



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM AGROECOLOGIA**

RHAYSSA VIEIRA SOARES DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA QUANTO A RESISTÊNCIA
À *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, AGENTE CAUSAL DA MURCHA-DE-
FUSÁRIO**

Lagoa Seca – PB

Julho – 2012

RHAYSSA VIEIRA SOARES DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA QUANTO A RESISTÊNCIA
À *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, AGENTE CAUSAL DA MURCHA-DE-
FUSÁRIO**

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC,
apresentado à Universidade Estadual da
Paraíba – UEPB, como pré-requisito
para Conclusão do Curso de
Bacharelado em Agroecologia

Orientador: Dartanhã José Soares

Co-orientador: Wirton Macedo Coutinho

Lagoa Seca – PB

Julho – 2012

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Joaquim Vitoriano Pereira - CCAA – UEPB

C837a Costa, Rhayssa Vieira Soares da.

Avaliação de genótipos de mamoneira quanto a resistência à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, agente causal da murcha-de-fusário Lagoa Seca – PB / Rhayssa Vieira Soares da Costa. – 2012.

45f. il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agroecologia) – Universidade Estadual da Paraíba. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, 2012.

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

1.Fitopatologia. 2.Mamona. 3.Murcha de fusário 4. I - Título.

21.ed. CDD631

RHAYSSA VIEIRA SOARES DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA QUANTO A RESISTÊNCIA
À *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, AGENTE CAUSAL DA MURCHA-DE-
FUSÁRIO**

Examinadores



Prof. Dr. DARTANHA JOSÉ SOARES (ORIENTADOR)

Embrapa Algodão
Departamento de Pós-Graduação em Ciências Agrárias



Prof. Dr. CARLOS HENRIQUE MENESES (EXAMINADOR)

Universidade Estadual da Paraíba
Centro de Ciências Agrárias e Ambientais
Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais



Prof. Ms. SHIRLEYDE ALVES DOS SANTOS (EXAMINADORA)

Universidade Estadual da Paraíba
Centro de Ciências Agrárias e Ambientais
Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais

Aprovado: 10 de julho de 2012.

Lagoa Seca – PB

Julho - 2012

Dedico este trabalho a Deus que sempre me ilumina e abençoa em todos os momentos.

A meus pais Renilda e Wanderley pelo apoio, incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual da Paraíba e a todos os professores que formam o corpo docente do curso de Bacharelado em Agroecologia, que com seus ensinamentos permitiram que meu sonho fosse realizado.

À Embrapa Algodão, pelo estágio que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu orientador Dr. Dartanhã José Soares, pelos ensinamentos, pelas oportunidades e incentivo para realização desse trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica.

À Jacilane e Juarez, pelo carinho, disponibilidade e ensinamentos diários.

À todas as minhas colegas de estágio, pelo carinho e conversas diárias.

Aos funcionários da Embrapa Algodão e do Campus II, da UEPB, pela prestatividade.

Aos meus colegas de curso por todos os momentos dessa jornada vencida.

Ao Evandro pela dignidade, carinho, autenticidade, amizade, amor e companheirismo nestes quatro anos e meio.

À todas as pessoas que participam da minha vida e que torceram por mim para esta vitória conquistada.

Obrigada a Todos!

RESUMO

AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA QUANTO A RESISTÊNCIA À *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, AGENTE CAUSAL DA MURCHA-DE-FUSÁRIO

RESUMO

A mamoneira é uma planta de grande importância econômica devido às inúmeras características do seu óleo. Com a expansão da cultura tem sido observado um aumento da ocorrência de doenças. Dentre as principais doenças da mamoneira, merece destaque a murcha-de-fusário, por ser uma doença sistêmica, para a qual não existem métodos curativos e cujo patógeno pode sobreviver por vários anos na área de cultivo. Dessa forma a única estratégia viável de manejo da murcha-de-fusário seria o uso de variedades resistentes. Para que seja possível a obtenção de cultivares e/ou híbridos resistentes a essa doença é preciso que se identifiquem fontes de resistência e que sejam desenvolvidos métodos que permitam a avaliação de grande número de genótipos e que esses métodos produzam uma resposta rápida e confiável. No presente estudo objetivou-se avaliar a metodologia do cultivo de plantas mamoneira em substrato artificialmente infestado inóculo sólido de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, visando a identificação de fontes de resistência e caracterização de diferentes genótipos de mamoneira quanto a sua resistência a infecção por esse patógeno. Foram feitos isolamentos, a partir de plantas sintomáticas, para obtenção de diferentes isolados de *F. oxysporum* f. sp. *ricini*. A partir dos isolados obtidos foram realizados testes de patogenicidade e agressividade. Após a realização dos testes de patogenicidade e agressividade foram escolhidos quatro isolados, considerados mais agressivos e com origens distintas, para a realização de ensaios para a caracterização qualitativa e quantitativa de 28 genótipos de mamoneira. Esses ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, na Embrapa Algodão. Para os ensaios quantitativos o delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. As avaliações consistiram da atribuição de notas, de um a quatro, variando de 0 (planta sem sintoma) a 4 (planta morta), para cada planta e do cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para cada genótipo avaliado. Foram obtidos 15 isolados do patógeno, oriundos de diferentes regiões e materiais genéticos

distintos. Houve diferenças quanto a agressividade dos 15 isolados testados em relação percentual de plantas mortas ou com sintomas da doença para a cultivar BRS Energia. Houve diferenças quanto à caracterização quantitativa dos genótipos avaliados. A maioria dos genótipos testados foi considerada altamente suscetível a *F. oxysporum* f. sp. *ricini*, com exceção do genótipo BRA 3182 que foi considerado altamente resistente.

Palavras chaves: agressividade; murcha vascular; *Ricinus communis* L.

ABSTRACT

REACTION OF CASTOR GENOTYPES TO *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, CAUSAL AGENT OF FUSARIUM WILT

ABSTRACT

Castor is an economic important crop due its unique oil traits. With the crop expansion disease problem had becoming more pronounceable. Among the castor diseases the wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, is one of the most important, due its systemic nature and lack of curative measure to control the pathogen after the beginning of infection process, and because the fungus is able to survive for several years in the crop area after its introduction. The most reliable measure to control this disease is through the use of resistant cultivars. Thus it is important that fast, accurate and robust methods for screening genotypes for disease resistant being available. The aim of the present study was determine the effectiveness of the chaff-grain method in the screening of castor genotypes for resistance to *F. oxysporum* f. sp. *ricini*. Initially were obtained symptomatic plants to isolate the pathogen. There were obtained 15 isolates from distinct location and host genotypes. There was tested the pathogenicity and virulence of the obtained isolates. After that four of the most virulent isolates were used in bioassays to screening 28 castor genotypes for its qualitative and quantitative resistance to *Fusarium* wilt. The bioassays were performed in glasshouse following a randomized block design. The disease assessment was performed attributing a score from a scale varying from 0 (asymptomatic plant) to 4 (dead plant), to each plant, the sum of the score was used to calculated the AUCDP. There were differences among the virulence of the 15 isolates tested. Most of the castor genotypes tested were regard susceptible to the pathogen, with exception of the genotype BRA 3182, which was regarded highly resistant. It was possible verify a distinct quantitative reaction of the castor genotypes to the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* infection.

