação de genótipos de algodoeiro a *Fov*

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação climatizada sobre bancadas no período de dezembro de 2011 a junho de 2012. A temperatura do substrato de cultivo e do ambiente foi aferida por meio de um sensor tipo Hobo[®] a cada 5 minutos durante todo o período de condução do ensaio.

As sementes foram tratadas com fungicida Vitavax-Thiram[®], conforme recomendação do fabricante, e então semeadas em bandejas de plástico para germinação com 162 células (18x9), sendo uma semente por célula, contendo substrato de cultivo composto de uma mistura de turfa e vermiculita na proporção de 3:1, respectivamente, o qual havia sido previamente esterilizado por dois dias consecutivos. Plântulas dos diferentes genótipos de algodoeiro entre cinco a sete dias de idade após emergência foram transplantadas conservando o mesmo substrato de cultivo em que foram semeadas anteriormente, sem causar injúrias ao sistema radicular da planta, para recipientes contendo aproximadamente 300 mL do substrato de cultivo, ao qual havia sido previamente misturado o inóculo, na proporção de 2% do volume final do substrato, de cada um dos isolados especificados anteriormente (Tabela 2). Os ensaios foram conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições, sendo 10 plantas uma repetição, para cada tratamento (genótipo). Como testemunhas foram utilizadas plântulas transplantadas para substrato de cultivo sem incorporação do fungo.

3.7. Métodos de avaliação da resistência à *Fov*

Os genótipos testados foram avaliados utilizando-se duas metodologias distintas para determinação da resistência à *Fov*. No primeiro método, as avaliações foram realizadas de quatro em quatro dias durante 30 dias consecutivos, a partir do sexto dia após o transplante. Cada

avaliação consistiu na atribuição de uma nota baseando-se na escala adaptada de Machado et al. (2009), onde 0 = sem sintomas; 1 = escurecimento das nervuras e clorose parcial dos cotilédones ou da primeira folha; 2 = clorose generalizada nos cotilédones ou na primeira folha, início de murcha e leve paralisação do crescimento; 3 = planta murcha, acentuada paralisação do crescimento e abscisão foliar; 4 = morte da planta (Figura 1). As notas de severidade da doença em cada planta na parcela foram utilizadas para calcular um índice de intensidade de infecção (I), expresso como $I = \sin^2 \omega$, para cada distribuição de frequência obtida na parcela (AMARAL, 1969), com as modificações propostas por Czermainski (1999). Os dados da variável ω , calculada a partir da transformação angular $\omega = \arcsin \sqrt{I}$, foram usados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

