



## VARIABILIDADE FENOTÍPICA ENTRE ISOLADOS DE *RAMULARIA AREOLA* DO ALGODOEIRO BRASILEIRO

Juliana Barbosa<sup>1</sup>; Carla Zandoná Chimatti<sup>1</sup>; Tanara Garcia de Novaes<sup>1</sup>; Wilson Paes de Almeida<sup>1</sup>;  
Yeshwant Ramchandra Mehta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Iapar - Instituto Agrônomo do Paraná, Rod. Celso Garcia Cid, km 375, Bairro Três Marcos, CEP: 86047-902, Londrina, PR, e-mail: yrmehta@iapar.br.

**RESUMO** - A mancha-de-ramularia do algodoeiro causada por *Ramularia areola*, pode ser controlada através de uso de cultivares resistentes desde que fontes de resistência ampla a este patógeno sejam identificadas. Será necessário obter informação sobre a existência ou não da variabilidade fenotípica e genotípica entre os isolados do patógeno provenientes das áreas geograficamente distintas da cotonicultura. O objetivo do presente trabalho foi verificar variabilidade fenotípica entre 14 isolados de *R. areola* adquiridos de seis estados produtores de algodão do Brasil. Dois genótipos resistentes FMT 02102996 e CNPA BA 2003-2059, e um suscetível FMT 701, assim identificadas em trabalhos anteriores, foram inoculadas individualmente com os 14 isolados e a severidade da doença foi avaliada 30 dias após a inoculação em casa de vegetação. Os genótipos CNPA BA 2003-2059 e FMT 02102996 mostraram suscetibilidade aos isolados nos 13.2 e 58.4 provenientes dos estados do Paraná e Mato Grosso, respectivamente. Os dois genótipos também foram moderadamente resistentes ao isolado nº12.8 do Paraná, porém mantiveram sua resistência completa aos demais isolados. O genótipo FMT 701 mostrou suscetibilidade a todos os isolados. Os resultados indicam existência da variabilidade entre isolados de *R. areola* e mostram que os três genótipos estudados na presente investigação são úteis como diferenciadores da variabilidade fenotípica dentro deste patógeno.

**Palavras-chave:** Mancha-de-ramularia, *Gossypium hirsutum*, resistência varietal.

### INTRODUÇÃO

A mancha-de-ramularia do algodoeiro causada por *Ramularia areola*, pode ser controlada através de uso de cultivares resistentes, desde que as fontes de resistência a este patógeno sejam identificadas. Há carência de informação sobre o grau de resistência de genótipos de *Gossypium hirsutum*. Para este tipo de trabalho, primeiramente é necessário obter informação sobre a existência ou não da variabilidade entre os isolados provenientes das áreas representativas da cotonicultura brasileira.

O teleomorfo de *R. areola* não é encontrado na natureza. Mesmo não ocorrendo o teleomorfo, há indicação de existência de patótipos ("field strains") de *R. areola* no Brasil. Frequentemente são verificados fatos em que um genótipo mostra resistência à ramulária em um determinado município,

mas não em outro. Isso cria certa frustração aos melhoristas que dedicam vários anos de trabalho e recursos substanciais na criação de novas cultivares. Esta situação poderá ser alterada desde que haja informação de pesquisa sobre dois aspectos fundamentais. Fenotipagem e genotipagem de diferentes isolados de *R. areola* que formam dois pilares básicos do melhoramento genético para resistência. Estes pilares, por sua vez, permitem desenvolver um conjunto de genótipos diferenciadores de “field strains” provenientes tanto de áreas geograficamente diferentes como também de diversos genótipos e/ou espécies de *Gossypium*. Uma vez identificadas, as fontes de resistência ampla poderão ser utilizadas por programas nacionais de melhoramento. Considerando que o mecanismo de resistência é simples, o processo de piramidação de genes de resistência será o mais advogado.

Em trabalhos anteriores, Novaes et al. (2011) e Zandoná et al. (2011) identificaram dois genótipos (CNPA BA 2003-2059 e FMT 02102996) resistentes ao isolado nº 44 de *R. areola* da coleção do IAPAR. Zandoná et al (2011) também reportaram que os genótipos possuem um gene dominante para resistência ao isolado nº 44 de *R. areola*, sendo os genes diferentes entre genótipos. Alguns genótipos resistentes ao isolado nº 44 de *R. areola* também foram reportados por Séleri et al. (2011). Contrário aos nossos resultados e aos resultados reportados por Novaes et al. (2011), Lucena et al. (2007) reportaram resistência poligênica a *R. areola* no genótipo VH8-4602, pertencente a espécie *G. barbadense*. Sendo a resistência poligênica, a transferência de genes de resistência (QTL) de *G. barbadense* a *G. hirsutum* não será muito fácil. Além disso, embora ambas as espécies sejam alotetraplóides, elas diferem por falta de homologia entre cromossomos ou braços de cromossomos Harland (citado por GRIDI-PAPP, 1965).