Key-words: aggressiveness; *Ricinus communis* L.; vascular wilt.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo Geral	15
2.2. Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Escolha dos genótipos	21
4.2. Obtenção e preservação dos isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. ricini</i> (For)	21
4.3. Testes de patogenicidade	22
4.4. Preparo do inóculo	22
4.5. Preparo do substrato de cultivo das plantas	23
4.6. Semeadura dos genótipos	24
4.7. Reação de genótipos de mamoneira a <i>For</i>	24
4.7.1. Caracterização qualitativa	24
4.7.2. Caracterização quantitativa	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Obtenção e preservação dos isolados de <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. ricini</i> (For)	27
5.2. Testes de patogenicidade	29
5.3. Reação de genótipos de mamoneira a <i>For</i>	31
5.3.1. Caracterização qualitativa	31
5.3.2. Caracterização quantitativa	35
6. CONCLUSÕES	39
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Resultado dos testes de patogenicidade e agressividade de 15 isolados de <i>For</i> utilizando-se a cultivar BRS Energia. As letras “a” e “b”, inseridas no canto inferior direito das figuras, referem-se ao primeiro e segundo ensaio, respectivamente.....	28
Figura 2. Escala de notas para avaliação da reação de genótipos de mamoneira quanto à resistência <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ricini</i> , adaptada de Machado et al. (2009), com modificações.....	30
Figura 3. Reação diferencial de genótipos de mamoneira quanto a suscetibilidade a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ricini</i> por meio do cultivo de plantas em substrato artificialmente infestado, por um mistura proporcional de quatro isolados distintos do patógeno.....	31
Figura 4. Progresso da murcha-de-fusário em 15 genótipos de mamoneira cultivados em substrato artificialmente infestado com uma mistura proporcional de quatro isolados distintos de <i>For</i>	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação dos isolados obtidos e preservados na Coleção de Cultura Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (CCMF-CNPA).....	26
Tabela 2. Agressividade de 15 isolados de <i>For</i> à cultivar BRS Energia. ...	29
Tabela 3. Relação dos genótipos avaliados quanto a sua resistência a <i>For</i>	32
Tabela 4. Valores de área abaixo da curva de progresso da murcha-de-fusário de 15 genótipos de mamoneira cultivados em substrato infestado com uma mistura proporcional de quatro isolados distintos de <i>For</i>	34

LISTA DE ABREVIATURAS

AACPD. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença.....	vi
ha. Hectares.....	11
Kg.ha ⁻¹ . Quilograma por hectare.....	11
BCA. Batata-cenoura-agar.....	19
BDA. Batata-dextrose-agar.....	19
SNA. Synthetic Nutrient Agar.....	19

1. INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é considerada uma oleaginosa de alto valor econômico em virtude das inúmeras aplicações industriais de seu óleo. Essa oleaginosa pode ser cultivada em quase todo país. Entretanto, sua grande vantagem competitiva está no semiárido da região Nordeste, devido a não competição com outras culturas de importância econômica, e onde seu custo de produção é baixo graças, principalmente, a utilização de mão de obra familiar (SANTOS et al., 2007).

Historicamente, desde a década de 1970, a Índia, a China e o Brasil são considerados os maiores produtores desta oleaginosa, sendo que o Brasil ocupa atualmente a terceira posição, com cerca de 210 mil ha plantados, e produção de 141,3 mil toneladas na safra 2010/2011 (SANTOS et al., 2007; CONAB, 2012b).

No Brasil, a região Nordeste é considerada a principal região produtora, responsável por mais de 90 % da área plantada na safra 2010/2011, sendo o Estado da Bahia o maior produtor nacional, responsável por aproximadamente 70 % da produção (CONAB, 2012b).

Nos estados produtores da região Nordeste, a produtividade média da mamoneira, na safra 2010/2011, foi de 621 Kg.ha⁻¹, enquanto nos estados do Sudeste, principalmente São Paulo e Minas Gerais, a produtividade média, nessa mesma safra foi de 932 Kg.ha⁻¹ (CONAB 2012b).

Inúmeros fatores são responsáveis pelas diferenças de produtividade nessas regiões, tais como fatores climáticos e nível tecnológico adotado. Além desses fatores a ocorrência de problemas fitossanitários pode muitas vezes inviabilizar economicamente o cultivo da mamoneira em determinadas épocas ou regiões.

Dentre os problemas fitossanitários da cultura da mamoneira destacam-se as doenças, principalmente a murcha-de-fusário. Esta doença foi relatada pela primeira vez, no Brasil, nos estados de São Paulo e Paraná, no ano de 1937 (ARRUDA; GONÇALVEZ, 1937). Atualmente, a murcha-de-fusário ocorre nos principais estados produtores, incluindo a Bahia (ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007). A murcha-de-fusário também é considerada uma das

principais doenças da mamoneira na Índia (DESAI; DANGE e PATHAK, 2001; ANJANI et al., 2003; DESAI et al., 2003; DESAI; DANGE, 2003), e tem ocasionado perdas de 39-77 % dependendo do estágio em que a planta é afetada (ANJANI, 2010).

O agente etiológico da murcha-de-fusário é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* (Wollenw.) W. L. Gordon. Este fungo sobrevive no solo e em restos de cultura e pode ser transmitido pela semente (ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007). Por ser considerada uma doença cujo patógeno pode sobreviver por vários anos no solo, não existem métodos químicos ou físicos eficazes para o controle da murcha-de-fusário (PATEL; PATHAK, 2010). Dessa forma, a única opção confiável de manejo da doença seria por meio do uso de variedades resistentes à doença (DESAI; DANGE e PATHAK, 2001). Entretanto, infelizmente, no Brasil, não se tem conhecimento sobre os níveis de resistência ao agente etiológico da murcha-de-fusário entre as cultivares hoje disponíveis no mercado (ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007), e os programas de melhoramento existente não possuem seleção assistida visando o desenvolvimento de genótipos resistentes (MILANI, MAIRA. Comunicação Pessoal, 2009; KHALIL, TAMMY. Comunicação Pessoal, 2011).

Devido à importância da murcha-de-fusário, principalmente nas regiões semiáridas, onde as condições climáticas e de solo favorecem o desenvolvimento da doença, e onde os produtores normalmente utilizam baixos níveis tecnológicos, fica evidente a necessidade de pesquisas visando à caracterização e seleção de genótipos de mamoneira com resistência a *F. oxysporum* f. sp. *ricini*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar genótipos disponíveis no banco de germoplasma de mamoneira da Embrapa Algodão quanto a sua resistência ao agente causal da murcha-de-fusário.

2.2. Objetivos Específicos

Validar um método de inoculação e avaliação de genótipos de mamoneira quanto a resistência à *F. oxysporum* f. sp. *ricini*.

Identificar pelo menos um genótipo com elevada resistência à *F. oxysporum* f. sp. *ricini*.

Caracterizar os níveis de resistência à *F. oxysporum* f. sp. *ricini* das cultivares de mamoneira lançadas pela Embrapa Algodão

3. REVISÃO DA LITERATURA

A mamoneira (*Ricinus comunis* L.) pertence à família Euphorbiaceae, é originária do leste e noroeste da África e Oriente Médio, e atualmente encontra-se naturalizada na grande maioria dos países localizados entre os trópicos (MABERLLEY, 2008).

Apesar de considerada, em algumas regiões ou situações, uma planta daninha, a mamoneira possui elevado valor comercial em virtude da ampla aplicação do óleo que é extraído de suas sementes (KOLTE, 1995; MABERLLEY, 2008).

