

LITERVALDO PEREIRA MACHADO

**SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-FUSÁRIO EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

**RECIFE -PE
FEVEREIRO – 2008**

LITERVALDO PEREIRA MACHADO

**SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-FUSÁRIO EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitossanidade.

**RECIFE - PE
FEVEREIRO – 2008**

Ficha catalográfica

M149p Machado, Litervaldo Pereira
Seleção para resistência à murcha-de-fusário
em genótipos de algodoeiro / Litervaldo Pereira
Machado. – 2008.
52 f. : il.

Orientador: Sami Jorge Michereff
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) -
Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Departamento de Agronomia.
Inclui bibliografia.

CDD 632

1. *Gossypium hirsutum* L.
 2. *Fusarium oxysporum* f. Sp. *vasinfectum*
 3. Manejo
 4. Melhoramento genético vegetal
 5. Epidemiologia
- I Michereff, Sami Jorge
II. Título

**SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-FUSÁRIO EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

LINTERVALDO PEREIRA MACHADO

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Orientador

Dr. Nelson Dias Suassuna (EMBRAPA) – Co-orientador

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima (UFAL) – Co-orientador

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2008**

**SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-FUSÁRIO EM
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO**

LITervaldo PEREIRA MACHADO

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 26/02/2008

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof^o Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

Dr. Domingos Eduardo Tavares de Andrade (IPA)

Dr. Nelson Dias Suassuna (EMBRAPA)

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2008**

“Obrigado!”.

AGRADECIMENTOS

A todos.

DEDICO

A Deise (esposa) e Rafael (filho).

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Sami Jorge Michereff, pela amizade e orientação.

Aos pesquisadores Nelson Dias Suassuna e Wirton Macedo Coutinho, pela contribuição indispensável na execução deste trabalho.

Aos professores Rosa de Lima Ramos Mariano, Delson Laranjeira, Rildo Sartori, Sônia Oliveira, Elineide Silveira, Marcos Câmara e Elvira Pedrosa, pelos ensinamentos ministrados.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelo apoio dispensado, e aos demais funcionários e professores do curso, pelos ensinamentos ministrados.

Aos amigos do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Algodão, Joseni, Marcelo Oliveira, Clarice da Luz, Cíntia Bezerra, Fabíola Silva, Amanda Gonçalves, Jeferson Araújo e Pollyne Borborema, pelos fortes laços de amizade construídos ao longo desse período de convivência e que, certamente, ficarão para sempre.

Aos demais colegas da Pós-graduação em Fitopatologia, pela convivência e amizade.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vii
SUMÁRIO	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I – Introdução Geral	11
Referências Bibliográficas	24
CAPÍTULO II – Seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro.....	30
Resumo	31
Abstract	32
Introdução	32
Material e Métodos	34
Resultados e Discussão	37
Agradecimentos	44
Referências Bibliográficas	45
CONCLUSÕES GERAIS	51

RESUMO

A murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, é uma das principais doenças do algodoeiro em todo o mundo. Apesar da baixa incidência da doença no cerrado, principal região produtora do Brasil, a murcha-de-fusário tem preocupado os produtores de algodão na região em virtude de ser potencialmente destrutiva. A tática de manejo da doença mais desejável é o uso de cultivares resistentes. Neste trabalho desenvolveu-se um método para seleção de genótipos de algodoeiro, que consistiu no plantio de sementes de algodoeiro em bandejas de plástico para germinação, que foram dispostas em casa-de-vegetação climatizada. As células das bandejas foram preenchidas com vermiculita esterilizada, e em cada célula foi plantada uma semente. Aos 5 e 7 dias após o plantio, depositou-se, em cada célula, uma suspensão de esporos. Foram testados 64 genótipos de algodoeiro com intuito de avaliar a sua resistência à murcha-de-fusário. O uso desse método possibilitou a identificação de novas fontes com alta resistência a murcha-de-fusário, como os genótipos FM 993, Stoneville LA 887, CNPA GO 2002-3778 e HS 26.

Palavras-chave: melhoramento, resistência genética, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

ABSTRACT

The cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* is one of the most important cotton diseases of the world. This disease is potentially destructive and had caused losses to cotton farms in the main cotton growing area in Brazil. The use of resistant cultivars is the main recommended practice to manage fusarium cotton wilt. In this study is described a simple, precise, and fast method to screen cotton germplasm for wilt resistance. By employing this method was identified new resistance sources of cotton genotypes to fusarium cotton wilt, as the genotypes FM 993, Stoneville LA 887, CNPA GO 2002-3778, and HS 26 among 64 accessions inoculated with a Brazilian pathogen population sample.

Key words: cotton breeding, genetic resistance, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Capítulo I

Introdução Geral

INTRODUÇÃO GERAL

O algodoeiro é uma planta da família Malvaceae, pertencente ao gênero *Gossypium*. O gênero inclui 45 espécies diplóides ($2n = 2x = 26$) e cinco espécies tetraplóides ($2n = 4x = 52$). As espécies diplóides pertencem a oito grupos genômicos (A–G e K). O clado africano, que inclui os genomas A, B, E e F ocorre naturalmente na África e Ásia, enquanto o genoma D é nativo das Américas. Um terceiro clado diplóide, que inclui os genomas C, G e K, é encontrado na Austrália (WENDEL; CRONN, 2003). Todas as espécies de 52 cromossomos, incluindo *G. hirsutum* L e *G. barbadense* L, são alotetraplóides naturais que surgiram de hibridização interespecífica entre uma espécie ancestral africana de genoma A e uma espécie americana de genoma D (CHEN *et al.*, 2007). Mais de 95% do algodoeiro cultivado no mundo é da espécie *G. hirsutum*, enquanto que o algodoeiro de fibra longa (*G. barbadense* L.) contribui com menos de 2% da produção. As espécies diplóides *G. herbaceum* L. e *G. arboreum* L. são cultivadas na Ásia (GRUERE, 2007).

No Brasil, antes da chegada dos portugueses, os indígenas já teciam fios de algodão, entretanto a fibra não tinha importância econômica. A partir do século XVIII, com a revolução industrial, o algodão foi transformado na principal fibra têxtil. Nessa época, para atender as demandas européias, a região Nordeste do Brasil consolidou-se como grande produtora, com o cultivo do algodão mocó (*G. hirsutum* L. r. *Marie Galant* (Watt.) Hutch). A introdução do algodão herbáceo (*G. hirsutum* L. r. *latifolium*), no Estado de São Paulo, deu início a uma nova fase da produção dessa cultura no nosso país, que durou até a década de 1980. A partir de então, o cultivo do algodão entrou em crise, inicialmente devido ao impacto da entrada no país da praga denominada bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman) e outros aspectos econômicos (ALVES, 2006). Na década de 1990, o Brasil passou a ser importador de algodão, tornando-se auto-suficiente apenas após a expansão da cultura para o ecossistema dos cerrados, principalmente nos Estados do Mato Grosso, Goiás e Bahia. Atualmente, o Brasil é o quinto produtor mundial, superado por de China, Índia, Estados Unidos, e Paquistão (GRUERE, 2007), com uma área plantada em 2007/2008 de 1,13 milhão de

hectares. Espera-se, para essa safra, uma produção de algodão em caroço de 4,1 milhões de toneladas (CONAB, 2007).

Em todas as regiões produtoras de algodão no mundo as doenças bióticas causam perdas na cultura. Nos EUA, foram estimadas perdas de 12% nas últimas quatro décadas devido a doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides (BLASINGAME; PATEL, 2001). Considerando apenas doenças que ocorrem em plântulas, foram relatadas perdas de 180 mil toneladas de pluma no ano de 1995 (WANG; DAVIS, 1997). No Brasil, não existem dados precisos dos efeitos somados de todas as doenças sobre a produção de pluma. Existem apenas relatos de danos decorrentes da ação de patógenos individualmente (CIA; SALGADO, 2005). As principais doenças do algodoeiro no Brasil são a ramulose, a mancha-de-ramulária, a mancha angular (bacteriose), o tombamento de plântulas, a doença azul (virose) e a murcha-de-fusário (SUASSUNA; COUTINHO, 2007). A murcha-de-fusário foi responsável pela decadência da cotonicultura paulista, na metade da década de 1950 e, potencialmente, pode causar perdas na nova fronteira agrícola (cerrado), caso medidas efetivas de manejo não forem adotadas.

Murcha do algodoeiro

O primeiro relato da murcha-de-fusário do algodoeiro foi feito por Atkinson, em 1892, nos Estados Unidos, no Estado do Alabama. Além dos EUA, atualmente a doença é relatada no Egito, Índia, Tanzânia, Sudão, Israel, Brasil, China e Austrália e ocorre em todas as espécies domesticadas no gênero *Gossypium*, *G. arboreum*, *G. barbadense*, *G. herbaceum* e *G. hirsutum* (DAVIS *et al.*, 2006). A murcha-de-fusário é responsável por perdas em campos infestados pelo patógeno, plantados com cultivares suscetível. Nos EUA, em 2004, estimou-se perdas acima de 24 mil toneladas de algodão (DAVIS *et al.*, 2006). No Brasil, esta doença foi identificada pela primeira vez em meados da década de 1930 (KRUG, 1936), no Estado da Paraíba, e, em seguida, disseminou-se por todas as regiões produtoras do país.

Etiologia

O agente causal da murcha-de-fusário do algodoeiro é o fungo *Fusarium oxysporum* Schlechtend f. sp. *vasinfectum* Atk. Sny & Hans. A espécie *F. oxysporum*

é muito variável, e inclui formas saprófitas e patogênicas, com características morfológicas comuns. As formas patogênicas foram agrupadas em *formae speciales* com base na sua seletividade patogênica (SNYDER; HANSEN, 1940). Tais grupos não podem ser distintos por morfologia, entretanto podem ser distintos pela capacidade patogênica em diferentes hospedeiros.

Sintomatologia

Os sintomas da doença podem aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, dependendo da densidade de inóculo, temperatura e suscetibilidade do hospedeiro. Quando ocorre alta densidade de inóculo ou o inóculo inicial é oriundo da semente, pode ocorrer morte de plântulas em pré ou pós-emergência. Nas plântulas, os primeiros sintomas surgem nos cotilédones com escurecimento das nervuras e amarelecimento. Os cotilédones tornam-se progressivamente mais cloróticos, surgindo em seguida necroses e posterior queda da folha. Comumente, os sintomas são verificados no campo cerca de dois meses após o plantio, no início do florescimento, devido às mudanças fisiológicas que acontecem no hospedeiro no início dessa fase (HILLOCKS, 1992).