Há carência de informação adequada sobre a variabilidade fenotípica e genotípica entre os isolados de *R. areola* no Brasil. O objetivo do presente trabalho foi verificar variabilidade fenotípica entre 14 isolados de *R. areola* adquiridos de diversos estados produtores de algodão do Brasil. Conhecimento adquirido sobre a variabilidade fenotípica dos isolados possibilitará identificar fontes de resistência estável a *R. areola*.

## METODOLOGIA

**Aquisição de semente:** Semente genética de três genótipos (CNPA BA 2003-2059 e FMT 02102996 como resistentes e FMT 701 como suscetível) foram semeadas e plantas de 25 dias de idade destes genótipos foram inoculadas em casa de vegetação, para confirmar sua reação de resistência e suscetibilidade ao isolado nº 44 de *R. areola* da coleção do IAPAR proveniente de Ipameri, GO. Após confirmação da sua reação, sementes de apenas uma planta de cada genótipo foram usadas para multiplicação de sementes para futuros estudos (NOVAES et al., 2011; ZANDONÁ

et al., 2011). Plantas destes genótipos foram cultivadas em casa de vegetação, em vasos de 30 cm de diâmetro contendo solo esterilizado (mistura em proporções iguais de solo areia e composto).

**Aquisição de isolados.** Amostras das folhas do algodoeiro com sintomas típicos da mancha de ramulária de diversos estados brasileiros foram coletadas por técnicos da FRAC (Fungicide Resistance Assessment Committee of Brasil) em 2009 e foram recebidas no laboratório de patologia de sementes do IAPAR. Isolamentos monopustulares de *R. areola* provenientes de 14 municípios foram realizados e armazenados em meio V8-agar para futuros trabalhos.

**Inoculação.** Colônias do fungo cultivadas por 7-10 dias em meio de cultura V8-agar para a esporulação, foram utilizadas para preparo do inóculo. O inóculo foi ajustado aproximadamente a  $10^4$  conídios/ml e gotas de Tween20 (1gota/100ml) foram adicionadas a inóculo. Aos 20 dias de idade, 12 plantas de cada genótipo foram inoculadas utilizando um pulverizador manual e uma quantidade igual de inóculo por planta. As plantas foram inoculadas individualmente com os 14 isolados de *R. areola*. Logo após a inoculação, as plantas foram transferidas para câmara de crescimento com umidificador onde permaneceram 48 horas no escuro a temperatura de 21° C e umidade relativa do ar de aproximadamente 100 %. Após esse período, as plantas foram transferidas e distribuídas ao acaso em casa de vegetação, com variação de temperatura de 20 a 30 °C.

**Avaliação de severidade da doença.** A severidade da doença foi avaliada 30 dias após a inoculação utilizando se uma escala visual de porcentagem de área foliar infectada (AFI) entre 0 e 100 em três categorias; onde: 1 = Pontuações necróticas sem clorose cobrindo 0-1% da AFI; 2 = Pequenas pontuações necróticas sem clorose cobrindo <5% da AFI; 3 = manchas tipicamente angulares, com clorose, e cobrindo > 5% da AFI; Plantas de categorias 1 e 2 foram arbitrariamente consideradas como resistentes ou moderadamente resistentes e da categoria 3 como suscetíveis (NOVAES et al., 2011; ZANDONÁ et al., 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois genótipos CNPA BA-2003-2059 e FMT 02102996 identificados anteriormente como resistentes ao isolado nº44 da *R. areola*, no presente trabalho, mostraram variação no seu comportamento frente a alguns isolados originários de áreas geograficamente diferentes. Esses genótipos mostraram suscetibilidade ao isolados nºs 13.2 e 58.4 provenientes dos estados do Paraná e do Mato Grosso, respectivamente (Fig. 2). Os dois genótipos também foram moderadamente resistentes a isolado nº 12.8 do Paraná. Para os demais isolados eles mantiveram sua resistência. O genótipo FMT 701 mostrou suscetibilidade a todos os 14 isolados de *R. areola* (Tab. 1; Fig. 1).

Os resultados indicam a necessidade de realização de futuros trabalhos para verificar se estes

isolados também diferem genotipicamente entre si, com o objetivo de identificar genótipos com maior espectro de resistência a *R. areola*. Estudos sobre fenotipagem e genotipagem dos isolados ajudam a aprimorar o conhecimento sobre *R. areola* para tornar o melhoramento genético do algodoeiro visando resistência à mancha de ramulária, mais eficiente.

### CONCLUSÃO

A resistência de genótipos CNPA BA 2003-2059 e FMT 02102996 do algodoeiro a mancha de ramulária, mesmo governada por genes diferentes, não é estável pois depende da origem geográfica do isolado.

Há variabilidade fenotípica entre alguns isolados de *R. areola*.

### AGRADECIMENTO

Agradecemos a colaboração da colega Alana Séleri.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAUQUIL, J., SÉMENT, G. L. Faux mildiou du cotonnier (*Ramularia areola* Atk.) dans le sud-ouest de Madagascar. **Coton et Fibres Tropicales**, v. 28, p. 279-286, 1973.