O seu cultivo é praticado sob as mais variadas condições de clima, desde o nível do mar até altitudes de 1500 a 2000 metros, entretanto é intolerável a geada. A mamoneira usualmente necessita de um clima quente e seco para que seus frutos e sementes se desenvolvam adequadamente, por isso é considerada como uma das melhores opções de cultivos em climas semiáridos. Ela cresce bem em todos os tipos de solo, desde que bem drenados, isto porque a planta não tolera condições de encharcamento (KOLTE, 1995).

Atualmente Índia, China e Brasil são considerados, respectivamente os três maiores produtores desta oleaginosa no mundo, seguidos por Moçambique, Paraguai e Tailândia (SEVERINO et al., 2012).

No Brasil, a mamoneira é cultivada em vários Estados, entretanto a região Nordeste é considerada como sendo a principal região produtora. Historicamente, desde a década de 1970 o Estado da Bahia é o maior produtor de mamona do país, tendo em média 171,6 mil ha plantados, com uma produção de média de 93,3 mil toneladas, o que representa mais de 70% da área planta e mais de 60% da produção total do país (CONAB, 2012c). Entretanto a produtividade média dos Estados do Nordeste, incluindo a Bahia, é historicamente inferior a média nacional, principalmente quando comparada com a média histórica dos Estados de São Paulo e Minas Gerais. Nesses Estados a produtividade média é de 1340,5 kg.ha⁻¹ e 954,7 kg.ha⁻¹, respectivamente, enquanto no Nordeste a produtividade média é de 539,5 kg.ha⁻¹, na Bahia a média é de 547,7 kg.ha⁻¹ (CONAB, 2012c). Inúmeros

fatores são responsáveis pelas diferenças de produtividade nessas regiões, tais como fatores climáticos e nível tecnológico adotado (CONAB, 2012a). Adicionalmente, na grande maioria das regiões produtoras de mamoneira, principalmente no Nordeste do país, o seu cultivo é feito utilizando-se sementes dos próprios agricultores, o que resulta normalmente em alto nível de suscetibilidade à pragas e doenças, por usualmente não possuírem características de resistência (FREIRE et al., 2007).

Dentre os problemas fitossanitários da cultura da mamoneira destacam-se as doenças, principalmente o mofo-cinzeno, a podridão-negra-do-colo e a murcha-de-fusário (SEVERINO et al., 2012). Esta última foi constada, pela primeira vez, no Brasil nos estados de São Paulo e Paraná, no ano de 1937 (ARRUDA; GONÇALVEZ, 1937; ARRUDA, 1937). Ainda na década de 1930, em um levantamento da ocorrência dessa doença, nas principais regiões produtoras de mamoneira do país, foi verificado que a mesma já se encontrava amplamente disseminada, pelos estados de São Paulo, Minas Gerais, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte (ARRUDA; DESLANDES, 1940). Atualmente, a murcha-de-fusário ocorre em praticamente em todos os locais onde a mamoneira é cultivada, incluindo o Estado da Bahia (MASSOLA JR.; BEDENDO, 2005; ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007).

O agente causal da murcha-de-fusário é o fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *ricini* (Wollenw.) W. L. Gordon. Esse fungo pertence à ordem Hypocreales e é caracterizado por apresentar esporodóquios alaranjados, com macroconídios falcados a retos, usualmente com 3 septos, formados a partir de monofiálides, em conidióforos ramificados. Os microconídios usualmente são unicelulares, ovais, elípticos ou reniformes, e são formados abundantemente em falsas cabeças sobre monofiálides curtas (LESLIE; SUMMEREILL, 2006). A micrometria, bem como outros caracteres morfométricos e culturais podem variar em função do isolado; assim como a patogenicidade, podendo existir isolados altamente agressivos com abundante esporulação, até isolados menos agressivos com pouca esporulação (DESAI et al., 2003).

A mamoneira é suscetível a murcha-de-fusário durante todos os estágios do seu ciclo de vida, entretanto os sintomas são mais pronunciados durante o florescimento e formação dos racemos. Os sintomas da doença caracterizam-se de modo geral pelo amarelecimento e murcha precoce das plantas afetadas.

Em plantas jovens observa-se perda de turgidez e descoloração dos hipocótilos. Em plantas adultas, antes do florescimento, observa-se um amarelecimento, parcial ou total, seguido de murcha. Conforme o patógeno coloniza os tecidos vasculares é possível observar o escurecimento dos mesmos. O fungo penetra no sistema vascular das raízes, caule e folhas, causando a necrose e levando a murcha e posterior morte da planta. Caules infectados podem apresentar lesões negras, visíveis externamente, logo acima da região do colo, as quais posteriormente podem evoluir e causar o enegrecimento de ramos laterais. Em estágios mais avançados e sob condições favoráveis o fungo pode inclusive produzir esporodóquios, de coloração alaranjada a rosada externamente ao tecido afetado (MASSOLA Jr.; BEDENDO, 2005; DANGE; DESAI e PATEL, 2005; ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007).

Fusarium oxysporum f. sp. *ricini* sobrevive no solo, colonizando os restos de cultura, ou na forma inativa por meio de clamidósporos, e pode ser transmitido pela semente (MASSOLA Jr.; BEDENDO, 2005; DANGE; DESAI e PATEL, 2006; ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007). A semente possui um importante papel na disseminação do fungo para novas áreas, enquanto que a sua dispersão dentro de uma área de cultivo ocorre principalmente pelo movimento de partículas de solo, água da chuva ou irrigação e restos de cultura, quando da realização do preparo do solo (DANGE; DESAI e PATEL 2005; 2006; ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007).

Considera-se a temperatura ideal para infecção entre 13 e 15 °C, e para a expressão dos sintomas entre 22 e 25 °C (TIKHONOV; ANDREEVA, 1986), no entanto considerando a prevalência da doença nas condições do semiárido nordestino é provável que este patógeno possa se desenvolver numa faixa de temperatura mais ampla.

Por ser considerada uma doença sistêmica, cujo patógeno sobrevive no solo por vários anos e pode ser transmitido pela semente, o seu manejo por meio de métodos químicos ou físicos é extremamente difícil e economicamente inviável (DANGE; DESAI e PATEL, 2005; 2006; ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007; ANJANI, 2010; PATEL; PATHAK, 2010). Dessa forma, a única opção confiável de manejo da doença seria o uso de variedades resistentes à doença (DESAI et al., 2001; ARAÚJO; SUASSUNA e

COUTINHO, 2007; ANJANI, 2010; GOURI SHANKAR et al. 2010). Entretanto, no Brasil, infelizmente não se tem conhecimento sobre os níveis de resistência ao agente etiológico da murcha-de-fusário entre as cultivares hoje disponíveis no mercado (ARAÚJO; SUASSUNA e COUTINHO, 2007), e os programas de melhoramento existente não possuem seleção assistida visando o desenvolvimento de genótipos resistentes (MILANI, MAIRA. Comunicação Pessoal, 2009; KIIHL, TAMMY. Comunicação Pessoal, 2011; EICHOLZ, EBERSON. Comunicação Pessoal, 2012), diferentemente do que tem ocorrido na Índia (DESAI; DANGE e PATHAK, 2001; LAVANYA e RAOOF, 2006; ANJANI, 2010; GOURI SHANKAR et al., 2010; PATEL e PATHAK, 2011).