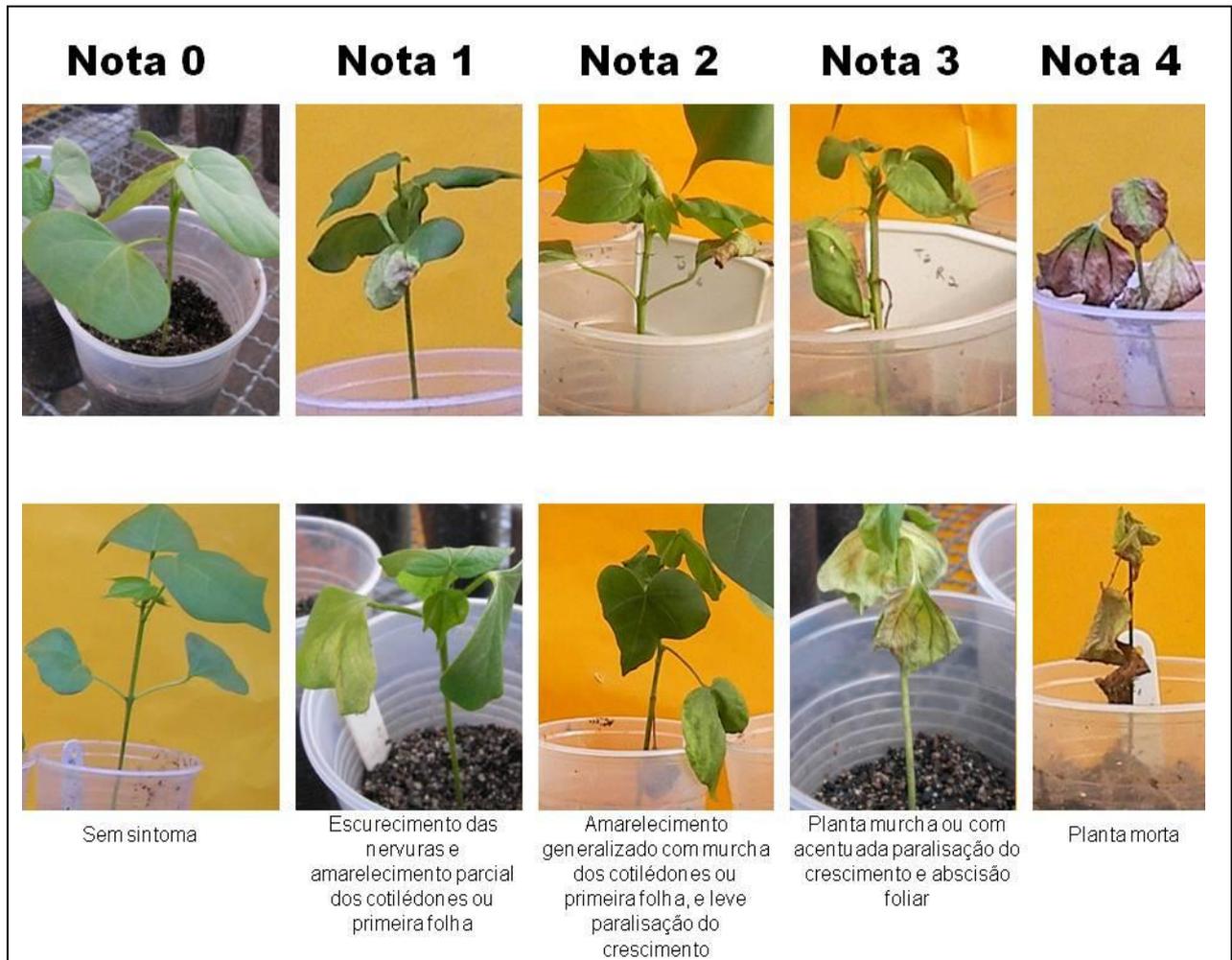


Figura 1. Escala de notas de severidade da doença para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD.

O segundo método de avaliação, consistiu na atribuição de notas de 0 a 10 baseadas numa escala de notas, onde foram feitas avaliações semanais fundamentada na velocidade de morte das plantas e no índice de escurecimento vascular - IEV (Tabela 3 e Figura 2), conforme definido por Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012).

Tabela 3: Escala de notas do índice de escurecimento vascular - IEV, modificada por Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012).

Nota	Sintomas
0	Sem descoloração vascular.
1	Descoloração vascular restrita a base do caule.
2	Descoloração vascular até a região do 1º entrenó (abaixo dos cotilédones).
3	Descoloração vascular acima dos cotilédones.
4	Descoloração vascular completa.
5	Planta morta na sexta semana.
6	Planta morta na quinta semana.
7	Planta morta na quarta semana.
8	Planta morta na terceira semana.
9	Planta morta na segunda semana.
10	Planta morta na primeira semana.



Figura 2. Representação das notas 0 a 4 da escala do índice de escurecimento vascular - IEV baseada em Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012). (Setas amarelas indicam o limite superior do escurecimento vascular e setas pretas indicam a inserção cotiledonar).

Os valores do IEV foram utilizados para determinar a classificação da resistência à murcha-de-fusário (CRMF), através da equação,

$$CRMF = 10\left(\frac{A}{N}\right) + 5\left(\frac{B}{N}\right) + 2,5\left(\frac{C}{N}\right) + 0,5\left(\frac{D}{N}\right)$$

Onde N é o número total de plântulas avaliadas; A é o número total de plantas com notas 0 e 1; B o número total de plantas com notas 2 e 3; C o número total de plantas com notas 4 e 5 e D o número total de plantas com notas 6 a 10. De acordo com essa metodologia de avaliação, genótipos cujos valores de CRMF variam de 0,5 a 2,49, são classificados como altamente suscetível, aqueles com valores variando de 2,5 a 4,9 são classificados como moderadamente resistente e aqueles com CRMF superiores a 5 como altamente resistente (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012). Adicionalmente, foram calculados também os valores de CRMF, para cada repetição, dos diferentes ensaios, os quais foram utilizados para determinação da análise de variância e subsequente teste de médias.

3.8. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o pacote estatístico Sisvar[®] 5.1 Build 72 (FERREIRA, 2011). A normalidade e homocedacidade dos dados foram verificadas usando os testes de Shapiro-Wilk ($P = 0,05$) e Bartlett's ($P = 0,05$), respectivamente, usando o software SAS[®] v 9.1. Após verificação da homocedacidade das variâncias para a variável AACPD, foi realizada a análise de variância conjunta dos isolados, para os ensaios com genótipos do cerrado e do semiárido separadamente. O teste de Scott-Knott, para comparação múltipla de médias foi aplicado para o agrupamento dos genótipos conforme valores médios de AACPD e CRMF. A similaridade dos métodos de avaliação (AACPD e CRMF) foi determinada por meio da correlação ordinal ou classificatória de Spearman (r_s) (SNEDECOR e COCHRAN, 1967). A significância da correlação de Spearman foi verificada por meio do teste t . Esse mesmo teste (teste t) também foi aplicado para verificar se os genótipos do cerrado diferiam em relação aos genótipos do semiárido quanto à resistência a *Fov*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Quantificação do inóculo sólido

Usando-se o método de quantificação direta da contagem de esporos por meio da câmara de Neubauer obteve-se, para o isolado CCMF-CNPA 0005, a contagem média de $1,6 \times 10^6$ esporos.mL⁻¹ do substrato sólido, enquanto que para o isolado CCMF-CNPA 0007 a contagem média do número de esporos por mL da suspensão foi de $2,1 \times 10^6$ esporos.mL⁻¹ do substrato sólido.