Em plantas adultas, ocorre amarelecimento em áreas irregulares da superfície foliar e murcha de folhas e ramos. Algumas plantas afetadas podem sobreviver à doença emitindo novas brotações próximas ao solo, mas, em geral, os ramos originados a partir desses novos brotos não são reprodutivos. Durante o processo infeccioso as plantas perdem todas as suas folhas e novas brotações caem permanecendo apenas o caule enegrecido (Davis *et al.*, 2006). As plantas que não morrem têm seu crescimento reduzido. Seccionando-se longitudinalmente caules e raízes, observa-se o escurecimento dos feixes vasculares. O lume dos vasos é obstruído pela formação de tiloses, devido a presença de esporos e micélio, e por substâncias produzidas pelo metabolismo do fungo nos vasos, sendo a principal causa do sintoma de murcha na planta.

Variabilidade do patógeno

O primeiro relato de variabilidade em *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi realizados em 1927, com base em reações de diferentes isolados oriundos dos EUA (*G. hirsutum*), Egito (*G. barbadense*) e Índia (*G. herbaceum* e *G. arboreum*) em suas

respectivas espécies de origem. Os isolados diferiram na patogenicidade quando inoculados em diferentes hospedeiras. Os isolados egípcios foram patogênicos em cultivares de fibra longa produzidas naquele país, sendo patogênicos em poucas cultivares indianas. Os isolados indianos foram patogênicos em algumas cultivares indianas, entretanto, não apresentaram a mesma reação em cultivares do Egito ou EUA; os isolados americanos não foram patogênicos as cultivares indianas, pouco agressivos nas cultivares egípcias e patogênicos em algumas cultivares americanas (FAHMY, 1927).

Entre as formas especializadas de *F. oxysporum* existem algumas com total especificidade por hospedeiro, outras, entretanto, como *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, não possuem essa característica, devido ao fato de não serem altamente especializadas, o que proporciona a ocorrência de hospedeiros alternativos, denominados hospedeiros secundários. Como hospedeiras alternativas são citadas as espécies *Tithonia rotundifolia* (Fackelblume) Goldfinger., *Cassia tora* L., *Medicago sativa* L., *Physalis alkekengi* L., *Nicotiana tabacum* L., *Glycine max* L. e *Lupinus sp* L.. Por outro lado, o algodoeiro pode servir de hospedeiro secundário para as *formae speciales* “*apii*” e “*cassiae*”. No Brasil, há relatos de reprodução de sintomas de murcha-de-fusário por meio de inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em quiabeiro (*Abelmoschus sculentum* L.), quiabeiro-de-cheiro (*A. moscatus* L.) e papoula-do-são-francisco (CIA e SALGADO, 2005).

A classificação de *F. oxysporum* dentro de uma *formae speciales* com base na patogenicidade específica, deve ser usada com bastante cuidado, pois vários isolados de *F. oxysporum* possuem uma gama de hospedeiros mais ampla do que permitido pelo sistema proposto por Snyder e Hansen (ARMSTRONG *et al.*, 1940). Sendo assim, o conceito de hospedeiro primário e secundário tem sido proposto, o algodoeiro é o hospedeiro primário de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, todavia, existem várias outras espécies nas quais o patógeno se multiplica, com pouca severidade ou sem produzir sintomas (BECKMAN, 1968).

Foram determinadas diversas raças dentro da *formae speciales* “*vasinfectum*” usando uma série de plantas diferenciadoras composta de espécies do gênero *Gossypium* e as cultivares Gold Dolar de *Nicotiana tabacum* L. e Yelredo de *Glycine max* L (ARMSTRONG; ARMSTRONG, 1958). Inicialmente, determinaram-se as raças 1 e 2, possivelmente originárias dos EUA, a raça 3 no Egito, a raça 4 na Índia, a raça 5 no Sudão e a raça 6 no Brasil (ARMSTRONG ; ARMSTRONG, 1978; HILLOCKS, 1992).

Em 1985, as raças 7 e 8 foram identificadas na China (DAVIS *et al.*, 2006). Atualmente as raças 3, 4 e 8 também ocorrem nos EUA (KIM *et al.*, 2005).

Com base em seqüências parciais de quatro genes de 28 isolados de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* foi possível traçar a origem filogenética das raças que ocorrem dentro dessa *formae speciales*, sendo que as raças 3 e 5 evoluíram independente das demais raças. Foi possível estabelecer quatro linhas evolutivas que se correlacionam com diferenças na virulência e origem geográfica, sendo a linhagem I composta pelas raças 3 e 5 originárias do Egito e Sudão, respectivamente; a linhagem II, composta pelas raças 1, 2 e 6, originária dos Estados Unidos e América do Sul; a linhagem III, composta pela raça 8 oriunda da China e a linhagem IV, composta pelas raças 4 e 7 da Índia e China, respectivamente (SKOVGAARD *et al.*, 2001). Resultados análogos, usando a mesma abordagem metodológica foram obtidos por (KIM *et al.* 2005).

Recentemente, investigou-se a população australiana de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em espécies selvagens do gênero *Gossypium*. A presença do patógeno em espécies nativas de algodoeiro é uma evidência de que isolados australianos em campos de cultivo podem ser de origem indígena (WANG *et al.*, 2004). Realmente, isolados oriundos da Austrália diferem dos isolados do resto do mundo (KIM *et al.*, 2005). A população australiana é basicamente clonal com baixa diversidade e diferenciação entre os clones sendo que em um único distrito a um grupo de compatibilidade distinta do restante do país (WANG *et al.*, 2006).

Epidemiologia

A temperatura ótima para germinação de esporos e crescimento do patógeno é de 25°C, com máxima esporulação ocorrendo em 30°C. A umidade relativa ótima para produção e germinação de esporos é de 100%, não ocorrendo germinação abaixo de 80% (HILLOCKS, 1992).

O fungo *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* é transmitido pelas sementes (ELLIOT, 1923; PERRY, 1962). Relatos de frequência de infecção de sementes oriundas de lavouras doentes variam entre 0,2 e 10%, sendo possível, no entanto detectar 45% de sementes infectadas em plantas com escurecimento vascular (HILLOCKS, 1992). A maioria das sementes infectadas são originadas de plantas que expressam os sintomas no final do ciclo de desenvolvimento, pois estas são mais prováveis de sobreviverem até

a colheita do que as plantas que expressam os sintomas antes do florescimento. O nível de infecção em sementes nessas plantas varia de 2%, em uma variedade resistente, a 21%, em uma variedade susceptível; entretanto, algumas sementes infectadas são obtidas de plantas assintomáticas, como, por exemplo, na variedade resistente Auburn 56, as variedades “tolerantes” potencial para transmissão do patógeno via sementes (Hillocks, 1992).

O patógeno pode sobreviver no solo na forma de estruturas de resistência (clamidósporos), em matéria orgânica, como evidência de que a infecção ocorreu durante o ciclo de vida da planta hospedeira. sobrevive em raízes de hospedeiros secundários ou mesmo na epiderme de raízes de plantas não hospedeiras (SMITH; SNYDER, 1975). Quando *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* se estabelece em determinada área é quase impossível a eliminação devido aos clamidósporos permanecem viáveis por vários anos no solo (HILLOCKS, 1992). A dispersão do patógeno a curtas distâncias é favorecida pelo movimento de partículas de solo contaminado, principalmente por meio de máquinas agrícolas, pelo vento e água; a longas distâncias, a dispersão ocorre principalmente por sementes contaminadas (DAVIS *et al.*, 2006).

A murcha-de-fusário é agravada pela presença de nematóides dos gêneros *Meloidogyne incognita* (Kofoid & While) Chitwood, *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira) e *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schurmans Stekhoven que aumentam a severidade, e provocar ferimentos nas raízes, facilitando a penetração de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* no sistema radicular e por debilitarem a planta (PAIVA *et al.*, 2001). Além dos nematóides, outras condições, como solos com alto teor de areia, baixo pH, fertilidade desequilibrada, temperaturas entre 25°C e 32°C e alta umidade, favorecem a doença.

Manejo

O manejo da murcha-de-fusário é realizado principalmente por meio do princípio da exclusão, evitando-se a introdução do patógeno em áreas isentas. Nesse sentido, a utilização de sementes livres do patógeno, assim como o tratamento de sementes são fundamentais. O tratamento químico de sementes é medida eficaz para evitar a entrada do patógeno em áreas indenes; ressalta-se, entretanto, que o uso de fungicidas sistêmicos no tratamento de sementes ou no sulco de plantio não é eficiente

em áreas infestadas com o patógeno (HILLOCKS, 1992), devido à capacidade do patógeno em afetar a planta em qualquer estágio de desenvolvimento e a persistência do fungicida decair em poucos dias.

Outras táticas importantes no manejo dessa doença são rotação de cultura e o uso de cultivares resistentes (SUASSUNA; COUTINHO, 2007). A rotação de cultura é frequentemente recomendada para reduzir a incidência da murcha-de-fusário, mas a habilidade do fungo em sobreviver por longo período de tempo na ausência da cultura do algodão tem limitado o efeito da rotação. Espécies de gramíneas e ervas daninhas podem reproduzir o patógeno em suas raízes. Populações do patógeno em solos infestados não diminuíram no período de cinco anos em campo plantado com cevada e trigo, sendo que em campos cultivados com cevada a população aumentou em relação aos campos cultivados continuamente com algodão (SMITH; SNYDER, 1975). Entretanto, em um estudo conduzido na Rússia, a incidência da murcha foi reduzida quando o cultivo do algodoeiro foi precedido pelas culturas da cevada, milho, alfafa, mostarda ou trevo (GOSHAEV, 1971).

Existe, portanto, certa contradição em indicar a rotação de culturas como tática efetiva de manejo. No entanto, é possível que a rotação com uma espécie não hospedeira reduza a população do patógeno no solo, devendo-se ter conhecimento prévio da espécie a ser empregada e da raça do patógeno presente no solo, além do tipo de solo em questão (HILLOCKS, 1992).

Certos solos são conhecidos como supressivos a murcha-de-fusário devido à presença de microrganismos antagonistas. A germinação de clamidósporos e hifas é menor em solos supressivos que em solos não supressivos, foi constatado, que em solos supressivos a população de uma espécie do gênero *Azotobacter* era aumentada após a germinação de esporos do fungo (SMITH, 1977). Em um outro estudo, (ARJUNARAO, 1971) demonstrou que solos livres do patógeno continham uma alta população de actinomicetos antagonistas quando comparado com solos infestados por *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. No manejo desta doença, a resistência genética é compatível com outras táticas de manejo, e cultivares resistentes são adotadas em combinação com outras medidas de controle, como manejo cultural e controle químico. Quando explorada nesse contexto a resistência genética resulta na neutralização ou na redução de perdas. Não existem cultivares imunes à murcha-de-fusário, entretanto, cultivares resistentes e moderadamente resistentes têm sido desenvolvidas. As cultivares IAC 24, BRS Aroeira e BRS Sucupira têm bom desempenho produtivo, quando cultivadas em

solos com alta infestação de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (SUASSUNA; COUTINHO, 2007).