Devido ao monocultivo sucessivo os problemas ocasionados pela murcha-de-fusário têm aumentado gradativamente, por isso faz-se necessário a busca constante por novas fontes de resistência de forma a evitar o surgimento de patótipos capazes de suplantar esses genes de resistência (DANGE; DESAI e PATEL, 2006; ANJANI, 2010). A efetividade da incorporação de uma resistência em plantas hospedeiras, por meio de programas de melhoramento, depende em grande parte do desenvolvimento de um método eficaz para avaliação dos genótipos e identificação da fonte de resistência, e sua posterior incorporação em genótipos agronomicamente superiores para o desenvolvimento de híbridos ou cultivares resistentes (PATEL e PATHAK, 2011).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para determinação da patogenicidade de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *ricini* e a avaliação da resistência de genótipos de mamoneira, mas nenhum deles tem sido amplamente adotado. Os métodos de inoculação mais comumente usados envolvem o cultivo de plantas em solo estéril, seguido de sua remoção e imersão em uma suspensão de esporos do fungo (RAOOF e NAGESHWAR RAO, 1996; DESAI e DANGE, 2003) ou o cultivo de plantas no campo em parcelas naturalmente infestadas pelo fungo (ANJANI, 2010; GOURI SHANKAR et al. 2010; PATEL e PATHAK, 2011). Entretanto, ambos os métodos estão sujeitos a falhas, quer seja devido a variações na concentração do inóculo, ao tempo de exposição da planta à suspensão de inóculo, a agressividade do isolado utilizado, ou a variações do ambiente. Adicionalmente ambos os métodos envolvem trabalhos extensivos, e no caso do primeiro

existe ainda o fato de que o mesmo provoca severos danos à planta e não mimetiza o processo natural de infecção (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

Um método ideal deveria reproduzir o processo natural de infecção, sendo, portanto, mais realístico e conseqüentemente o índice de doença observado seria devido exclusivamente ao patógeno e não a outros estresses induzidos na planta devido ao processo de inoculação (BECERRA LOPEZ-LAVALLE et al., 2012).

Dessa forma, no presente estudo, procurou-se avaliar a eficácia do método de “chaff-grain” que consiste basicamente na produção do inóculo do fungo em um substrato sólido e incorporação desse inóculo ao substrato de cultivo das plantas (LESLIE e SUMMERELL, 2006), de forma que a infecção das plantas ocorra naturalmente, por meio do desenvolvimento do patógeno no substrato de cultivo artificialmente infestado - com um ou mais isolados do fungo em uma concentração previamente conhecida -; eliminando dessa forma os problemas da falta de uniformidade na concentração de inóculo, advindo de estudos de campo; ou do processo artificial de inoculação quando da utilização de métodos que preconizam o contato direto do patógeno com as plantas a serem avaliadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, de agosto de 2010 a junho de 2012.

4.1. Escolha dos genótipos

Os genótipos utilizados nos diferentes ensaios foram provenientes do Banco de Germoplasma de Mamoneira da Embrapa Algodão, com exceção dos genótipos com os códigos EBDA, que foram cedidos pela Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. Considerando os ensaios qualitativos e quantitativos, foram avaliados 27 genótipos, listados a seguir: BRS Energia, BRS Nordestina, BRS Paraguaçu, BRS Gabriela, IAC Guarani, IAC 2028, EBDA-MPB-01, EBDA-MPA-11, EBDA-MPA-34, CNPAM 2001-9, CNPAM 2001-16, CNPAM 2001-42, CNPAM 2001-48, CNPAM 2001-49, CNPAM 2001-50, CNPAM 2001-63, CNPAM 2001-70, BRA 3182, BRA 4987, BRA 5894, BRA 5908, BRA 6548, BRA 8745, BRA 2551, BRA 3271, BAG 2010-09 e BAG 2010-10.

4.2. Obtenção e preservação dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* (For)

Amostras de plantas com sintomas típicos da murcha-de-fusário foram coletadas em áreas experimentais e comerciais de cultivo de mamoneira tanto no estado da Paraíba quanto na Bahia. As amostras coletadas foram conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Algodão, para isolamento do patógeno. Inicialmente foi constatada a presença do patógeno, pelo exame de cortes histológicos do tecido vegetal, em microscópico. Foram realizados isolamentos, direto e indireto, em meio de cultura batata-cenoura-agar (BCA). Os isolados obtidos foram então repicados para os meios batata-dextrose-agar (BDA) e “synthetic nutrient agar” (SNA) de forma a permitir a

confirmação de sua identidade. Para a preservação, os isolados foram cultivados em meio (BDA) por cinco a sete dias. Decorrido este período três discos com crescimento do fungo foram transferidos assepticamente para frascos de penicilina contendo 5 mL de água destilada esterilizada e posteriormente lacrados e mantidos na Coleção de Culturas de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (CCMF-CNPA). Os isolados obtidos foram também liofilizados, conforme protocolo estabelecido pela ATCC (2001), com modificações. Para tal, os isolados foram cultivados em meio “synthetic nutrient agar” (SNA) por cinco dias. Decorrido este período adicionou-se, assepticamente, uma alíquota de leite desnatado (10%) e Ajinomoto (5%), previamente esterilizados, sobre as placas para o recolhimento dos esporos os quais foram transferidos para frascos de penicilina contendo 3 mL do mesmo substrato usado para o recolhimento dos esporos. Posteriormente os frascos foram congelados por 18 horas e em seguida submetidos à liofilização em Liofilizador Liotop L101 por 24 horas. Terminado o tempo de liofilização os frascos foram lacrados, identificados e mantidos na CCMF-CNPA.

4.3. Teste de patogenicidade

Para a confirmação da patogenicidade, os isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* obtidos foram cultivados em meio de cultura e utilizados para a preparação do inóculo, conforme descrito abaixo. Os testes de patogenicidade e agressividade foram conduzidos em casa de vegetação utilizando-se a cultivar BRS Energia. Para determinação da patogenicidade foi avaliada a capacidade do isolado em reproduzir os sintomas da doença nas plantas inoculadas. A agressividade foi avaliada por meio da atribuição de notas variando de 1 a 3, sendo 1- planta sem sintoma, 2- planta com clorose, paralisação do crescimento e/ou murcha e 3- planta morta (RAOOF e NAGESHWAR RAO, 1996). Para a determinação da agressividade de cada isolado foi calculado o percentual de plantas com notas 2 e 3 aos 15 dias após o transplante.