Pelo método de determinação do número de unidade formadoras de colônias (UFC.g⁻¹ inóculo) obteve-se a média de 7×10^8 e 4×10^8 esporos.g⁻¹ do inóculo sólido, respectivamente para os isolados CCMF-CNPA 0005 e 0007.

Enquanto na quantificação pela contagem direta do número de esporos, consideram-se apenas os macro e microconídios produzidos pelo fungo, a contagem por meio da técnica de UFC considera, além dos esporos, outros tipos de propágulos, como clamidósporos e fragmentos de micélio (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012), o que justifica, em parte, as diferenças nas quantidades de propágulos obtidas pelos diferentes métodos. Adicionalmente, essas diferenças nos valores médios do número de esporos e UFC foram também devidas as diferenças entre a quantidade de inóculo equivalente a 1 mL em relação a quantidade equivalente a 1 g desse mesmo inóculo.

A quantidade de inóculo utilizada para infestação do substrato de cultivo (2 % do volume final do substrato) equivaleria, em média a uma concentração final na ordem de 10^4 a 10^5 propágulos do fungo por mL do substrato de cultivo das plantas. Concentrações de inóculo dessa magnitude também foram utilizadas com sucesso em outros estudos (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012; MACHADO et al., 2009). Dessa forma a metodologia aqui utilizada para produção do inóculo e sua posterior incorporação ao substrato de cultivo mostrou-se efetiva, além de ser de baixo custo e fácil operacionalidade.

Uma das principais críticas quanto ao uso de substratos artificialmente infestados para a realização de ensaios de reação de genótipos diz respeito à possibilidade de escape (MACHADO et al., 2009), devido muitas vezes a desuniformidade na concentração do inóculo no substrato de cultivo. Por meio da quantificação prévia do número de esporos no inóculo sólido, tanto pela técnica de contagem direta, como pela determinação da UFC, é possível uniformizar a concentração final do inóculo no substrato de cultivo e assim minimizar a ocorrência de escape. Adicionalmente o uso dessa técnica de inoculação permite que as plantas sejam expostas uniforme e continuamente aos propágulos do fungo distribuídos pela matriz do substrato e sob estas condições a probabilidade de escape da inoculação é muito reduzida (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

4.2. Reação de genótipos de algodoeiro a inoculação com *Fov*

As temperaturas médias diurna e noturna do ambiente e do substrato de cultivo, durante a condução dos ensaios, foram de 32,9 °C e 25,4 °C, e 30,7 °C e 25,3 °C, respectivamente. As médias das temperaturas máxima, mínima e média registrada foram 45,6 °C, 22,7 °C e 29,2 °C para o ambiente, e 39 °C, 22,7 °C e 27,9 °C para o substrato de cultivo.

Nas análises de variância resumidas apresentadas nas Tabelas 4 e 5, podemos observar que houve diferenças significativas entre os isolados quanto à agressividade, sendo o isolado CCMF-CNPA 0007 mais agressivo que o CCMF-CNPA 0005, a maior agressividade deste isolado também foi verificada em estudos anteriores (SOUSA et al., 2008; CARLOS, 2012). Os genótipos também apresentaram diferença significativa, tanto para aqueles recomendados para cultivo no semiárido (Tabela 4), quanto para aqueles recomendados para cultivo no cerrado (Tabela 5). Em ambos os ensaios não foi observada a ocorrência de interação entre os fatores, indicando que o padrão de ordenamento quanto ao grau de resistência foi similar para ambos os isolados, ou seja, o comportamento dos genótipos foi constante para os dois isolados.

Tabela 4. Resumo da análise de variância para a variável AACPD para 14 genótipos recomendados para cultivo no semiárido.

Fator de Variação	GL	Quadrados Médios
		AACPD
Isolados	1	1.487.587,07**
Blocos (Isolados)	6	54.690,72 ^{ns}
Genótipos	13	269.599,01**
Genótipos x Isolados	13	41.881,71 ^{ns}
CV (%)		12,20

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); ^{ns} não significativo.

Tabela 5. Resumo da análise de variância para a variável AACPD para 12 genótipos recomendados para cultivo no cerrado.

Fator de Variação	GL	Quadrados Médios
		AACPD
Isolados	1	969.746,61**
Blocos (Isolados)	6	97.059,97*
Genótipos	11	545.655,31**
Genótipos x Isolados	11	70969,91 ^{ns}
CV% =		16,40

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo

Considerando os valores médios da AACPD obtidos para os genótipos recomendados para cultivo no semiárido (Tabela 6) houve a formação de dois grupos por meio do teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Os genótipos BRS Verde, L 2, BRS Araripe, CNPA 7H, BRS 201 e L 1, foram agrupados em um mesmo nível de resistência, sendo considerados mais resistentes que os genótipos BRS Safira, BRS Seridó, BRS Aroeira, L 3, Deltapine 744, BRS 187 8H, BRS 200 e BRS Rubi. Entretanto, para todos os genótipos testados, os valores de AACPD obtidos foram considerados elevados, o que significa que todos esses genótipos foram

suscetíveis a *Fov*, embora o método tenha sido acurado e suficiente para discriminar diferentes níveis, conforme pode ser observado na Tabela 6.