Infelizmente, o sucesso do uso de resistência genética no manejo da murcha-de-fusário em algodoeiro, não tem sido plenamente alcançado, principalmente pela necessidade de incluir resistência aos nematóides das galhas, *Meloidogyne incognita*, e reniforme, *Rotylenchulus reniformis*, nas cultivares resistentes a esta doença (DAVIS *et al.*, 2006).

Fontes de resistência

Existe considerável variabilidade para resistência à murcha-de-fusário, tanto em *G. hirsutum* quanto em *G. barbadense*, sendo a resistência mais completa nesta última espécie (HILLOCKS, 1992). Em *G. barbadense* geralmente, a resistência é governada por poucos genes de efeito principal (BIRD, 1982), enquanto em *G. hirsutum* a herança da resistência é mais complexa, sendo governada por vários genes de efeito principal e modificadores (KAPPELMAN Jr., 1971).

Em alguns genótipos egípcios de *G. barbadense* foi constatado que a herança era condicionada por um gene de efeito principal e um ou mais genes modificadores (FAHMY, 1927), enquanto nas cultivares 'Ashmouni' e 'Menoufi', também pertencentes à espécie *G. barbadense* a resistência era condicionada por apenas um gene dominante de efeito principal (MOHAMED, 1963).

Em outro estudo, Smith e Dick (1960) constataram que a resistência da cultivar 'Seabrook' (*G. barbadense*) é controlada por dois genes dominantes com aditividade inter-locos que lhes conferem praticamente imunidade, enquanto a resistência na cultivar 'Cook 307-6' (*G. hirsutum*) é condicionada por um gene de efeito principal dominante e diversos genes modificadores.

As primeiras cultivares resistentes à murcha-de-fusário foram obtidas por seleção massal em solos altamente infestados com o patógeno. A cultivar 'Rivers' (*G. barbadense*) foi selecionada em 1892 e, após seleções posteriores, deu origem à cultivar 'Seabrook' (HILLOCKS, 1992). Apesar de não terem sido identificados genótipos imunes de *G. hirsutum* a essa doença, cultivares comerciais com níveis de resistência moderado a alto têm sido desenvolvidas. Em *G. hirsutum*, as primeiras cultivares desenvolvidas eram pouco produtivas e com características de fibra inferiores as cultivares suscetíveis. Em 1912, foi lançada a cultivar 'Cook 307-6' que, apesar de não

possuir alto potencial produtivo e boas características de fibra, foi usada para obter cultivares com boa resistência, como 'Empire', 'Delcot 277', 'Hartsville' e 'McNair 220'.

As primeiras seleções para resistência à murcha-de-fusário em solos infestados podem ter indiretamente selecionado também para resistência ao nematóide-das-galhas, uma vez que ambos os patógenos poderiam co-existir nos campos de seleção. Tal fato pode explicar o bom nível de resistência da cultivar 'Cook 307-6' ao nematóide das galhas (HILLOCKS, 1992).

A cultivar 'Auburn 56' originou-se do cruzamento entre 'Cook 307-6' e 'Coker 100-Wilt' (BIRD, 1973) e combinou resistência à murcha-de-fusário, boas características agronômicas e resistência ao nematóide-das-galhas, o que lhe rendeu boa aceitação comercial por mais de 20 anos.

Apesar de outras cultivares como 'Clevewilt-6' serem mais resistentes ao nematóide-das-galhas, apenas com o desenvolvimento das linhagens 'Bayou', oriundas do cruzamento entre 'Clevewilt-6' e 'Deltapine 15', foi possível maior nível de resistência ao complexo *Fusarium*/nematóide-das-galhas (JONES; BIRCHFIELDS, 1967). Outras cultivares mais produtivas foram desenvolvidas com moderada resistência à murcha-de-fusário nos Estados Unidos, entre as quais 'Stoneville 603', 'Dixie King-3', 'McNair 235', 'Deltapine 61' e as cultivares 'Tancot' (HILLOCKS, 1992). Fora dos Estados Unidos, foram desenvolvidas as cultivares 'Reba W296' ('Allen 51-296' x 'Coker 100-Wild'), 'Reba B50' ('Stoneville B1439' x 'Allen 50T') e 'UK 77' na África e, recentemente, na Austrália, foi lançada a cultivar 'Sicot F1', com alto nível de resistência a isolados de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (DAVIS *et al.*, 2006).

No Brasil, as cultivares resistentes 'Auburn 56' e 'Rex Cotton' foram usadas como parentais doadores no desenvolvimento de várias cultivares do Instituto Agrônomo de Campinas – IAC (GRIDI-PAPP *et al.*, 1984). Em campos infestados mutuamente com *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *M. incognita* um alto nível de resistência a esse último patógeno foi mais efetivo em reduzir perdas que apenas tolerância ao nematóide associada com moderada resistência à murcha-de-fusário (HYER *et al.*, 1979).

Além disso, cultivares oriundas de cruzamentos, envolvendo um acesso de *G. hirsutum* resistente ao nematóide-das-galhas ('Wild Mexican Jack Jones'), selecionadas apenas para resistência ao nematóide, também foram resistentes ao complexo *Fusarium*/nematóide. Muitas vezes, a estratégia de selecionar genótipos resistentes ao nematóide das galhas, confere, indiretamente, resistência ao complexo

Fusarium/nematóide (HILLOCKS, 1992). Infelizmente, apenas a resistência moderada ao nematóide-das-galhas está disponível e em poucas cultivares comerciais, dentre as quais 'Stoneville LA 887', 'Paymaster 1560' e 'Acala NemX'.

No Brasil, genótipos originados a partir de 'Auburn 56' têm sido a fonte de resistência ao nematóide-das-galhas. Recentemente, testaram-se algumas linhagens promissoras e encontrou-se boa resistência em 'IAC 96/414', tanto em condições de campo quanto em condições de casa de vegetação. Verificou-se também, por meio de testes de histopatologia, que a maioria dos nematóides que penetrou o genótipo 'IAC 96/414' falhou no estabelecimento e na manutenção das células gigantes, as quais tiveram seu tamanho reduzido, não suportando a alimentação de fêmeas normais em oviposição, o que resultou em baixa reprodução (CARNEIRO *et al.*, 2005).

Mecanismos de resistência

Há evidências de que ocorram alguns fatores pré-invasivos relacionados com a resistência de algodoeiro à murcha-de-fusário. Existem diferenças na composição dos exsudatos radiculares do algodoeiro dependente da variedade (SULOCHANA, 1962). Tais diferenças podem interferir na germinação de conídios e clamidósporos, uma vez que ocorre interferência nesses processos em meio de cultivo contendo exsudatos de uma cultivar resistente, mas não com exsudatos de uma cultivar suscetível à murcha (YOUSEFF; HEITEFUSS, 1983). A inibição de germinação de esporos e clamidósporos pode ter sido devida às diferenças entre as cultivares na composição de aminoácidos e carboidratos contida nos exsudatos ou a presença de compostos fungicidas ou fungistáticos em altas concentrações no exsudatos da cultivar resistente. Hunter *et al.*, (1978) demonstraram que compostos aldeídos e terpenóides possuem atividade antifúngica, os quais são exsudados e acumulam-se na superfície externa das raízes de algodoeiro.

Existem poucos estudos acerca do estágio inicial da infecção nas raízes de algodoeiro causada por *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Aparentemente não existem barreiras químicas ou físicas à penetração do patógeno nas raízes ou que restrinjam o transporte do fungo do córtex aos tecidos vasculares, após a infecção alguns mecanismos de resistência podem atuar tanto em reações compatíveis (susceptibilidade) quanto incompatíveis (resistência) (HILLOCKS, 1992)

A oclusão vascular, em resposta a ferimentos, presença de compostos químicos exóticos ou microrganismos, é um fenômeno geral em plantas. A oclusão pode ser causada pelo acúmulo de géis de polissacarídeos em volta da perfuração dos vasos ou dentro da parede (VANDERMOLEN *et al.*, 1972) ou pela formação de tiloses. Esses géis (polissacarídeos) parecem restringir o patógeno ao local da infecção (VANDERMOLEN *et al.*, 1972). O movimento ascendente de esporos no fluxo transpiratório é inicialmente paralisado nas perfurações dos elementos de vasos e, os esporos secundários produzidos nos vasos adjacentes são capturados no gel. Este gel vascular não inibe o crescimento de hifas ou esporulação e, portanto, proporciona apenas uma barreira temporária à dispersão ascendente do patógeno. Os vasos do xilema em algodoeiro tornam-se obstruídos por géis, 24 horas após a inoculação do patógeno (BUGBEE, 1970). Também, a formação de células irregulares no interior dos vasos lenhosos (tiloses) auxilia em conter a dispersão do patógeno na planta. Tiloses são produzidas como uma resposta geral para ferimentos ou a presença de substâncias estranhas nos vasos, incluindo a presença de conídios de *Fusarium* (HILLOCKS, 1992).

A oclusão vascular durante os estágios iniciais da infecção por *Fusarium* é mais extensiva em cultivares resistentes à murcha do que em cultivares suscetíveis (BECKMAN, 1968; BUGBEE, 1970). Este é um mecanismo primário de resistência para murcha-de-fusário em algodoeiro e a interação de suscetibilidade entre hospedeiro e patógeno pode depender de produtos do patógeno que rapidamente degradem o gel (BECKMAN, 1968).

Métodos de seleção

Para que haja sucesso no processo de seleção para resistência, além das fontes de genes de resistência previamente identificadas, é necessário um método efetivo de inoculação e avaliação das plantas. A maneira mais simples de selecionar plantas resistentes é o cultivo em solo infestado, natural ou artificialmente (PERRY, 1962). Entretanto, esse método não é adequado para seleção de plantas individuais, devido ao eventual escape de inoculação. O método mais usado para avaliação da resistência à murcha-de-fusário consiste em mergulhar as raízes de plântulas de algodoeiro em suspensão de esporos e, em seguida, transplantá-las para outro recipiente (PERRY, 1962; WILES, 1963; COUTO *et al.*, 2006). Esse método é bastante laborioso e tende a ferir demasiadamente as raízes durante a inoculação e o transplante.