4.4. Preparo do Inóculo

Seguiu-se metodologia de “chaff-grain” adaptada de Leslie e Summerell (2006) onde foi preparada inicialmente uma mistura de 5:1 de farelo de trigo e grãos de aveia. Em um béquer de capacidade de 2 L foram adicionados aproximadamente 500 mL desta mistura e completado o volume para 1 L com água, mexendo-se vigorosamente para remover as bolhas de ar e permitir o umedecimento uniforme da mistura. Quando necessário o volume foi completado novamente para 1 L. Os beakers foram então mantidos por 12 horas em geladeira a 5 °C. Decorrido este período o excesso de água foi escorrido por decantação invertendo-se o becker sobre tecido permeável. Posteriormente a mistura foi prensada para eliminar o máximo de água possível. Essa mistura foi então transferida para erlenmeyers de 1 L, até o volume aproximado de 500 mL, e autoclavada por 15 minutos, por dois dias consecutivos. Após a segunda autoclavagem foram adicionados 4 mL de uma suspensão de esporos de cada um dos isolados obtidos conforme descrito a seguir. Para o preparo das suspensões de esporos os isolados de *For* foram cultivados em placas de Petri contendo o meio SNA e mantidos em câmara de crescimento a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Decorridos este período foram adicionados, as placas com as colônias de *For*, 10mL de água destilada esterilizada + Tween 20 (1%) e com o auxílio de uma alça de Drigalsky, foi realizada a remoção superficial dos esporos do fungo. A suspensão obtida foi filtrada em uma camada dupla de gaze esterilizada e a concentração inicial de esporos, para cada um dos isolados testados, foi determinada por meio da contagem em camara de Neubauer, e ajustada para a concentração final de 5×10^4 esporos.mL⁻¹. O substrato inoculado foi mantido em câmara de crescimento a 25 ± 2 °C, e agitado diariamente, até o quarto dia, para permitir uma colonização uniforme. Decorridos mais três dias o substrato, completamente colonizado, foi depositado sobre papel de filtro e deixado secar em temperatura ambiente durante a noite. Posteriormente, o substrato colonizado pelos isolados foi forçadamente peneirado em uma peneira de 07 "mesh" para melhor uniformização das partículas, e em seguida, acondicionado em sacos de papel e armazenado em geladeira até a realização dos ensaios.

4.5. Preparo do substrato de cultivo das plantas

O substrato para cultivo das plantas, para todos os ensaios, consistiu de uma mistura de 3:1 de turfa e vermiculita, a qual foi esterilizada em autoclave por 1 hora, por dois dias consecutivos. Após esterilização, o inóculo foi incorporado, na proporção de 2% do volume final do substrato de cultivo. O substrato de cultivo, artificialmente infestado foi utilizado para o enchimento de recipientes com capacidade para 770 mL. Recipientes contendo o substrato de cultivo sem incorporação do inóculo foram utilizados como testemunhas em todos os ensaios posteriores.

4.6. Semeadura dos genótipos

As sementes dos genótipos utilizados em todos os ensaios foram desinfestadas superficialmente pela imersão por 2 minutos em uma solução de Hipoclorito de Sódio a 1 %, e posteriormente lavadas em água corrente por mais 2 minutos. Após desinfestação as sementes foram semeadas individualmente em bandejas de plástico, contendo vermiculita esterilizada. Para a esterilização da vermiculita procedeu-se a autoclavagem da mesma por uma hora. Dois a três dias após a germinação as plântulas eram transplantadas para os recipientes contendo o substrato inoculado.

4.7. Reação de genótipos de mamoneira a *For*

4.7.1. Caracterização Qualitativa

Neste ensaio foram utilizados os genótipos: BRS Energia, BRS Nordeste, BRS Paraguaçu, BRS Gabriela, IAC Guarani, IAC 2028, CNPAM 2001-9, CNPAM 2001-16, CNPAM 2001-40, CNPAM 2001-48, CNPAM 2001-49, CNPAM 2001-50, CNPAM 2001-70, BRA 3182, BRA 4987, BRA 5894, BRA 5908, BRA 6548, BRA 8745, BRA 2551, BRA 3271, BAG 2010-09, BAG 2010-10. Vinte sementes de cada um dos genótipos foram desinfestadas superficialmente e semeadas em vermiculita autoclavada conforme descrito acima. Dois a três dias após a germinação as plântulas foram transplantadas para os recipientes contendo o substrato de cultivo artificialmente infestado,

conforme especificado anteriormente. Neste ensaio utilizou-se uma mistura, proporcional de inóculo composta pelos isolados CCMF-CNPA 158, 159, 161 e 169, escolhidos mediante os resultados do teste de patogenicidade e por serem provenientes de locais e de genótipos distintos (Tabela 1).

O ensaio foi conduzido na casa de vegetação n^o. 2 do CNPA, com seis repetições por tratamento (genótipo), sendo uma planta uma repetição. Como testemunhas foram utilizadas quatro plantas não inoculadas. As avaliações consistiram da atribuição de notas de severidade da doença, utilizando-se uma escala descritivo-diagramática com cinco notas, variando de 0 a 4, onde 0 corresponde à planta sem sintoma e 4 corresponde à planta morta, adaptada de Machado et al. (2009) com modificações (Figura 2). As notas de severidade da doença foram atribuídas a cada dois dias a partir do quarto dia após o transplante, até o trigésimo dia. Os valores das notas atribuídas a cada planta foram utilizados para calcular o Índice de Intensidade de Infecção (I), expresso como $I = \text{sen} 2\omega$, para cada distribuição de frequência obtida na parcela (AMARAL, 1969), com as modificações propostas por Czermainski (1999). Ao final do período de avaliação, os genótipos foram arbitrariamente classificados em altamente resistentes ($I < 10$), moderadamente resistentes ($\geq 10 \text{ I} < 25$), moderadamente suscetíveis ($\geq 25 \text{ I} < 60$) e altamente suscetíveis ($I \geq 60$), com base apenas nos valores de I obtidos a partir da última avaliação.

4.7.2. Caracterização Quantitativa

Nesse ensaio utilizou-se a mesma metodologia de preparo do inóculo, cultivo das plantas e avaliação da doença, descritas anteriormente. Foram avaliadas 8 cultivares e 5 linhagens avançadas, totalizando 13 tratamentos

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 4 repetições, sendo 10 plantas uma repetição. Como testemunhas foram utilizadas plantas cultivadas em substrato não infestado. As avaliações foram realizadas conforme descrito no ensaio anterior. Os dados diários da variável ω , calculada a partir da transformação angular $\omega = \text{arcsen} \sqrt{I}$, foram usados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL e MADDEN, 1990). A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o

programa SISVAR, os dados da AACPD foram utilizados para comparação de médias por meio do teste de Scott-Knott.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção e preservação dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* (*For*)

A partir de plantas sintomáticas, foram inicialmente obtidos 19 isolados de *Fusarium* spp. Destes, 18 apresentaram morfologia compatível com *For* e estão sendo preservados na Coleção de Cultura de Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (Tabela 1). Um dos isolados apresentou morfologia que não foi compatível, com *For*, mas mesmo assim foi utilizado nos testes de patogenicidade. Adicionalmente, três apresentaram contaminação bacteriana e não foram utilizados nos ensaios subsequentes. Ao todo foram avaliados 15 isolados distintos de *For*, quanto a sua patogenicidade e agressividade a mamoneira.

Tabela 1. Relação dos isolados obtidos e preservados na Coleção de Cultura Microrganismos Fitopatogênicos da Embrapa Algodão (CCMF-CNPA).