Por outro lado, considerando-se os valores médios do CRMF (Tabela 6), foi possível agrupar os genótipos em três categorias distintas por meio do teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade, onde a BRS Verde foi classificada como sendo a cultivar com maior grau de resistência a *Fov*. Utilizando-se os valores do CRMF para classificar os genótipos quanto ao nível de resistência, as cultivares BRS Verde e BRS Araripe foram consideradas moderadamente resistentes, enquanto todos os demais genótipos testados foram considerados altamente suscetíveis a *Fov*. Embora essa metodologia de avaliação tenha permitido classificar esses dois genótipos na categoria moderadamente resistente observa-se, na prática, que todos os genótipos apresentaram sintomas severos da doença (Figura 3).

Tabela 6. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), classificação da resistência a murcha-de-fusário (CRMF) e correlação de Spearman (r_s) de 14 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no semiárido, inoculados com dois isolados distintos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fov).

Genótipos	AACPD	CRMF	Correlação de Spearman	
			Ordem AACPD	Ordem CRMF
BRS Verde	1207,90 a*	3,45 (MR) a**	14	1
L 2	1343,81 a	2,19 (AS) b	13	4
BRS Araripe	1364,64 a	2,62 (MR) b	12	2
CNPA 7H	1382,09 a	2,21 (AS) b	11	3
BRS 201	1481,95 a	1,71 (AS) c	10	6
L 1	1498,65 a	1,74 (AS) c	9	5
BRS Safira	1562,43 b	1,64 (AS) c	8	7
BRS Seridó	1601,12 b	1,23 (AS) c	7	10
BRS Aroeira	1651,49 b	1,20 (AS) c	6	11
L 3	1658,32 b	1,39 (AS) c	5	8
Deltapine 744	1688,35 b	1,12 (AS) c	4	13
BRS 187 8H	1720,44 b	1,19 (AS) c	3	12
BRS 200	1731,49 b	1,34 (AS) c	2	9
BRS Rubi	1871,10 b	0,84 (AS) c	1	14
Média Geral	1554,56	1,70	r_s	-0,91***

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); ** AS = altamente suscetível, MR = moderadamente resistente, conforme BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al. (2012); *** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste *t*.

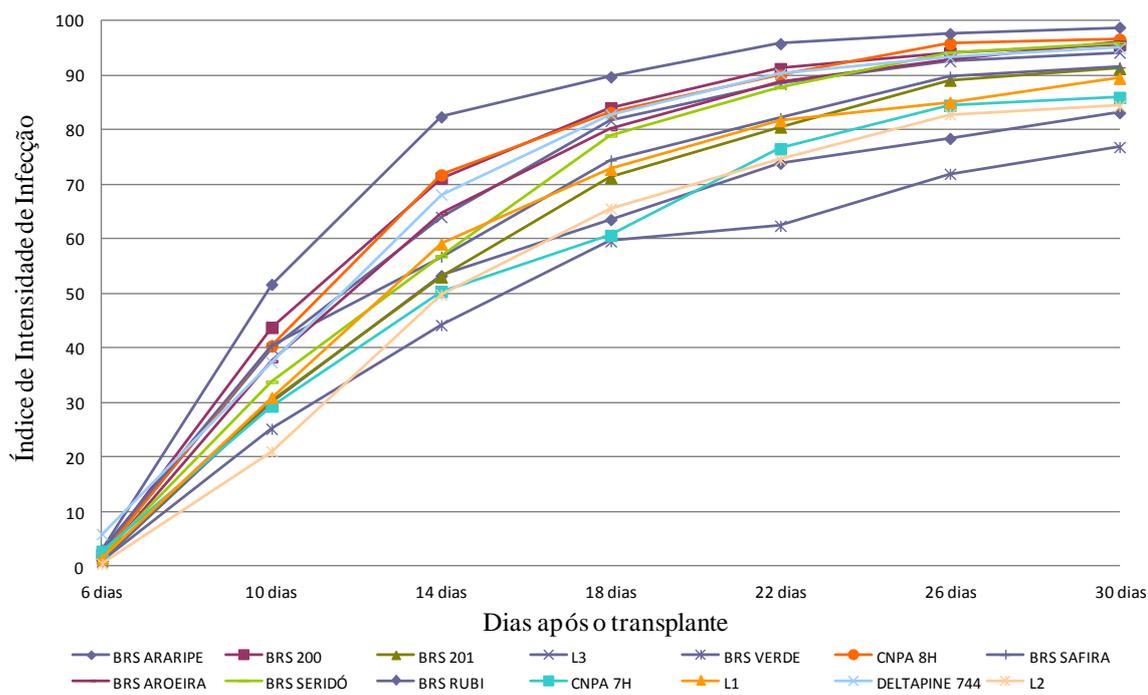


Figura 3. Curvas de progresso da murcha-de-fusário de 14 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no semiárido, inoculados com dois isolados distintos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*).