CIA, E., FUZZATTO, M. G., CHIAVEGATO, E. J., FARIAS, F. J. C., ARAÚJO, A. E. Desempenho de cultivares e linhagens de algodoeiro diante da incidência de Ramulária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2., 1999, Ribeirão Preto. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. p. 468-470.

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

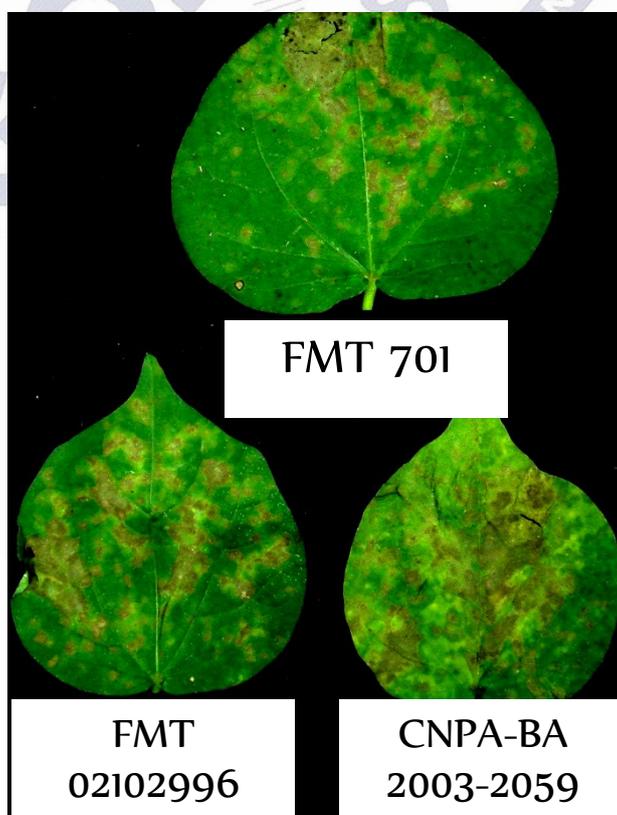
SÉLERI, A.; BARBOSA, J.; NOVAES, T. G.; ZANDONÁ C. C.; ALMEIDA, W. P., FONSECA JUNIOR, N.; MEHTA, Y. R. **Resposta diferencial dos genótipos do algodoeiro brasileiro a *Ramularia areola***. 2011. No prelo.

SHIVANKAR, S. K.; WANGIKAR, P. D. Estimation of crop losses due to grey mildew disease of cotton caused by *Ramularia areola*. **Indian Phytopathology**, v. 45, n. 1, p. 74-76, 1992.

ZANDONÁ, C.; NOVAES, T. G.; NUNES, M. P.; ALMEIDA, W. P.; SCHUSTER, I.; MEHTA, Y. R. **Demonstração de mecanismo de resistência e da presença de genes diferentes de resistência a *Ramularia areola* em dois genótipos do algodoeiro**. 2011. No prelo.



**Figura.1.** Reação fenotípica do isolado nº 44 de *R. areola* na folha do genótipo FMT 701, 30 dias após a inoculação em casa de vegetação.



**Figura 2.** Reação fenotípica do isolado nº 58.4 de *R. areola* em três genótipos do algodoeiro, 30 dias após a inoculação em casa de vegetação.

**Tabela 1.** Reação fenotípica de 14 isolados de *Ramularia areola* verificada nos três genótipos do algodoeiro em casa de vegetação.

Nº do Isolado	Local/Estado	Porcentagem média de área foliar infectada (AFI) por Genótipo, 30 dias após a inoculação*		
		FMT 701	FMT 02102996	CNPA-BA2003-2059
44	Ipameri/GO	50,0	0,0	0,0
11.5	Primavera do Leste/MT	14,5	0,0	0,0
12.8	Moreira Sales/PR	36,4	1,7	1,7
13.2	Sto. Ant. da Platina/PR	42,5	78,57	16,7
18.4	Riolândia/SP	43,3	0,0	0,0
19.4	Riolândia/SP	25,0	0,0	0,0
20.8	Itumbiara/GO	50,5	0,0	0,0
22.3	Bahia/BA	1,9	0,0	0,0
26.1	Bahia/BA	43,5	0,0	0,0
29.4	Lucas do Rio Verde/MT	51,0	0,0	0,0
41.1	Primavera do Leste/MT	22,5	0,0	0,0
43.5	Mato Grosso/MT	30,0	0,0	0,0
58.4	Chapada do Sul/MS	45,0	23,0	48,3
64.1	Mineiros/GO	50,4	0,0	0,0

\*Média de 8-12 repetições por genótipo. A AFI foi estimada através de uma escala visual entre 0 e 100% da folha mais infectada de cada planta e classificada em três categorias; onde: 1 = Pontuações necróticas sem clorose cobrindo 0-1% da AFI; 2 = Pequenas pontuações necróticas sem clorose cobrindo <5% da AFI; 3 = manchas tipicamente angulares, com clorose, e cobrindo > 5% da AFI; Plantas de categorias 1 e 2 foram arbitrariamente consideradas como resistentes ou moderadamente resistentes e da categoria 3 como suscetíveis (6,10).