Nº de Registro	Local de origem	Material de Origem	Data	Método de Isolamento	Método de Preservação
CCMF-CNPA 156	Sede do CNPA/PB	BRA 5819	13/10/09	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 157	Sede do CNPA/PB	BRA 4987	13/10/09	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 158	Sede do CNPA/PB	BRS Nordestina	13/10/09	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 159	Irecê/BA	CNPAM 2000-78	26/07/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 419	Irecê/BA	BRS Paraguaçu	21/07/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 160	Irecê/BA	Descendente BRS Energia	21/07/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 161	Irecê/BA	Descendente BRS Energia	23/07/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 162	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	09/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 163	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	16/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 164	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	16/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 165	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	16/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 166	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	16/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 167	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	16/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 168	Central/BA	NI*	17/08/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 169	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	20/08/10	Direto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 420	Sede do CNPA/PB	CNPAM 2000-72	04/08/10	Indireto	Castellani
CCMF-CNPA 170	Sede do CNPA/PB	NI*	15/10/10	Indireto	Castellani e liofilizado
CCMF-CNPA 421	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	06/10/10	Indireto	Castellani
CCMF-CNPA 422	Sede do CNPA/PB	Descendente BRS Energia	06/10/10	Indireto	Castellani

* NI = genótipo não identificado

5.2. Testes de patogenicidade

Todos os isolados testados foram patogênicos a cultivar BRS Energia, com exceção do isolado CCMF-CNPA 168. Foi possível observar todos os sintomas típicos da doença, como amarelecimento das folhas cotiledonares e verdadeiras, paralisação do crescimento, seguido de murcha e morte das plântulas (Figura 1). Para todos os isolados patogênicos foi possível observar os sintomas descritos a partir do sétimo dia após o transplante.

Houve variação quanto à agressividade entre os isolados testados (Tabela 2). O isolado CCMF-CNPA 169, foi considerado o mais agressivo, pois resultou em 100 % de plantas mortas, seguido pelos isolados CCMF-CNPA 158, 164 e 167 que apresentaram 100% de plantas com sintomas, sendo 91,67% de plantas mortas. Os isolados CCMF-CNPA 157 e 159 também foram considerados bastante agressivos, pois resultaram em 83,33% de plantas mortas. Os demais isolados apresentaram menores percentuais de plantas mortas e/ou com sintomas e foram considerados menos agressivos. O isolado CCMF-CNPA 168, não apresentou sintomas nas plantas inoculadas durante o período de avaliação de 15 dias, embora sintomas de clorose tenham sido observados em algumas plantas, decorridos 30 dias da inoculação. Adicionalmente esse isolado não apresentou as características típicas de *Fusarium oxysporum*, dessa forma conclui-se que o mesmo não era patogênico a mamoneira por não se tratar de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*.

Variações quanto à patogenicidade e agressividade de diferentes isolados de um mesmo patógeno, são bastante frequentes. No caso de *For*, em um estudo anterior, DESAI et al. (2003) observam comportamento semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho, com isolados sendo capazes de causar 100 % de incidência de murcha nas plantas inoculadas enquanto outros não. De acordo com esses mesmos autores a ausência de variabilidade tornaria mais difícil a avaliação de cultivares com resistência a murcha-de-fusário, uma vez que certos tipos de mecanismos de resistência do hospedeiro podem não ser efetivos contra isolados muito agressivos, embora esses mecanismos o sejam para a maioria dos isolados do patógeno DESAI et al. (2003).

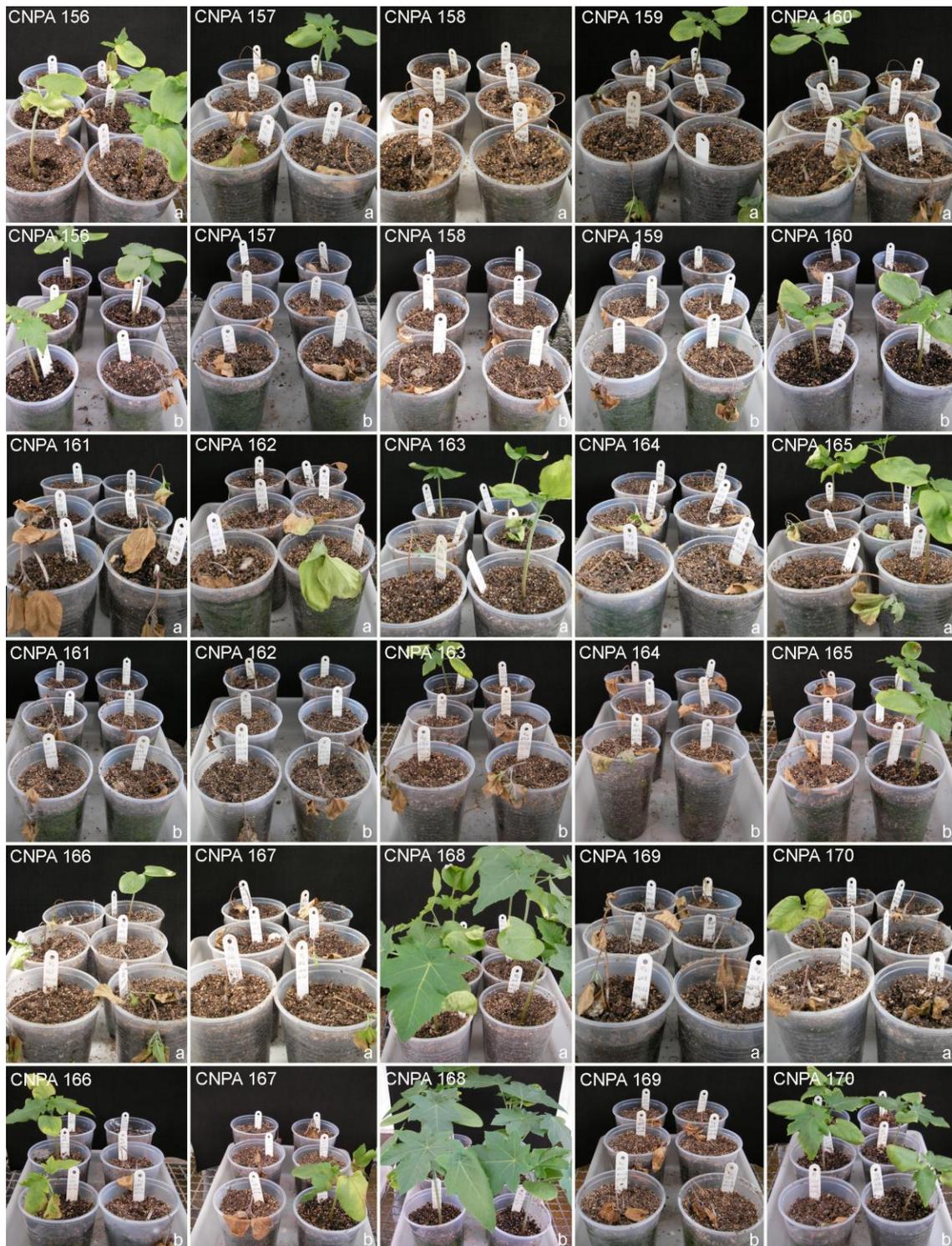


Fig. 1. Resultado dos testes de patogenicidade e agressividade de 15 isolados de *For* utilizando-se a cultivar BRS Energia. As letras “a” e “b”, inseridas no canto inferior direito das figuras, referem-se ao primeiro e segundo ensaio, respectivamente.

Tabela 2. Agressividade de 15 isolados de *For* à cultivar BRS Energia.

Isolado	Percentual de plantas com clorose, paralisação do crescimento e/ou murcha	Percentual de plantas mortas	Percentual total de plantas com sintomas
CCMF-CNPA 156	50,00	33,33	83,33
CCMF-CNPA 157	0,00	83,33	83,33
CCMF-CNPA 158*	8,33	91,67	100
CCMF-CNPA 159	8,33	83,33	91,67
CCMF-CNPA 160	25,00	66,67	91,67
CCMF-CNPA 161	0,00	91,67	91,67
CCMF-CNPA 162	25,00	66,67	91,67
CCMF-CNPA 163	8,33	58,33	66,67
CCMF-CNPA 164	8,33	91,67	100
CCMF-CNPA 165	16,67	33,33	50
CCMF-CNPA 166	33,33	58,33	91,67
CCMF-CNPA 167	8,33	91,67	100
CCMF-CNPA 168	0,00	0,00	0
CCMF-CNPA 169	0,00	100,00	100
CCMF-CNPA 170	50,00	50,00	100

* Os isolados em negrito foram utilizados nos ensaios subsequentes por serem considerados os mais agressivos e possuírem origem distinta (vide Tabela 1 para detalhes da origem).