Diferentemente dos resultados obtidos em relação aos genótipos do semiárido, os genótipos recomendados para cultivo no cerrado puderam ser divididos em quatro grupos distintos em relação à variável AACPD, por meio do teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade (Tabela 7). Os genótipos CNPA 2008-1238, CNPA 2008-906 e CNPA 2008-1003, foram considerados mais resistentes que os demais genótipos testados e apresentaram os menores valores de AACPD. O segundo grupo foi constituído pelos genótipos CNPA 2009-1381, BRS 293, CNPA 2008-819. Os genótipos CNPA 2007-592, CNPA 2008-1708 e Fibermax 910 constituíram o terceiro grupo, enquanto os genótipos CNPA 2007-419, CNPA 2008-1265 e CNPA 2007-421, foram considerados os mais suscetíveis, uma vez que apresentaram os maiores valores de AACPD.

Considerando-se a variável CRMF apenas os genótipos CNPA 2008-1708, CNPA 2007-419, CNPA 2008-1265 e CNPA 2007-421 foram considerados altamente suscetíveis, enquanto que os demais genótipos testados foram considerados moderadamente resistentes (Tabela 7). O resultado do teste de médias aplicado aos valores de CRMF foi idêntico ao resultado do teste de

médias dos valores de AACPD. Observando-se as curvas de progresso da doença (Figura 4) podemos notar que a classificação dos genótipos por meio da AACPD permitiu uma melhor estratificação dos genótipos quando comparado ao método de CRMF..

Tabela 7. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), classificação da resistência a murcha-de-fusário (CRMF) e correlação de Spearman (r_s) de 12 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no cerrado, inoculados com dois isolados distintos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Fov).

Genótipos	AACPD	CRMF	Correlação de Spearman	
			Ordem AACPD	Ordem CRMF
CNPA 2008-1238	821,65 a*	4,48 (MR) a**	12	1
CNPA 2008-906	856,44 a	4,01 (MR) a	11	3
CNPA 2008-1003	903,49 a	4,48 (MR) a	10	2
CNPA 2009-1381	994,82 b	3,51 (MR) b	9	4
BRS 293	1013,66 b	3,44 (MR) b	8	5
CNPA 2008-819	1144,41 b	3,18 (MR) b	7	6
CNPA 2007-592	1269,44 c	2,57 (MR) c	6	8
CNPA 2008-1708	1275,54 c	1,88 (AS) c	5	9
Fiber Max 910	1366,18 c	2,74 (MR) c	4	7
CNPA 2007-419	1432,54 d	1,71 (AS) d	3	10
CNPA 2008-1265	1538,32 d	1,36 (AS) d	2	11
CNPA 2007-421	1545,41 d	1,32 (AS) d	1	12
Média Geral	1180,16	2,89	r_s	-0,97***

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); ** AS = altamente suscetível, MR = moderadamente resistente, conforme BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al. (2012); *** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste *t*.