Com o objetivo de reduzir o dano às raízes bem como o tempo para seleção em plântulas de algodoeiro, (WICKENS, 1964) testou três diferentes metodologias: transplante de plântulas em orifício no solo ao qual foi depositada uma alíquota de inóculo; transplante de plântulas sem expor as raízes (torrão) diretamente no solo contendo uma alíquota de inóculo; inoculação do caule com uma seringa modificada. O último método evita escape, pode ser usado em campo e não danifica as raízes. Como a resistência é expressa tanto nas raízes quanto no caule (BUGBEE, 1970), esse método foi adotado em outros trabalhos de seleção (HILLOCKS, 1984).

Outra abordagem interessante para reduzir o tempo de seleção é usar as próprias plântulas selecionadas em condições controladas (sobreviventes) para transplante em campo. Caso as plantas selecionadas não desenvolvam sintomas da doença, podem ser usadas cruzadas ou autofecundadas (MILLER; COOPER, 1967).

O tipo de inóculo influencia na severidade da doença. A severidade em plantas inoculadas com suspensão de esporos oriundo de meio líquido em cultura filtrada foi maior que plantas inoculadas com suspensão de esporos diluída em água destilada, indicando que metabólitos fúngicos desempenham um importante papel nos processos de infecção (WANG *et al.*, 1999). A severidade da doença aumenta proporcionalmente com a concentração de esporos/ml e inversamente com a idade da planta, plântulas com uma semana de idade foram mais susceptíveis. O desenvolvimento dos sintomas é intensificado com a temperatura entre 18 e 23°C, diminuindo quando a temperatura varia entre 28 e 33°C (WANG *et al.*, 1999).

Como a resistência aparentemente é expressa tanto no caule quanto nas raízes (BUGBEE, 1970), métodos de inoculação no caule podem ser usados com resultados comparáveis à seleção em campo com infecção natural (KAPPELMAN Jr., 1975). A inoculação no caule tem a vantagem de evitar escape da doença, além de requerer pouco inóculo e poder ser usado para testes em casa de vegetação ou no campo. Esse método foi usado na Tanzânia para realizar seleção em plantas individuais no campo, usando um aparato pontiagudo para injetar a suspensão de esporos (2×10^6 conídios/ml) no hipocótilo de plantas com quatro semanas de idade (WICKENS, 1964). As avaliações foram realizadas três semanas após a inoculação usando uma escala de severidade (HILLOCKS, 1984). Uma vez que o processo de seleção alcance níveis desejáveis de resistência é necessário que se conduzam ensaios em campo infestados. Como mencionado previamente, uma abordagem interessante é a seleção para murcha-defusário concomitante com a seleção para o nematóide das galhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. R. A. **A reestruturação da cotonicultura no Brasil: fatores econômicos, institucionais e tecnológicos.** 2006. 121 f. (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ARJUNARAO, V. On the pathogenicity of *Fusarium vasinfectum* Atk. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, v. 73, p. 273-284, 1971.

ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. The fusarium wilt complex as related to the sweetpotato. **Plant Disease Reporter**, v. 42, n. 12, p. 1319-1329, 1958.

ARMSTRONG, G.M.; ARMSTRONG, J.K. A new race (race 6) of the cotton-wilt fusarium from Brazil. **Plant Disease Reporter**, v. 62, n. 5, p. 421-423, 1978.

ARMSTRONG, G. M.; MACLACHLAN, J. D.; WEIMDLING, R. Variation in pathogenicity and cultural characteristics of the cotton-wilt organism, *Fusarium vasinfectum*. **Phytopathology**, v. 30, p. 515-520, 1940.

BECKMAN, C. H. An evaluation of possible resistance mechanisms in broccoli, cotton, and tomato to vascular infection by *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, v. 58, p. 429-433, 1968.

BIRD, L. S. Cotton. In: NELSON, R. R. (Ed.). **Breeding plants for disease resistance.** University Park: Pennsylvania State University Press, 1973. p. 181-199

BIRD, L. S. The MAR (multi-adversity resistance) system. **Plant Disease**, v. 66, p. 172-176, 1982.

BLASINGAME, D. J.; PATEL, M.V . Cotton diseases and their causal agents. In: KIRKPATRICK, T. L. e ROTHROCK, C. S. (Ed.). **Compendium of cotton diseases.** Second. St. Paul: The american Phytopathological Society, 2001. p. 7-8

BUGBEE, W. M. Vascular response of cotton to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Phytopathology**, v. 60, n. 1, p. 121-123, 1970.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Resistência de genótipos de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* raça 3: reprodução e histopatologia. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2005.

CHEN, Z. J. et al. Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. **Plant Physiology**, v. 145, p. 1303-1310, 2007.

CIA, E. ; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: BERGAMIM FILHO, A. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2: Doenças das plantas cultivadas, 2005. p. 42-63

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento: Conab Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conab/web> > Acesso Janeiro 2007

COUTO, E. F. et al. Avaliação de métodos de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder & Hansen em genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39., 2006. Salvador - BA. **Anais ...** Salvador - BA: Sociedade Brasileira de Fitopatologia. S-141 p.

DAVIS, R. M. et al. Fusarium wilt of cotton: diversity and implications for management. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 629-703, 2006.

ELLIOT, J. A. Cotton wilt: a seed born disease. **Journal of Agricultural Research**, v. 23, p. 387-393, 1923.

FAHMY, T. The fusarium disease (wilt) of cotton and its control. **Phytopathology**, v. 17, n. 11, p. 749-767, 1927.

GOSHAEV, D. The role of preceding crops of cotton in the suppression of *Fusarium* wilt. **Review of Plant Pathology**, v. 51, p. 2513, 1971.

GRIDD-PAP, I. L. et al. Melhoramento do algodoeiro no estado de São Paulo: obtenção das variedades IAC RM 3, IAC RM 4, IAC 16 e IAC 17. **Bragantia** 43:405-423, 1984.

GRUERE, A. 2007/08 World cotton outlook. In: INTERNATIONAL COTTON CONFERENCE, 9., 2007. 2Gdansk - Polony. **Anais ...** Gdansk - Polony: ICAC - International Cotton Advisory Committee. p. 1-8.

HILLOCKS, R. J. Production of cotton varieties with resistance to *Fusarium* wilt with special reference to Tanzania. **Tropical Pest Management**, v. 30, n. 3, p. 234-246, 1984.

HILLOCKS, R. J. Fusarium wilt. In: HILLOCKS, R. J. (Ed.). **Cotton Diseases**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 127-160

HUNTER, R. E. et al. Exudation of terpenoids by cotton roots. **Plant and Soil**, v. 50, n., p. 237-240, 1978.

HYER, A. H. et al. Resistance to root-knot nematode in control of root-knot nematode-fusarium wilt disease complex in cotton. **Crop Science**, v. 19, p. 898-901, 1979.

JONES, J. E.; BIRCHFIELDS, W. Resistance of the experimental cotton variety, Bayou, and related strains to root knot nematode and fusarium wilt. **Phytopathology**, v. 57, p. 1327-1331, 1967.

KAPPELMAN JR., A. J. Inheritance of resistance to fusarium wilt in cotton. **Crop Science**, v. 11, p. 672-674, 1971.

KAPPELMAN JR., A. J. Correlation of *Fusarium* wilt of cotton in the field and greenhouse. **Crop Science**, v. 15, p. 270-272, 1975.

KIM, Y.; HUTMACHER, R. B.; DAVIS, R. M. Characterization of California isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Plant Disease**, v. 89, n., p. 366-372, 2005.

KRUG, H.P . Fusarium como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. In: REUNIÃO DE PHYTOPATHOLOGISTAS DO BRASIL, 1936, Rio de Janeiro. **Anais ...** Rio de Janeiro: Instituto de Biologia Vegetal, 1936. p. 319-321.

MILLER, D. A.; COOPER, W. E. Greenhouse technique for studying fusarium wilt in cotton. **Crop Science**, v. 7, p. 75-76, 1967.

MOHAMED, H. A. Inheritance of resistance do *Fusarium* wilt in some Egyptian cottons. **Empire Cotton Growing Review**, v. 40, p. 292-295, 1963.

PAIVA, F. A.; ASMUS, G. L.; ARAÚJO, A. E. Doenças. In: (Ed.). **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p. 245-267

PERRY, D. A. Method for determining the reaction of cotton plants to *Fusarium* wilt. **Empire Cotton Growing Review**, v. 39, n. 1, p. 22-26, 1962.

SKOVGAARD, K.; NIRENBERG, H.I.; O'DONNELL, K.; ROSENDAHL, S. Evolution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Races inferred from multigene genealogies. **Phytopathology**, v. 91, n.12, p. 1231-1237, 2001.

SMITH, A. L.; DICK, J. B. Inheritance of resistance to fusarium wilt in upland and sea island cottons as complicated by nematodes under field conditions. **Phytopathology**, v. 50, n. 1, p. 44-48, 1960.

SMITH, S. N. Comparison of germination of pathogenic *Fusarium oxysporum* chlamydospores in host rhizosphere soil conducive and suppressive to wilts. **Phytopathology**, v. 67, n. 4, p. 476-481, 1977.

SMITH, S. N.; SNYDER, W. C. Persistence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in fields in the absence of cotton. **Phytopathology**, v. 65, n 2, p. 190-196, 1975.

SNYDER, W. C.; HANSEN, H. N. The species concept in *Fusarium*. **American Journal of Botany**, v. 27, n. 1, p. 64-67, 1940.

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

SULOCHANA, C. B. Amino acids in root exudates from cotton. **Plant and Soil**, v. 16, p. 312-326, 1962.

VANDERMOLEN, G. E.; BECKMAN, C. H.; RODEHORST, E. Vascular gelation: a general response phenomenon following infection. **Physiological Plant Pathology**, v. 11, p. 95-100, 1972.

WANG, B.; BRUBAKER, C. L.; BURDON, J. J. *Fusarium* species and Fusarium wilt pathogens associated with native *Gossypium* populations in Australia. **Mycological Research**, v. 108, n. 1, p. 35-44, 2004.

WANG, B. et al. Genetic variation and population structure of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in Australia. **Plant Pathology**, v. 55, p. 746-755, 2006.

WANG, B.; DALE, M. L.; KOCHMAN, J. K. Studies on a pathogenicity assay for screening cotton germplasms for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in the glasshouse. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 967-974, 1999.

WANG, H.; DAVIS, R. M. Susceptibility of selected cotton cultivars to seedling disease pathogens and benefits of chemical seed treatments. **Plant Disease**, v. 81, n. 9, p. 1085-1088, 1997.

WENDEL, J. F.; CRONN, R. C. Polyploidy and the evolutionary history of cotton. **Advances in Agronomy**, v. 78, p. 139-186, 2003.