Com base nos testes de patogenicidade e agressividade percebeu-se que a escala de Machado et al. (2009) necessitava de alguns ajustes para melhor representação dos estágios de desenvolvimento da murcha-de-fusário da mamoneira, dessa forma foi elaborada uma escala descritivo-diagramática (Fig. 2) para melhor padronização da atribuição das notas da escala, de forma a reduzir a subjetividade entre diferentes ensaios e diferentes avaliadores.

5.3. Reação de genótipos de mamoneira a *For*

5.3.1. Caracterização Qualitativa

Neste ensaio foram ao todo avaliados 23 genótipos, incluindo cultivares, linhagens avançadas, e outros genótipos do Banco de Germoplasma da Embrapa Algodão.

Foi possível observar que existem diferenças quanto a suscetibilidade dos diferentes genótipos em relação à infecção por *F. oxysporum* f. sp. *ricini* (Figura 3).

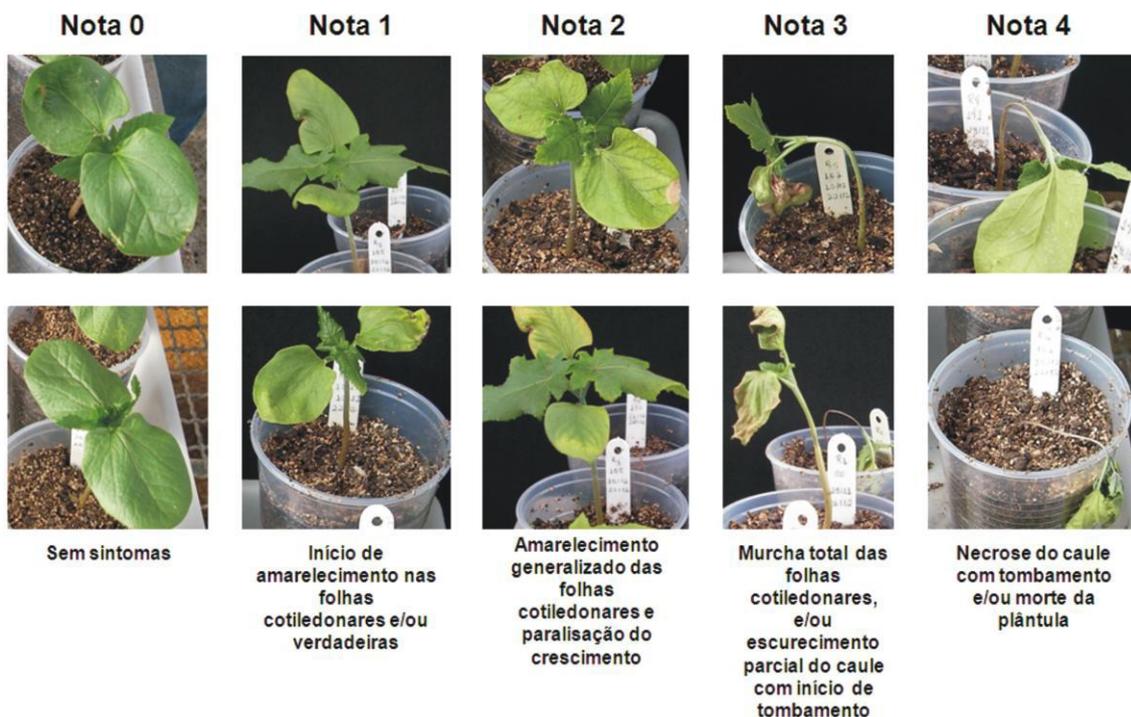


Fig. 2. Escala de notas para avaliação da reação de genótipos de mamoneira quanto à resistência *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*, adaptada de Machado et al. (2009), com modificações.

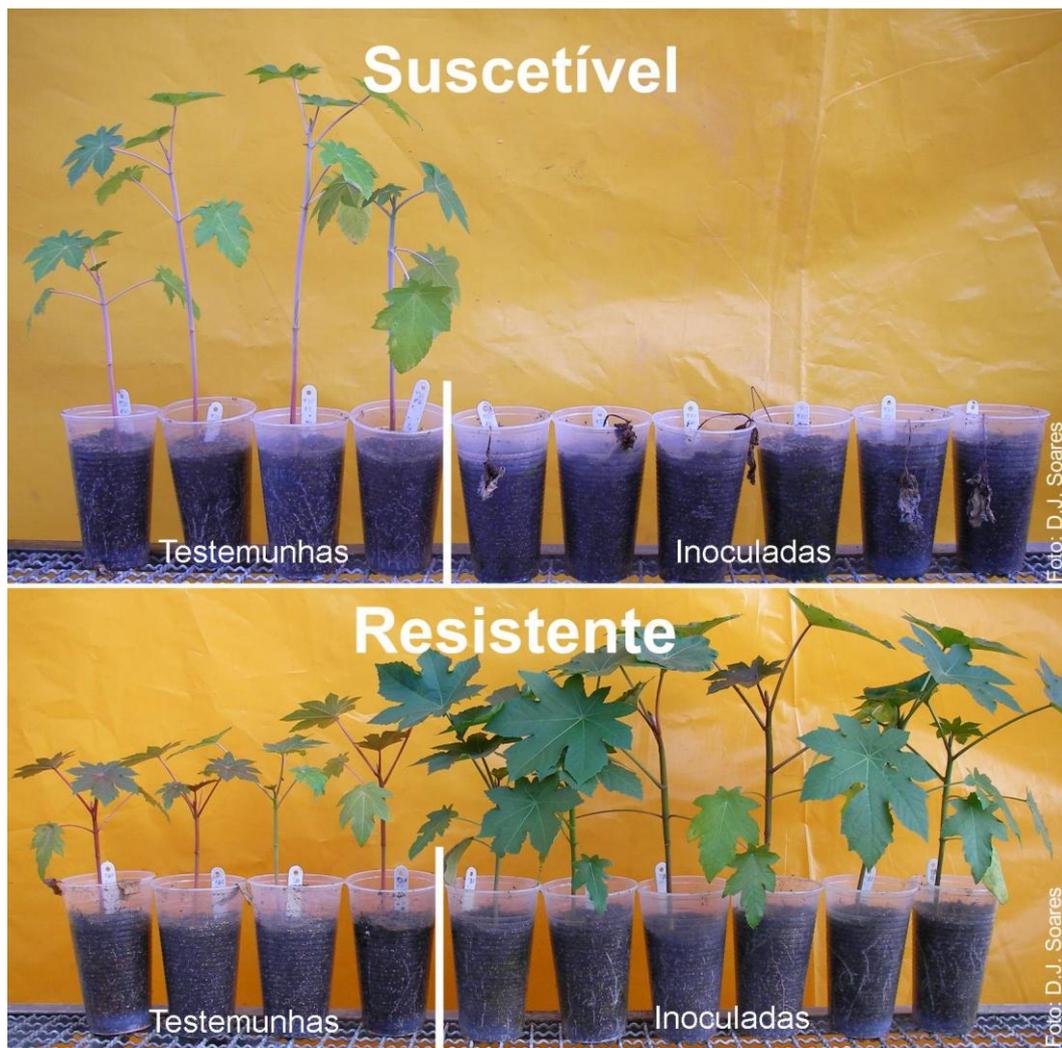


Fig. 3. Reação diferencial de genótipos de mamoneira quanto a suscetibilidade a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* por meio do cultivo de plantas em substrato artificialmente infestado, por um mistura proporcional de quatro isolados distintos do patógeno.