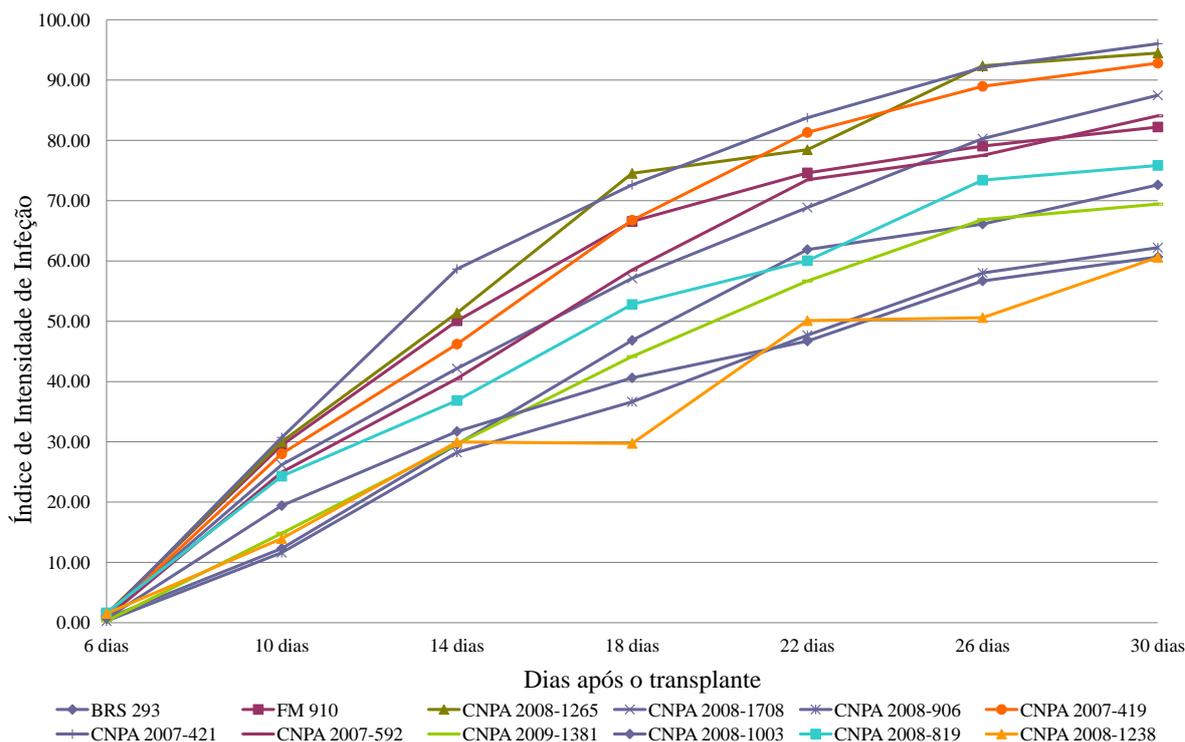


Figura 4. Curvas de progresso da murcha-de-fusário de 12 genótipos de algodoeiro recomendados para cultivo no cerrado, inoculados com dois isolados distintos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*Fov*).

Com base em ambos os ensaios foi possível verificar que houve uma alta correlação entre as duas metodologias de avaliação de resistência dos genótipos de algodoeiro a infecção por *Fov*. Os métodos de avaliação por meio da AACPD e CRMF apresentaram uma correlação superior a 0,90 (Tabelas 6 e 7), a qual foi significativa a 1 % de probabilidade pelo teste *t*. Resultados semelhantes também foram obtidos por Ulloa et al. (2006), quando da comparação da avaliação da severidade dos sintomas externos e índice de escurecimento vascular, confirmando os resultados obtidos no presente estudo.

Apesar das categorias de CRMF terem sido comparadas e validadas com estudos de campo (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012) observou-se nesse estudo que a separação subjetiva dos níveis altamente resistente, moderadamente resistente e altamente suscetível, pode levar a recomendações de uso de genótipos cujos níveis de doença, sejam pouco diferenciados na prática. O uso dos termos altamente suscetíveis, moderadamente resistentes ou altamente resistentes, conforme preconizado por Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012), é subjetiva e questionável do ponto de vista biológico, entretanto a alta correlação apresentada por ambos os

métodos (Tabela 6 e 7), comprova que as duas metodologias são acuradas o suficiente para a distinção de genótipos de algodoeiro quanto a resistência a infecção por *Fov* e que a metodologia de inoculação e cultivo das plantas, apesar de distinta daquela utilizada por Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012), também foi eficaz.

Conforme pode ser observado nas Tabelas 6 e 7, ambas as metodologias de avaliação permitiram a diferenciação dos genótipos mais resistentes em relação aos mais suscetíveis.

O refinamento da escala de notas para avaliação da AACPD, atribuindo-se notas maiores as plantas mortas mais rapidamente, seguindo-se o mesmo princípio adotado pelo método desenvolvido por Becerra Lopez-Lavalle et al. (2012), permitiria que essa metodologia tivesse maior poder discriminatório. Porém, apesar de o método de avaliação por meio da AACPD considerar a magnitude do desenvolvimento da severidade da doença ao longo do tempo e exigir um menor período de tempo entre o início e o fim do ensaio, quando comparado com o método de CRMF, a avaliação por meio daquele método foi considerada mais laboriosa e sujeita a uma maior probabilidade de erro, devido a fatores externos. Uma vez que, em muitos casos o fungo pode colonizar a planta sem induzir sintomas externos, embora alguma descoloração vascular possa estar presente o método de avaliação por meio da AACPD não detectaria esses sintomas. Além disso, inúmeros outros fatores podem influenciar a expressão dos sintomas externos, como vigor da planta, condições climáticas, interações com outros microrganismos do solo, presença de insetos ou outros patógenos (DAVIS et al., 2006). A metodologia de avaliação por meio da AACPD apesar de eficiente e acurada é mais laboriosa e está sujeita a maior influência dos fatores mencionados acima do que a metodologia de avaliação por meio do IEV. Essa limitação do método de avaliação por meio da AACPD já foi destacada em outros estudos (MACHADO et al., 2009).

Por outro lado, a simplicidade do uso da metodologia de avaliação por meio do IEV, faz com que essa metodologia seja mais atrativa para a avaliação de grande número de genótipos. Dessa forma, a avaliação por meio do índice de escurecimento vascular, com as modificações propostas por Becerra Lopez-Lavalle et al., (2012), seria a mais indicada para a avaliação de grande número de genótipos de algodoeiro quanto a resistência a *Fov*. Entretanto, ao invés de subjetivamente classificar os genótipos em altamente resistente, moderadamente resistente e altamente suscetível, como recomendado inicialmente na metodologia descrita por Becerra Lopez-Lavalle et al., (2012), nós sugerimos que seja aplicado, aos valores médios de CMRF, um teste de médias, evitando assim a classificação de genótipos, que tenham médias muito próximas, em categorias distintas de resistência, como pode ser observado nos resultados do presente trabalho.