WICKENS, G. M. Methods for detection and selection of heritable resistance to *Fusarium* wilt of cotton. **The Empire Cotton Growing Review**, v. 41, n. 3, p. 172-193, 1964.

WILES, A. B. Comparative reactions of certain cottons to *Fusarium* and *Verticillium* wilts. **Phytopathology**, v. 53, p. 586-588, 1963.

YOUSEFF, B. A.; HEITEFUSS, R. Side effects of herbicides on cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. 3. Microbial studies. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 90, p. 160-172, 1983.

Capítulo II

Seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos
de algodoeiro

1 **Palavras-chave adicionais:** melhoramento, resistência genética, *Fusarium oxysporum* f. sp.
2 *vasinfectum*.

4 **ABSTRACT**

5 **Screening cotton germplasm for fusarium wilt resistance.**

6 The cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* is one of the most
7 important cotton diseases of the world. This disease is potentially destructive and had caused
8 losses to cotton farms in the main cotton growing area in Brazil. The use of resistant cultivars is
9 the main recommended practice to manage fusarium cotton wilt. In this study is described a
10 simple, precise, and fast method to screen cotton germplasm for wilt resistance. By employing
11 this method was identified new resistance sources of cotton genotypes to fusarium cotton wilt,
12 as the genotypes FM 993, Stoneville LA 887, CNPA GO 2002-3778, and HS 26 among 64
13 accessions inoculated with a Brazilian pathogen population sample.

14 **Additional keywords:** cotton breeding, genetic resistance, *Fusarium oxysporum* f. sp.
15 *vasinfectum*.

17 **INTRODUÇÃO**

18
19 Com o avanço do cultivo do algodoeiro no cerrado do Brasil, várias doenças que
20 ocorrem nessa cultura, antes consideradas sem importância econômica, atingiram níveis
21 epidêmicos. Outras doenças, embora com baixa incidência, são potencialmente destrutivas,
22 dentre as quais a murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f.
23 sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder & Hansen. No Brasil, a murcha-de-fusário foi relatada no estado
24 da Paraíba em 1936 (Krug, 1936); atualmente, está disseminada em todas as regiões produtoras
25 de algodão do país.

26 A doença afeta o algodoeiro em qualquer estágio de desenvolvimento; em plântulas,
27 ocorre o amarelecimento e enegrecimento das folhas cotiledonares; em plantas adultas, ocorre

1 amarelecimento em áreas irregulares da superfície foliar e murcha de folhas e ramos. Algumas
2 plantas afetadas podem sobreviver à doença, emitindo novas brotações próximas ao solo, mas,
3 em geral, os ramos originados a partir desses novos brotos não são produtivos. Durante o
4 processo infeccioso, as plantas perdem todas as folhas e novas brotações caem, permanecendo
5 apenas o caule enegrecido. Em secção transversal do caule ou raiz, pode-se notar escurecimento
6 dos feixes vasculares, resultando da oxidação e polimerização dos compostos fenólicos. As
7 plantas que conseguem sobreviver sofrem severa redução de crescimento. (Davis *et al.*, 2006).

8 No mundo ocorrem oito raças do agente causal da murcha-de-fusário (Davis *et al.*,
9 2006), sendo que, no Brasil, apenas a raça seis foi relatada (Armstrong & Armstrong, 1978). O
10 patógeno pode sobreviver no solo por muito tempo na forma de estruturas de resistência
11 (clamidósporos) e a dispersão de propágulos a curtas distâncias é favorecida pelo movimento de
12 partículas de solo contaminado, principalmente por meio de máquinas agrícolas, pelo vento e
13 água; a longas distâncias, a dispersão ocorre principalmente por meio de sementes contaminadas
14 (Davis *et al.*, 2006).

15 A murcha-de-fusário é agravada pela presença de nematóides dos gêneros *Meloidogyne*
16 (Kofoid & White) Chitwood, *Rotylenchulus* (Linford & Oliveira) e *Pratylenchus* (Godfrey)
17 Filipjev & Schurms Stekhoven que aumentam a severidade, por debilitarem a planta e
18 provocarem ferimentos nas raízes, facilitando a penetração de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*
19 no seu sistema radicular (Colyer, 2001). Além dos nematóides, outras condições, como solos
20 com alto teor de areia, baixo pH, fertilidade desequilibrada, temperaturas entre 25°C e 32°C e
21 alta umidade, favorecem a doença.

22 O manejo da murcha-de-fusário é realizado principalmente por meio do princípio da
23 exclusão, evitando-se a introdução do patógeno em áreas isentas. Nesse sentido, a utilização de
24 sementes livres do patógeno, assim como o tratamento de sementes com fungicidas é
25 fundamental. Outras táticas importantes no manejo dessa doença são a rotação de culturas e o
26 uso de cultivares resistentes (Suassuna & Coutinho, 2007).

1 Apesar de não terem sido identificados genótipos imunes de *G. hirsutum* a essa doença,
2 cultivares comerciais com níveis de resistência moderado a alto têm sido desenvolvidas. Em *G.*
3 *hirsutum*, as primeiras cultivares desenvolvidas eram pouco produtivas, com características de
4 fibra inferiores as das cultivares suscetíveis. No Brasil, atualmente, as cultivares IAC 24, BRS
5 Aroeira e BRS Sucupira têm bom desempenho produtivo, mesmo quando cultivadas em solos
6 com alta infestação de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Suassuna & Coutinho, 2007).

7 Vários métodos têm sido usados para selecionar genótipos com resistência à murcha-
8 de-fusário. O método de “depping”, comumente usado (Wiles, 1963; Wickens, 1964; Bugbee
9 & Sappenfield, 1972), apesar de confiável é muito laborioso, além de haver injúria do sistema
10 radicular da planta.

11 Para que se possa introgridir resistência à murcha-de-fusário em cultivares elites de
12 algodoeiro, é imprescindível a identificação de fontes de genes de resistência, principalmente
13 em acessos que possuam outras características agronômicas desejáveis. Assim sendo, os
14 objetivos deste trabalho foram: 1) estabelecer um método fácil, rápido e acurado de seleção para
15 quantificar a resistência à murcha-de-fusário em condições controladas; 2) avaliar a resistência
16 de 64 acessos de algodoeiro, pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Algodão, à
17 murcha-de-fusário.

18

19

MATERIAL E MÉTODOS

20

21 Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia e na casa de
22 vegetação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de
23 algodão (CNPA) Embrapa Algodão, Campina Grande, PB.

24

25 **Obtenção dos genótipos de algodoeiro, isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e**
26 **preparo de inóculo.**

27

Todos os genótipos de algodoeiro usados neste estudo foram cultivados na estação

1 experimental de Santa Helena de Goiás, GO, e auto-fecundados por pelo menos uma geração.
2 Todas as plantas que geraram as sementes usadas nos ensaios não desenvolveram sintomas da
3 doença. As sementes obtidas foram deslintadas com ácido sulfúrico e armazenadas em câmara
4 fria ($15\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e umidade abaixo de 40%) até a condução dos ensaios.

5 Foram utilizados quatro isolados de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, obtidos de plantas
6 de algodoeiro com sintomas da doença, coletadas em diferentes áreas de plantio de algodão no
7 país (CNPA 0003, Votuporanga–SP; CNPA 0005, Campina Grande–PB; CNPA 0006, Acreúna-
8 GO; CNPA 0007, São Desidério-BA).

9 Os isolados foram cultivados em placas de Petri, contendo meio SNA - Synthetic
10 Nutrient Agar (Nuremberg, 1981) e incubados em condições controladas (temperatura de 25°C
11 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h). Na preparação do inóculo, foram adicionados 10 ml de água
12 destilada e esterilizada em cada placa. Os conídios foram liberados das colônias fúngicas com o
13 auxílio de alça de Drigalski, e a suspensão resultante, filtrada em uma camada dupla de gaze
14 esterilizada. A suspensão de conídios foi ajustada para 5×10^5 esporos por mL, utilizando-se
15 hemacitômetro.

16

17 **Método de inoculação**

18 Previamente, testaram-se algumas modificações do método desenvolvido por Perry
19 (1962), com a utilização de quatro cultivares de diferentes níveis de resistência. Pelo fato de ser
20 laborioso, e em todos os métodos testados haver remoção de plântulas antes da inoculação,
21 ocorrendo injúrias, decidiu-se por inocular as plântulas sem transplante (Couto *et al.*, 2006).
22 Dessa forma, o método adotado consistiu no plantio de sementes de algodoeiro, previamente
23 desinfestadas com hipoclorito de sódio na concentração de 1%, por 2 minutos, em bandejas de
24 plástico para germinação, contendo 162 células (18x9), sendo 25 mL o volume de cada célula.
25 As bandejas foram dispostas em casa-de-vegetação climatizada sobre bancadas recobertas com
26 lona de polietileno, contendo uma camada de areia lavada esterilizada utilizada como suporte.

1 Adicionou-se às células das bandejas vermiculita esterilizada, e em cada célula foi plantada uma
2 semente. Aos 5 e 7 dias após o plantio, depositou-se, em cada célula, 2 mL de uma suspensão de
3 esporos ajustada para a concentração de cada isolado 5×10^5 esporos/mL, contendo esporos, em
4 proporções iguais, dos quatro isolados supra citados formou uma suspensão. Durante a execução
5 do ensaio a temperatura média externa variou entre 22,8 e 25 °C e umidade relativa do ar
6 manteve-se acima de 60 %.

7 Para validação do método, testaram-se nove genótipos de algodoeiro com diferentes
8 níveis de resistência à doença: Cleve-wilt, Auburn 56-24, Bayon SN-1, Coker 312, Stoneville
9 213, Deltapine 45A, Acala 44, BJ 1302 (S 1062) e IAC RM 2. O delineamento experimental foi
10 de blocos ao acaso, com seis repetições, sendo a parcela constituída por 18 plântulas.

11 As avaliações foram realizadas diariamente durante 15 dias consecutivos, a partir do
12 décimo dia após a primeira inoculação, atribuindo-se notas, conforme escala proposta por
13 Wickens (1964), com as modificações: 0: sem sintomas; 1: amarelecimento nos cotilédones; 2:
14 amarelecimento nos cotilédones, início de murcha e escurecimento das nervuras; 3: murcha total
15 dos cotilédones, porém com o caule verde; 4: morte da plântula (tombamento).

16 Todos os dados de severidade de cada plântula na parcela foram utilizados para calcular
17 um índice de intensidade de infecção (I), expresso como $I = \text{sen}^2 \omega$, para cada distribuição de
18 frequência obtida na parcela (Amaral, 1969), com as modificações propostas por Czermainski,
19 (1999). A variável ω foi calculada para converter notas em escalas de intervalos. Os dados
20 diários de severidade foram usados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença
21 AACPD (Campbell & Madden, 1990).