5. CONCLUSÕES

Houve variabilidade quanto à agressividade dos diferentes isolados de *Fov* utilizados no presente estudo, como também os genótipos de algodoeiro utilizados apresentaram reação diferencial quanto a sua resistência a *Fov*.

A maior parte dos genótipos recomendados para cultivo no cerrado apresentaram níveis moderados de resistência a *Fov*, enquanto a maioria dos genótipos recomendados para cultivo no semiárido foram considerados altamente suscetíveis. Portanto, não foram detectados genótipos imunes ou com elevados índices de resistência a *Fov*, dentre os genótipos testados.

Os métodos de avaliação por meio da área abaixo da curva de progresso da doença - AACPD e o índice de escurecimento vascular - IEV, apresentaram alta correlação, sendo o método de avaliação do índice de escurecimento vascular considerado menos laborioso e mais preciso quando comparado com o método de avaliação por meio da área abaixo da curva de progresso da doença.

REFERÊNCIAS

ABRAPA. Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Estatísticas - **O algodão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.abrapa.com.br/estatisticas/Paginas/Algodao-no-Brasil.aspx>>. Acesso em: 28 jun. 2012.

ALLEN, S. J. Integrated Disease Management for Fusarium Wilt of Cotton in Australia. In: The World Cotton Research Conference, 4, 2007. Lubbock, TX. **Anais...** 2007. Disponível em: <<http://wrc.confex.com/wrc/2007/techprogram/P1379.HTM>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

AMARAL, E. Novo índice de intensidade de infecção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 1-2, 1969.

BECERRA LOPEZ-LAVALLE, L. A.; POTTER, N.; BRUBAKER, C. L. Development of a rapid, accurate glasshouse bioassay for assessing fusarium wilt disease responses in cultivated *Gossypium* species. **Plant Pathology**. 2012. doi 10.1111/j.1365-3059.2012.02603.x

BELTRÃO, N. E. de M. **Cultivo do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. raça *latifolium* Hutch) no Brasil**. 2011. Trabalho apresentado no 1º Seminário de Indicação Geográfica do Algodão Colorido da Paraíba, Campina Grande, PB, 2011.

BELTRÃO, N. E. de M.; SILVA, C. A. D. da; BASTOS, C. S.; SUINAGA, F. A.; ARRIEL, N. H. C.; RAMALHO, F. de S. **Algodão agroecológico: opção de agronegócio para o semi-árido do Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. 62p. (Embrapa Algodão. Documentos, 222). Disponível em: <<http://www.prodemb.cnptia.embrapa.br/busca.jsp>> produção científica - algodão- documentos 222. Acesso em: 24 out. 2011.

BELTRÃO, N. E. de M.; VALE, L. S. do; MARQUES, L. F.; CARDOSO, G. D.; SILVA, F. V. de F.; ARAÚJO, W. P. de. O cultivo do algodão orgânico no semiárido Brasileiro. **Revista Verde**, v. 5, n. 5, p. 8-13, 2010.

BENNETT, R. S.; HUTMACHER, R. B. DAVIS, R. M. Seed transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Race 4 in California. **The Journal of Cotton Science**. v. 12, p. 160–164, 2008.

BIBANCO, K. R. P.; NUNES, M. P; CIA, E.; PIZZINATTO, M. A.; SCHUSTER, I.; MEHTA, Y. R. Identification of genetic variability among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* of cotton. **Tropical Plant Pathology**. v. 35, n. 4, p. 241-244, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva do algodão**. Antônio Márcio Buainain e Mário Otávio Batalha (coordenadores), Pedro Vieira Junior, Sheila Ferreira Leite. – Brasília: IICA: MAPA/SPA, 2007. 108 p. – (Agronegócios; v. 4).

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York City: John Wiley e Sons, 1990.

CARLOS, A. C. **Validação do método de chaff-grain para avaliação da resistência de genótipos de algodoeiro à *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum***. 2012. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

CARVALHO, L. P. de. O gênero *Gossypium* e suas espécies cultivadas e silvestres. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Ed). **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 2 ed. rev. e ampl. 2008. p. 251-270.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; CHIAVEGATO, E. J.; DUDIENAS, C.; GRIDI-PAPP, I. L.; CAMARGO, A. P.; FILHO, O. P.; SOAVE, J. Tentativa de infestação artificial do solo com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em condições de campo. **Bragantia**, v.50, n.2, p. 261-267, 1991.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Oitavo levantamento da safra 2011/2012: Maio/2012**. Disponível em: <

<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&ordem=Mês/Ano da publicação>>. Acesso em: 26 jun. 2012.

COSTA, R. V. S. da. **Avaliação de genótipos de mamoneira quanto a resistência à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, agente causal da murcha-de-fusário**. 2012. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso, Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba,

COSTA, R. V. S.; MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. M.; SOARES, D. J. Reação de genótipos de mamoneira a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, Suplemento, p. 624, 2011.

COUTO, E. F. **Resistência de algodoeiro a murcha de fusário: métodos de obtenção de plântulas e inoculação; avaliação de germoplasmas; indução de resistência e caracterização da atividade enzimática**. 2008. 67 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRP.