22 Após a última avaliação da severidade, as plântulas foram seccionadas do substrato e,
23 por meio de inspeção visual, foi quantificada a porcentagem de plântulas com escurecimento do
24 sistema vascular. Em seguida, procedeu-se isolamento indireto de todos os fragmentos de caule
25 de todas as plântulas em meio BDA para quantificação da incidência de plântulas com o
26 patógeno interno ao sistema vascular. As variáveis severidade final (ω no último dia de

1 avaliação), AACPD, incidência de plântulas com escurecimento do sistema vascular e
2 incidência de plântulas contendo o patógeno no sistema vascular foram submetidas à análise de
3 variância seguindo o delineamento de blocos ao acaso e as médias agrupadas pelo teste de
4 Tukey com o auxílio do software SAS System[®] versão 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA).
5 Também foram realizados testes de correlação entre as variáveis mensuradas.

6

7 **Resistência de acessos do banco de germoplasma e cultivares de algodoeiro a murcha-de-** 8 **fusário**

9 O delineamento experimental foi de blocos aumentados (Federer, 1961), com 64
10 tratamentos regulares (acessos e cultivares) e dois tratamentos comuns (IAC 24 e FM 966,
11 padrões resistente e suscetível, respectivamente), sendo cada parcela experimental formada por
12 nove plântulas. O experimento foi repetido duas vezes, o cultivo do inóculo e inoculação, assim
13 como, a avaliação da severidade e cálculo da AACPD foram realizados conforme descrito
14 anteriormente. Os dados de AACPD e de severidade final (severidade no último dia de
15 avaliação) foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o procedimento do programa
16 estatístico SAS para o delineamento em questão. As pressuposições para análise de variância
17 foram atendidas em ambos os ensaios.

18 No segundo ensaio, após as avaliações de severidade, as plântulas de cada tratamento
19 foram retiradas das bandejas e foi verificado visualmente se havia escurecimento do sistema
20 vascular na base do caule da plântula. Em seguida, fragmentos dos caules de todas as plântulas
21 foram submetidos à isolamento indireto em meio BDA para re-isolamento do patógeno visando
22 a quantificação da incidência de plântulas com escurecimento do sistema vascular e plântulas
23 com o patógeno interno ao mesmo.

24

25

25 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

26

1 **Validação do método de inoculação**

2 Os primeiros sintomas nos cotilédones foram observados entre 10 e 19 dias após a
3 inoculação, dependendo do nível de resistência da cultivar. Sendo observados flacidez das
4 bordas de um ou ambos cotilédones, com a mudança gradativa de tonalidade do verde claro para
5 amarelo, Os sintomas rapidamente avançaram da borda para todo o limbo do cotilédone e, após
6 perder totalmente a coloração verde natural, as nervuras primárias tornavam-se escurecidas;
7 eventualmente, as folhas cotiledonares e o primeiro par de folhas verdadeiras eram destacados
8 da plântula naturalmente. Quando todas as folhas estavam mortas, o caule tornava-se escuro,
9 sendo possível observar esporulação abundante na sua base, sendo constatados apenas
10 macroconídios.

11 Houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis AACPD ($P =$
12 $0,0114$) e severidade final ($P=0,0013$) (Tabela 1). Considerando a variável AACPD, os
13 genótipos Bayou SN-1 e Coker 312, com resistência previamente conhecida ou com genealogia
14 resistente, respectivamente, foram mais resistentes que o genótipo Deltapine 45A,. Para a
15 variável severidade final, os genótipos Bayou SN-1, Auburn 56-24 e Coker 312, todos com
16 genealogia resistente foram estatisticamente mais resistentes que Deltapine 45A. Verificou-se
17 também que o genótipo Coker 312 foi mais resistente que Acala 44 para esta variável.

18 Para que haja sucesso no processo de seleção para resistência, além das fontes de genes
19 de resistência previamente identificadas, é necessário um método efetivo de inoculação e
20 avaliação das plantas. A maneira mais simples de selecionar plantas resistentes é o cultivo em
21 solo infestado, natural ou artificialmente (Perry, 1962). Ressalta-se, entretanto, que esse método
22 não é o adequado para seleção de plantas individuais, devido ao eventual escape de inoculação.

23 Houve correlação positiva entre as variáveis AACPD e severidade final ($r=0,89024$,
24 $P<0,0001$) e AACPD e porcentagem de escurecimento do sistema vascular ($r=0,48425$,
25 $P=0,0002$), entretanto, não houve correlação entre AACPD e re-isolamento do patógeno de
26 plântulas. Constatou-se também que houve correlação entre as variáveis severidade final e
27 porcentagem de escurecimento do sistema vascular ($r=0,54031$, $P<0,0001$), todavia, não houve

1 correlação entre a porcentagem de escurecimento e re-isolamento do patógeno de plântulas.

2 Com base na correlação significativa entre AACPD e severidade final, a última variável
3 é mais adequada para ser usada na seleção de um número elevado de genótipos, devido à sua
4 praticidade. A variável AACPD, apesar de integrar toda a curva de progresso da doença,
5 levando-se em consideração o início da epidemia e a magnitude do incremento da severidade da
6 doença ao longo do tempo, tem seu emprego dificultado em estudos com muitos genótipos, em
7 virtude de serem necessárias muitas avaliações, devendo ser limitada a testes de avaliação de
8 poucos genótipo ou ensaios em campo.

9 A correlação entre as variáveis AACPD ou severidade final e escurecimento do sistema
10 vascular, embora significativa, foi relativamente baixa. Portanto, deve-se ter cautela no uso da
11 variável escurecimento do sistema vascular em testes de seleção de genótipos em condições
12 controladas.

13 O fato de não haver correlação entre escurecimento do sistema vascular e re-isolamento
14 do patógeno de plântulas, deve estar relacionado a outro mecanismo de resistência que não
15 oclusão do sistema vascular e formação de toxinas que esteja contribuindo para a resistência das
16 plantas. Bugbee (1970) estudou este fenômeno em genótipos com mesma taxa de oclusão do
17 sistema vascular e com diferentes níveis de resistência à murcha, e concluiu que a resistência era
18 devida, principalmente, a rápida capacidade de regeneração dos vasos condutores.

19 A simples inspeção visual do escurecimento do sistema vascular pode não ser suficiente
20 para constatar o início da resposta de resistência com base na oclusão do xilema, no entanto,
21 esse procedimento associado ao isolamento indireto do patógeno a partir da base do caule pode
22 ser empregado para confirmação da presença do agente causal da murcha no sistema vascular
23 das plantas afetadas, conforme as médias gerais verificadas para essas variáveis, ou seja,
24 24,83% para inspeção visual e 54,81% para isolamento indireto.

25 Todos os tratamentos (genótipos) tiveram frequência de infecção (com base no re-
26 isolamento do patógeno) acima de 50%, o que caracteriza a eficiência do método no
27 favorecimento da infecção pelo patógeno devido ao espaço reduzido para desenvolvimento das

1 raízes. Ressalta-se, entretanto, que apesar de todo controle local, ainda há escape, embora não
2 tanto quanto verificado em outros métodos de inoculação, como aqueles descritos por (Wiles,
3 1963; Wickens, 1964; Miller & Cooper 1967; Bugbee & Sappenfield., 1972).

4 Em condições controladas, o método de inoculação mais usado consiste em mergulhar
5 as raízes de plântulas de algodoeiro em suspensão de esporos e, em seguida, transplantá-las para
6 outro recipiente (Wiles, 1963). Esse método é bastante laborioso e tende a ferir demasiadamente
7 as raízes durante a inoculação e o transplante. Outros métodos também são descritos, os quais
8 envolvem o transplante de plântulas para substrato infestado (Perry, 1962). Ressalta-se,
9 entretanto, que os ferimentos causados durante a etapa de transplante podem interferir
10 negativamente nos resultados. Com base nessa premissa, Wickens (1964) após diversos testes,
11 desenvolveu dois métodos, uma para seleção de populações e outro para seleção de plantas
12 individuais com o mínimo de injúrias ao sistema radicular. No primeiro, as plantas avaliadas são
13 cultivadas em vasos sem fundo dispostos em outro vaso maior. Por ocasião da inoculação, os
14 vasos menores são retirados do vaso maior, sendo o inóculo, depositado no vazio deixado pelo
15 vaso menor; em seguida, o vaso menor é recolocado no seu lugar de origem. Apesar dos
16 resultados positivos, esse método ainda é muito laborioso quando se necessita testar um número
17 elevado de genótipos.

18 A concentração da suspensão de esporos usada para inoculação nesse estudo, ou seja
19 5×10^5 esporos por mL, foi suficiente para diferenciação de genótipos resistentes e suscetíveis,
20 contrastando com resultados obtidos por Gridi-Papp *et al.* (1979), cujo método de inoculação
21 empregado só permitiu tal diferenciação com uma suspensão de esporos 10 vezes mais
22 concentrada.

23 Além do uso de uma menor concentração da suspensão de esporos para diferenciação de
24 genótipos resistentes e suscetíveis, o método proposto nesse estudo permitiu avaliar vários
25 genótipos resistentes a murcha-de-fusário simultaneamente num período de 32 dias. Ressalta-se,
26 entretanto, que apesar desse método ser eficiente na seleção de genótipos resistentes a essa

1 doença em condições controladas, é fundamental que os genótipos também sejam avaliados em
2 campo, sob condição de infecção natural simultânea dos agentes causais da murcha e
3 nematóides patogênicos ao algodoeiro, em virtude da presença de nematóides agravar a murcha-
4 de-fusário.

5

6 **Fontes de resistência**

7 Houve diferenças significativas entre os acessos avaliados no primeiro ensaio
8 ($P=0,0018$), enquanto que no segundo as diferenças não foram tão evidentes ($P=0,1086$). No
9 segundo ensaio, a média geral de AACPD foi de 194,50, muito acima da média do primeiro
10 ensaio, que foi de 72,70 (Tabela 2). Tais diferenças podem ser atribuídas às condições
11 climáticas. Na condução do primeiro ensaio a temperatura média do período foi de 23,9 °C,
12 variando de 22,8 a 25,6, enquanto que no segundo ensaio a temperatura média no período foi de
13 22 °C , variando de 20,3 a 23,7 °C. De maneira similar, Wang *et al.* (1999), em ensaios
14 conduzidos em casa-de-vegetação verificaram que em temperaturas moderadas, variando de 18
15 a 23°C, os sintomas da murcha do algodoeiro apresentaram elevada severidade, enquanto que a
16 temperatura mais elevadas, variando de 28 a 33°C, os sintomas praticamente cessam e
17 expressão.

18 As médias de severidade final foram 13,76 e 30,21 ($P=0,0327$ e $P=0,4138$), para o
19 primeiro e segundo ensaio, respectivamente, sendo o mesmo não significativo no segundo
20 ensaio. Com base nos dados de AACPD e severidade final, é possível inferir que a primeira
21 variável é mais confiável em distinguir resistência entre os acessos, possivelmente por causa da
22 integração de toda a curva de progresso, contribuindo para uma maior AACPD o genótipo que
23 tiver menor período de incubação, portanto, com maior suscetibilidade. As altas correlações
24 entre as variáveis AACPD e severidade final em ambos os ensaios ($r=0,8768$, $P<0,0001$ e
25 $r=0,8946$, $P<0,0001$, para o primeiro e segundo ensaio, respectivamente) permite o uso apenas
26 da última variável para seleção com certa segurança em tais casos.

1 Não houve diferença entre os tratamentos com relação a variável escurecimento do
2 sistema vascular ($P=0,0660$), não sendo possível também detectar tais diferenças para o re-
3 isolamento do patógeno ($P=0,6556$).

4 O erro experimental em ensaios conduzidos no delineamento de blocos aumentados
5 (Blocos de Federer) é calculado a com base nas variâncias dos tratamentos comuns a todos os
6 blocos. Nesse caso, quanto maior a severidade da doença, espera-se que a variância aumente
7 (como verificado no coeficiente de variação dos dois ensaios), e, portanto, torna-se mais difícil
8 detectar diferenças entre os tratamentos.

9 Apesar da diferença nos valores médios de severidade entre os dois ensaios, o nível de
10 resistência dos acessos foi, na maioria das vezes, consistente, independente do ensaio. Os
11 acessos com menor AACPD foram LA 887, FM 993 e CNPA GO 2002-3778, além da
12 testemunha resistente, IAC 24. Em alguns acessos não se verificou escurecimento do sistema
13 vascular (IPR 120, Delta Penta, BRS Cedro, HS 26, REBA BTK 12, FM 993, PAYMASTER 54
14 B e TAMCOT SPINKS 21), apesar de terem sido quantificados os sintomas iniciais da doença.
15 Destes, não foi possível re-isolamento do patógeno apenas nos acessos BRS Cedro, HS 26 e
16 REBA BTK 12. Desses três acessos, com exceção apenas de REBA BTK 12, no qual não se
17 verificou sintomas de amarelecimento e início de murcha (nota 2) em apenas uma planta, todas
18 as notas quantificadas foram zero ou um, que pode ter sido confundido com o amarelecimento
19 por deficiência nutricional nos últimos dias de avaliação.

20 Nos acessos IPR 120, Delta Penta, FM 993, PAYMASTER 54 B e TAMCOT SPINKS
21 21 não se verificaram escurecimento do sistema vascular. Apesar disso, foi possível re-isolar o
22 patógeno do caule (Tabela 2).

23 Todos os acessos testados nesses estudos pertencem à espécie *Gossypium hirsutum*.
24 Existe considerável variabilidade para resistência à murcha-de-fusário, tanto em *G. hirsutum*
25 quanto em *G. barbadense*, sendo a resistência mais completa nesta última espécie (Hillocks,
26 1992). Em *G. barbadense*, geralmente a resistência é governada por poucos genes de efeito
27 principal (Bird, 1973), enquanto em *G. hirsutum* a herança da resistência é mais complexa,

1 sendo governada por vários genes de efeito principal e modificadores (Kappelman Jr., 1971).

2 Em outro estudo, constatou que a resistência da cultivar Seabrook (*G. barbadense*) é
3 controlada por dois genes dominantes com aditividade inter-locos que lhes conferem
4 praticamente imunidade, enquanto a resistência na cultivar Cook 307-6 (*G. hirsutum*) é
5 condicionada por um gene de efeito principal dominante e diversos genes modificadores (Smith
6 & Dick, 1960)

7 As primeiras cultivares resistentes à murcha-de-fusário foram obtidas por seleção
8 massal em solos altamente infestados com o patógeno. A cultivar Rivers (*G. barbadense*) foi
9 selecionada em 1892 e, após seleções posteriores, deu origem a cultivar Seabrook (Hillocks,
10 1992). Em 1912, foi lançada a cultivar Cook 307-6 que, apesar de não possuir alto potencial
11 produtivo e boas características de fibra, foi usada para se obter cultivares também com boa
12 resistência, como Empire, Delcot 277, Hartsville e McNair 220.

13 Apesar de não terem sido identificados genótipos imunes de *G. hirsutum* a essa doença,
14 cultivares comerciais com níveis de resistência moderado a alto têm sido desenvolvidas. As
15 primeiras seleções para resistência à murcha-de-fusário em solos infestados podem ter
16 indiretamente selecionado também para resistência ao nematóide-das-galhas, uma vez que
17 ambos os patógenos poderiam co-existir nos campos de seleção. Tal fato pode explicar o bom
18 nível de resistência da cultivar Cook 307-6 ao nematóide das galhas (Hillocks, 1992).

19 A cultivar Auburn 56, padrão de resistência usado em vários programas de
20 melhoramento genético, originou-se do cruzamento entre Cook 307-6 e Coker 100-Wilt (Bird,
21 1973) e combinou resistência à murcha-de-fusário, boas características agrônômicas e
22 resistência ao nematóide-das-galhas, o que lhe rendeu boa aceitação comercial por mais de 20
23 anos.

24 Apesar de outras cultivares como Cleve-wilt-6 serem mais resistentes ao nematóide-das-
25 galhas, apenas com o desenvolvimento das linhagens Bayou, oriundas do cruzamento entre
26 Cleve-wilt-6 e Deltapine 15, foi possível maior nível de resistência ao complexo
27 *Fusarium*/nematóide-das-galhas (Jones & Birchfiels, 1967). Outras cultivares mais produtivas

1 foram desenvolvidas com moderada resistência à murcha-de-fusário nos Estados Unidos, entre
2 as quais Stoneville 603, Dixie King-3, McNair 235, Deltapine 61 e as cultivares Tamcot
3 (Hillocks, 1992).

4 Fora dos Estados Unidos, foram desenvolvidas as cultivares Reba W296 (Allen 51-296
5 x Coker 100-Wild), Reba B50 (Stoneville B1439 x Allen 50T) e UK 77 na África e,
6 recentemente, na Austrália, foi lançada a cultivar Sicot F1, com alto nível de resistência a
7 isolados de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Davis *et al.*, 2006).

8 No Brasil, as cultivares resistentes Auburn 56 e Rex Cotton foram usadas como
9 parentais doadores no desenvolvimento de várias cultivares desenvolvidas no Instituto
10 Agrônomo de Campinas (Gridd-Pap *et al.*, 1984).

11 Infelizmente, apenas a resistência moderada ao nematóide-das-galhas está disponível e
12 em poucas cultivares comerciais, dentre as quais Stoneville LA 887, Paymaster 1560 e Acala
13 NemX. Nesse trabalho quantificou-se um nível desejado de resistência à murcha-de-fusário na
14 cultivar Stoneville LA 887, um resultado interessante aliado a sua resistência parcial aos
15 nematóides das galhas e reniforme.

16 A fonte de resistência de Stoneville LA 887 e Paymaster 1560 é a cultivar Bayou
17 (Clevewilt 6 versus Deltapine 15), que é moderadamente resistente. Uma seleção nessa cultivar
18 para maior comprimento de fibra originou a linhagem Bayou 7769, que, por sua vez, foi cruzada
19 com Deltapine 16, resultando na linhagem resistente LA 434 RKR. Essa foi subsequente-
20 mente cruzada com DES 11-9, para originar Stoneville LA 887 e Paymaster 1560.

21

22

AGRADECIMENTOS

23

24 Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de
25 Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos aos autores Litervaldo
26 Pereira Machado e Beatriz Alemonge de Souza Falleiro

27

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1
2
- 3 AMARAL, E. Novo índice de intensidade de infecção. Pesquisa Agropecuária Brasileira 4:1-2.
4 1969.
- 5 ARMSTRONG, G.M. & ARMSTRONG, J.K. A new race (race 6) of the cotton-wilt fusarium
6 from Brazil. Plant Disease Reporter 62:421-423. 1978.
- 7 BIRD, L.S. Cotton. In: Nelson, R.R. (Ed.). Breeding plants for disease resistance. University
8 Park. Pennsylvania State University Press. 1973. pp.181-199.
- 9 BUGBEE, W.M. Vascular response of cotton to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp.
10 *vasinfectum*. Phytopathology 60:121-123. 1970.
- 11 BUGBEE, W.M. & SAPPENFIELD, W.P. Greenhouse evaluation of verticillium, fusarium and
12 root knot nematode on cotton. Crop Science 12:112-114. 1972.
- 13 CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. New York
14 City. John Wiley & Sons. 1990.
- 15 COLYER, P.D. Fusarium wilt. In: Kirkpatrick, T.L. e Rothrock, C.S. (Ed.). Compendium of
16 cotton diseases. St. Paul. The American Phytopathological Society. 2001. pp.27-28.
- 17 COUTO, E.F., SUASSUNA, N.D., COUTINHO, W.M. & COELHO, R.S.B. Avaliação de
18 métodos de inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder & Hansen em
19 genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). Anais. XXXIX Congresso Brasileiro de
20 Fitopatologia, Salvador - BA. 2006. p.S-141.
- 21 CZERMAINSKI, A.B.C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em
22 experimentos de doenças em plantas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34:1545-1555. 1999.
- 23 DAVIS, R.M., COLYER, P.D., ROTHROCK, C.S. & KOCHMAN, J.K. Fusarium wilt of
24 cotton: diversity and implications for management. Plant Disease 90:629-703. 2006.
- 25 FEDERER, W.T. Augmented designs with one-way elimination of heterogeneity. Biometrics
26 20:540552. 1961.