CZERMAINSKI, A. B. C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em experimentos de doenças em plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n.9, p.1545-1555. 1999.

CUNHA, H. R. da; FREIRE, E. C. Sustentabilidade da cotonicultura. In: FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. 2 ed. Aparecida de Goiânia: Mundial gráfica, 2011, p. 163-182.

DAVIS, R. M.; COLYER, P. D.; ROTHROCK, C. S.; KOCHMAN, J. K. *Fusarium* wilt of cotton: Population, Diversity and Implications for Management. **Plant Disease**, v.90, n.6, p.692-703, 2006.

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

FUZATTO, M. G.; CIA, E.; CHIAVEGATO, E. J. Estabilidade da produção de genótipos de algodoeiro em face da ocorrência de doenças e nematoides. **Bragantia**. v. 53, n.1, p.47-52, 1994.

GRID-PAPP, I. L.; CIA, E.; SOAVE, J. Transferência de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* baseada em inoculação durante a germinação de sementes de algodoeiro e em testes sob condições naturais. **Bragantia**, v. 38, n. 12, p. 115-121, 1979.

HALL, C. R. **The infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in Australian cotton and associated cotton defence mechanisms.** 2007. 247 f. Ph. D. Thesis, (School of Botany). The University of Melbourne.

HAO, J. J.; YANG, M. E.; DAVIS, R. M. Effect of soil inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 4 on disease development in cotton. **Plant Disease**, v. 93, n. 12, p. 1324-1328, 2009.

HILLOCKS, R. J.. **Cotton diseases.** Wallington: CAB International, 1992. 415 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE:** Estatística da produção agrícola. Junho de 2012. Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/.../lspa_201202.pdf. Acesso em: 06 jun. 2012.

KIRKPATRICK, T. L.; ROTHROCK, C. S. (Ed.). Stem and root diseases: Fusarium wilt. **Compendium of cotton diseases.** St. Paul: The American Phytopathological Society, 2001.

KLINGELFUSS, L. H.; YORINORI, J. T.; DESTRO, D. Métodos de inoculação para quantificação de resistência em soja a *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 50-55, 2007.

KOURI, J. Importância econômica. In: **Cultivo do algodão herbáceo na agricultura familiar.** 2 ed. Versão eletrônica. EMBRAPA ALGODÃO, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar_2ed/importancia.html>. Acesso em: 27 nov. 2011.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* Laboratory Manual.** Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2006. 388 p.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; VALLE, L. A. C. Controle Genético de Doenças Radiculares. In: **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Ed.). Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005, p. 247-278.

MACHADO, L. P.; MICHEREFF, S. J.; FALLEIRO, B. A. S.; OLIVEIRA, M. G.; COUTINHO, W. M.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Um método simples e rápido de seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n.1, p.51-55, 2009.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A. (Coord.). **A cadeia do algodão brasileiro: desafios e estratégias**. ABRAPA - Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Disponível em: <<http://www.abrapa.com.br/Documents/Livro%20A%20Cadeia%20do%20Algodao%20-%20Abrapa.pdf>>. Acesso em: 28 jun. 2012.

QUEIROGA, V. de P.; CAVALHO, L. P. de; CARDOSO, G. D. **Cultivo do algodão colorido orgânico na região semiárida do Nordeste brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 49p. (Embrapa Algodão. Documentos, 204). Disponível em: <<http://www.prodemb.cnptia.embrapa.br/busca.jsp> > produção científica - algodão- documentos 204. Acesso em: 21 jun. 2012.

SMITH, S. N.; DeVAY, J. E.; LEE, W. H. H. J. Soil-borne populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, cotton wilt fungus in California fields. **Mycologia**, v. 93, p.737-743, 2001.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical Methods**. 6 ed. Ames: The Iowa State University Press, 1967. 593p.

SOUSA, M. V.; MACHADO, J. C.; PFENNING, L. H.; KAWASAKI, V. H.; ARAÚJO, D. V.; SILVA, A. A.; MARTINI NETO, A. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n.1, p. 41-48, 2008.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.) **Algodão no cerrado brasileiro**. 2 ed. Revisada e ampliada. Aparecida de Goiânia: Mundial gráfica. 2011. p. 567-612.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M.; MORELLO, C. de L. Resistência genética do algodoeiro a doenças. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Ed). **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. 2 ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 2008a. p. 325-354.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M.; ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M.; CHITARRA, L. G. Manejo de doenças do algodoeiro. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Ed). **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. 2 ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 2, 2008b. p. 983-1032.

ULLOA, M.; HUTMACHER, B.; DAVIS, R. M.; BENNETT, R.; PERCY, R.; MARCH, B.; WRIGHT, S.; McGUIRE, M. Commercial and improved germoplasm evaluations for fusarium wilt, *Fov* race 1 with root-knot nematodes and race 4. In: Beltwide Cotton Conferences, San Antonio, Jan 3 jun, 2006. Texas. **Anais...** 2006. Disponível em: < ncc.confex.com/ncc/2006/.../P4395.HTM>. Acesso em 09 jun. 2012.