- 1 GRIDD-PAP, I.L., FUZZATTO, M.G., CAVALERI, P.A., CIA, E., SILVA, N.M., FERRAZ,
2 C.A.M., SCHMIDT, W., NEVES, O.S., RODRIGUES FILHO, F.S.O., CHIAVEGATO, E.J.,
3 SABINO, N.P., MARTINELLI, E.S., LAZZARINI, J.F., CORRÊA, F.A. & GROSSI, J.M.M.
4 Melhoramento do algodoeiro no estado de São Paulo: obtenção das variedades IAC RM 3, IAC
5 RM 4, IAC 16 e IAC 17. *Bragantia* 43:405-423. 1984.
- 6 GRIDI-PAPP, I.L., CIA, E. & SOAVE, J. Transferência da resistência a *Fusarium oxysporum* f.
7 *vasinfectum* baseada em inoculações durante a germinação de sementes de algodoeiro e em
8 testes sob condições naturais. *Bragantia* 38:115-121. 1979.
- 9 HILLOCKS, R.J. Fusarium wilt. In: Hillocks, R.J. (Ed.). *Cotton Diseases*. Wallingford. CAB
10 International. 1992. pp.127-160.
- 11 JONES, J.E. & BIRCHFIELDS, W. Resistance of the experimental cotton variety, Bayou, and
12 related strains to root knot nematode and fusarium wilt. *Phytopathology* 57:1327-1331. 1967.
- 13 KAPPELMAN JR., A.J. Inheritance of resistance to fusarium wilt in cotton. *Crop Science*
14 11:672-674. 1971.
- 15 KRUG, H.P. Fusarium como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. *Anais. REUNIÃO*
16 *DE PHYTOPATHOLOGISTAS DO BRASIL*, Rio de Janeiro. 1936. p.319-321.
- 17 MILLER, D.A. & COOPER, W.E. Greenhouse technique for studying fusarium wilt in cotton.
18 *Crop Science* 7:75-76. 1967.
- 19 NUREMBERG, H.I. A simplified method for identifying *Fusarium* spp. occurring on wheat.
20 *Canadian Journal of Botany* 59:1599-1609. 1981.
- 21 PERRY, D.A. Method for determining the reaction of cotton plants to *Fusarium* wilt. *Empire*
22 *Cotton Growing Review* 39:22-26. 1962.
- 23 SCOTT, R.A. & MILLIKEN, G.A. A SAS program for analyzing augmented randomized
24 complet-block designs. *Crop Science* 33:865-867. 1993.
- 25 SMITH, A.L. & DICK, J.B. Inheritance of resistance to fusarium wilt in upland and sea island
26 cottons as complicated by nematodes under field conditions. *Phytopathology* 50:44-48. 1960.

- 1 SUASSUNA, N.D. & COUTINHO, W.M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no
2 cerrado brasileiro. In: Freire, E.C. (Ed.). Algodão no cerrado brasileiro. Brasília. ABRAPA.
3 2007. pp.479-521.
- 4 WANG, B., DALE, M.L. & KOCHMAN, J.K. Studies on a pathogenicity assay for screening
5 cotton germplasms for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in the glasshouse.
6 Australian journal of Experimental Agriculture 39:967-974. 1999.
- 7 WICKENS, G.M. Methods for detection and selection of heritable resistance to *Fusarium* wilt
8 of cotton. The Empire Cotton Growing Review 41:172-193. 1964.
- 9 WILES, A.B. Comparative reactions of certain cottons to *Fusarium* and *Verticillium* wilts.
10 Phytopathology 53:586-588. 1963.

1

2 Tabela 1. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), severidade aos 25 dias após a
 3 inoculação (Severidade), porcentagem de plântulas com escurecimento do sistema vascular e
 4 porcentagem de re-isolamento de plântulas de nove genótipos de algodoeiro inoculados
 5 artificialmente com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Tratamento	AACPD	Severidade	Escurecimento (%)	Isolamento (%)
Stoneville 213	193,23 ab	22,393 abc	24,784	52,749
Clelewilt	192,58 ab	22,225 abc	19,156	56,551
Deltapine 45A	306,15 A	34,387 a	32,737	59,861
Acala 44	242,74 ab	32,237 ab	33,181	56,997
Auburn 56-24	175,99 ab	18,803 bc	26,468	56,902
Bayou SN-1	160,02 B	18,973 bc	18,945	75,750
BJ 1302 (S 1062)	207,73 ab	22,407 abc	17,734	57,970
Coker 312	153,04 B	18,262 c	20,714	58,088
IAC RM 2	260,46 ab	27,923 abc	29,762	52,656
Média	210,22	24,18	24,83	58,61
P	0,0114	0,0013	0,6101	0,3232
CV	34,35	29,96	66,99	26,13

6

- 1 Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), severidade aos 25 dias após a inoculação (Sevf), porcentagem de plântulas com
 2 escurecimento de vasos (Esc) e porcentagem de re-isolamento de plântulas (Plac) de 64 genótipos de algodoeiro inoculados artificialmente com *Fusarium*
 3 *oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Genótipo	AACPD ¹	SEVF ¹	AACPD ²	SEVF ²	ESC ²	PLAC ²	Genótipo	AACPD ¹	SEVF ¹	AACPD ²	SEVF ²	ESC ²	PLAC ²
FM 993	7,2	2,5	3,2	0,7	0,0	96,2	SP 33950	29,9	9,0	203,9	55,7	30,8	21,2
T1 (IAC 24)	2,8	1,9	5,6	4,4	16,8	23,4	OKLAHOMA TRIUMPH 5	50,3	14,5	208,7	40,3	31,0	18,6
PAYMASTER 54 B	344,8	39,5	6,1	4,2	0,0	18,6	DELT. FOX 253	86,6	24,6	211,8	42,0	90,5	50,0
STONEVILLE LA 887	0,0	0,0	6,8	5,7	2,5	18,6	SMOOTH LEAVES	175,8	33,9	212,3	48,5	22,9	42,4
CNPA GO 2002-3778	7,2	2,5	10,8	8,1	11,0	24,8	STONEVILLE 7 A	83,0	24,0	224,6	34,6	6,0	35,3
HS 26	78,2	12,6	18,1	17,8	0,0	0,0	LUK 13-4	399,2	41,3	228,7	27,4	48,9	22,8
Delta Opal	7,2	2,5	27,2	0,7	20,1	46,2	ACALA-44	32,7	18,1	229,1	42,1	33,4	38,9
BRS Cedro	7,2	2,5	44,6	30,6	0,0	0,0	PAYMASTER 792	0,0	0,0	239,6	34,0	34,4	62,9
Delta Penta	7,2	2,5	45,4	11,4	0,0	53,4	DEL CERRO 1959	80,9	21,2	242,3	36,8	42,9	50,0
STONEVILLE 474	7,2	2,5	63,5	18,9	27,3	100,0	DEL CERRO UNPGR	164,9	30,5	243,3	31,7	84,4	96,2
STONEVILLE 213	35,3	10,6	70,1	17,1	35,8	18,1	XG 15	23,9	15,5	247,5	32,8	6,0	22,8
TAMCOT SPINKS 21	32,8	9,5	76,7	20,6	0,0	28,2	PAYMASTER 303	71,1	18,8	260,0	47,1	38,1	60,3
BJ 1302 (S 1062)	20,0	7,1	79,7	23,0	23,9	38,9	BRS Araçá	7,2	2,5	261,3	39,0	41,5	21,2
REBA P 274	55,4	14,6	87,1	24,4	40,5	7,5	STONEVILLE 253	359,0	23,1	264,7	41,5	66,5	87,9
IPR 120	7,2	2,5	95,4	16,7	0,0	18,4	T2 (FM 966)	39,1	8,4	272,6	38,8	30,9	50,0
IAC RM 2	184,6	33,8	105,3	25,2	35,8	30,6	MC NAIR 235	84,6	21,2	278,2	41,1	33,4	27,8

CACIQUE 2005	69,0	13,9	107,7	14,7	41,5	68,4	CNPA GO 2002-4771	7,2	2,5	283,5	35,1	27,3	62,9
Coodetec 409	7,2	2,5	110,2	20,8	11,0	39,1	MEXICO 910	82,0	18,0	299,7	45,8	35,1	42,4
ACALA DEL CERRO	43,8	10,0	110,8	23,6	42,9	16,7	LOUISIANA OKRA 2	41,5	13,4	316,1	41,9	51,1	68,4
REBA BTK 12	144,5	17,0	113,2	17,7	0,0	0,0	GUAZUNCHO 3	10,7	2,5	326,0	30,8	52,3	71,2
REBA B 50	78,9	20,1	127,2	29,4	2,5	52,0	DIXIE	54,1	14,6	342,7	42,8	35,8	18,1
DEKALB 220	0,0	0,0	145,4	29,7	22,9	28,2	BRS Buriti	92,8	14,7	361,7	40,2	52,3	83,7
LA BANDA 300	40,5	9,9	149,0	27,4	36,8	51,8	SAKAHAA 642-53	348,0	49,1	362,8	42,0	90,5	16,7
AUBURN 2	41,6	9,1	154,5	23,4	32,0	79,6	IAC RM 3	257,8	36,0	363,0	42,1	90,5	38,9
PAYMASTER 53M 23	75,6	15,5	156,1	24,7	87,9	75,4	ORO BLANCO	203,9	32,1	377,7	43,8	41,5	71,2
AUBURN 5624	97,1	19,4	161,8	20,5	47,3	52,9	STO 256	79,0	20,0	382,0	41,5	57,2	55,6
CS 50	0,0	0,0	170,2	22,7	49,7	55,7	CUBQ	62,2	11,3	383,3	41,3	60,6	79,6
M11 GLANDED	28,7	9,1	170,7	20,5	22,5	57,3	DIXIE KING II	207,2	37,2	384,7	62,9	100,0	83,4
SHORT BRANCH	118,9	18,5	177,8	24,2	16,7	10,3	STONEVILLE 20 (MA)	1,5	3,9	405,7	52,2	55,8	100,0
BJ 3125	59,5	14,6	178,6	30,2	46,5	55,6	DELTAPINE SMOOTH LEAF	42,8	15,9	418,2	50,4	61,9	70,0
ACALA 1517-70 (SA 1225)	18,8	6,8	184,1	25,4	37,5	84,3	ACALA 8	158,0	39,9	424,8	62,1	98,6	68,4
COKER 310	26,5	7,1	185,1	26,0	61,9	61,1	DELTAPINE 45 A	128,8	18,8	439,7	60,8	78,6	18,1
PAYMASTER 909	15,9	6,8	189,7	35,3	32,0	46,2	BRS Ipê	7,2	2,5	-	-	-	-
Média	72,7	13,8	194,5	30,2	41,5	45,2							
CV	13,7	23,8	29,1	40,5	24,2	52,5							
P	0,002	0,033	0,110	0,414	0,066	0,656							

1 1 – Dados referentes ao primeiro ensaio; 2 - Dados referentes ao segundo ensaio.

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES

1. O método de seleção proposto é adequado para diferenciar genótipos com diferentes níveis de resistência;
2. As variáveis área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) dade final são adequadas para quantificar a resistência no método proposto, entretanto, o uso da variável AACPD é mais laborioso;
3. Constatou-se alta resistência dos genótipos FM 993, Stoneville LA 887, CNPA GO 2002-3778 e HS 26 para murcha-de-fusário entre os 64 acessos avaliados.