A maioria dos genótipos testados foi considerada altamente suscetível ao patógeno. A cultivar IAC 2028 foi considerada moderadamente suscetível, enquanto a cultivar IAC Guarani foi considerada moderadamente resistente. Apenas o genótipo BRA 3182 foi considerado altamente resistente (Tabela 3).

Os resultados da caracterização qualitativa de genótipos de mamoneira, obtidos neste estudo, comprovam que existe variabilidade para a resistência da mamoneira a *For*. Embora a grande maioria, dos genótipos testados, tenha sido considerada suscetível ao patógeno, foi possível identificar um genótipo com elevada resistência a *For*, de forma que o mesmo poderá vir a ser usado

em cruzamentos futuros visando à incorporação dessa resistência em linhagens avançadas ou outros genótipos que possuam características agrônômicas desejáveis.

Tabela 3. Relação dos genótipos avaliados quanto a sua resistência a *For*.

Genótipos	Valor de I aos 30 dias após transplante	Categoria*
BRS Energia	99,65 (4)**	AS
BRS Nordestina	94,40 (2)	AS
BRS Paraguáçu	76,80 (1)	AS
BRS Gabriela	90,30 (4)	AS
IAC Guarani	23,96 (3)	MR
IAC 2028	51,80 (1)	MS
BAG 2010-9	90,00 (2)	AS
BAG 2010-10	100,00 (1)	AS
CNPAM 2001-9	85,20 (2)	AS
CNPAM 2001-16	67,95 (2)	AS
CNPAM 2001-48	94,40 (2)	AS
CNPAM 2001-49	94,10 (4)	AS
CNPAM 2001-50	100,00 (2)	AS
CNPAM 2001-70	96,10 (2)	AS
CNPAM 2009-7	82,50 (4)	AS
BRA 6548	93,90 (2)	AS
BRA 4987	100,00 (2)	AS
BRA 8745	100,00 (2)	AS
BRA 2551	74,30 (1)	AS
BRA 3182	0,00 (2)	AR
BRA 3271	100,00 (1)	AS
BRA 5894	73,30 (1)	AS
BRA 5908	98,60 (1)	AS

* Para detalhes sobre as categorias, vide texto. ** Valores entre parênteses refere-se ao número de ensaios realizados com o respectivo genótipo.

Apesar disso é necessária a realização de estudos mais abrangentes utilizando-se isolados provenientes de outras regiões do país onde a mamoneira é cultivada, pois se sabe que podem existir sub-populações do patógeno adaptadas a diferentes condições climáticas ou capazes de suplantar determinados genes de resistência das plantas hospedeiras. Esse fenômeno é

particularmente mais frequente quando do monocultivo sucessivo devido às pressões de seleção exercidas sobre a população do patógeno (AGRIOS, 2005). Tal situação tem sido observada na Índia (DANGE; DESAI e PATEL, 2006; ANJANI, 2010) e também no Brasil, na região de Irecê, no Estado da Bahia (LEVIN, KOBI, Comunicação Pessoal, 2012).

5.3.2. Caracterização Quantitativa

Neste ensaio foram avaliados 13 genótipos, sendo 7 cultivares e 6 linhagens avançadas. Como pode ser observado na Tabela 4, com base nos valores de AACPD, foi possível definir 4 grupos distintos entre os genótipos avaliados. Entretanto, por se tratar de uma doença sistêmica, para a qual não existem métodos curativos, na prática, todos os genótipos avaliados podem ser considerados como suscetíveis ao patógeno.

A identificação de linhagens resistentes/tolerantes é um dos pré-requisitos básicos para o uso da resistência genética como estratégia de manejo. A resistência a patógenos vasculares geralmente envolve fatores constitutivos e pré-invasivos, que atuam como barreira impedindo a entrada do fungo e ou retardando seu desenvolvimento (PASCHOLLATI e LEITE, 2005). Esse comportamento pode ser observado em alguns dos genótipos testados onde se observa um início mais lento do desenvolvimento da doença. Ao se observar a Figura 4, pode-se notar dois grupos distintos. Um formado pelas linhagens CNPAM 2001-9, CNPAM 2001-48, CNPAM 2001-49, CNPAM 2001-50, CNPAM 2001-63 e as cultivares BRS Energia e BRS Gabriela, cujas curvas de progresso da doença apresentaram um crescimento exponencial desde o início do processo de avaliação; e outro formado pelas linhagens CNPAM 2001-16 e as cultivares EDDBA-MPB 11, EBDA-MPB 34, EBDA-MPA 01, BRS Nordestina e BRS Paraguaçu, cujas curvas de progresso da doença apresentaram um início mais lento, com posterior avanço de forma exponencial. Tal comportamento pode em parte ser devido a algum tipo de resistência pré-invasiva, que dificulta a penetração ou retarda o início do processo de colonização dos vasos condutores pelo patógeno, entretanto, uma vez rompida essa barreira inicial o patógeno é capaz de colonizar o sistema vascular de forma mais rápida.

Tabela 4. Valores de área abaixo da curva de progresso da murcha-de-fusário de 13 genótipos de mamoneira cultivados em substrato infestado com uma mistura proporcional de quatro isolados distintos de *For*.

Genótipos	AACPD*
BRS Energia	1243,40 a
CNPAM 2001-9	1072,17 b
CNPAM 2001-48	1054,24 b
BRS Gabriela	1026,28 b
CNPAM 2001-50	1012,50 b
CNPAM 2001-49	986,41 b
CNPAM 2001-63	933,10 b
EBDA-MPB-01	774,21 c
BRS Nordestina	659,96 c
BRS Paraguaçu	630,53 c
EBDA-MPA-11	521,53 d
CNPAM 2001-16	487,62 d
EBDA-MPA-34	398,73 d
Média Geral	830,59
C.V.	15,12
P	0,00001

* Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não se diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (NMS=0,05).

Dentre as medidas preconizadas para o manejo da murcha-de-fusário está o uso de cultivares resistentes, associadas a práticas agrícolas que visem reduzir a densidade de inóculo na área de cultivo ou retardar o desenvolvimento da doença, como por exemplo, a remoção dos restos de cultura e o tratamento das sementes com fungicidas, além é claro de medidas que visem impedir a introdução do patógeno em novas áreas, como o uso de sementes sadias (DANGE; DESAI e PATEL, 2005; 2006; MASSOLA JR e BEDENDO, 2005). Alternativamente, estudos têm sido conduzidos visando verificar a viabilidade do tratamento de sementes com *Trichoderma* (DANGE; DESAI, PATEL, 2006) e o uso da solarização para eliminar ou reduzir o inóculo

inicial do fungo (DESAI; DANGE, 2003). Esta última prática, no entanto, mostra-se pouco viável para grandes áreas de cultivo.

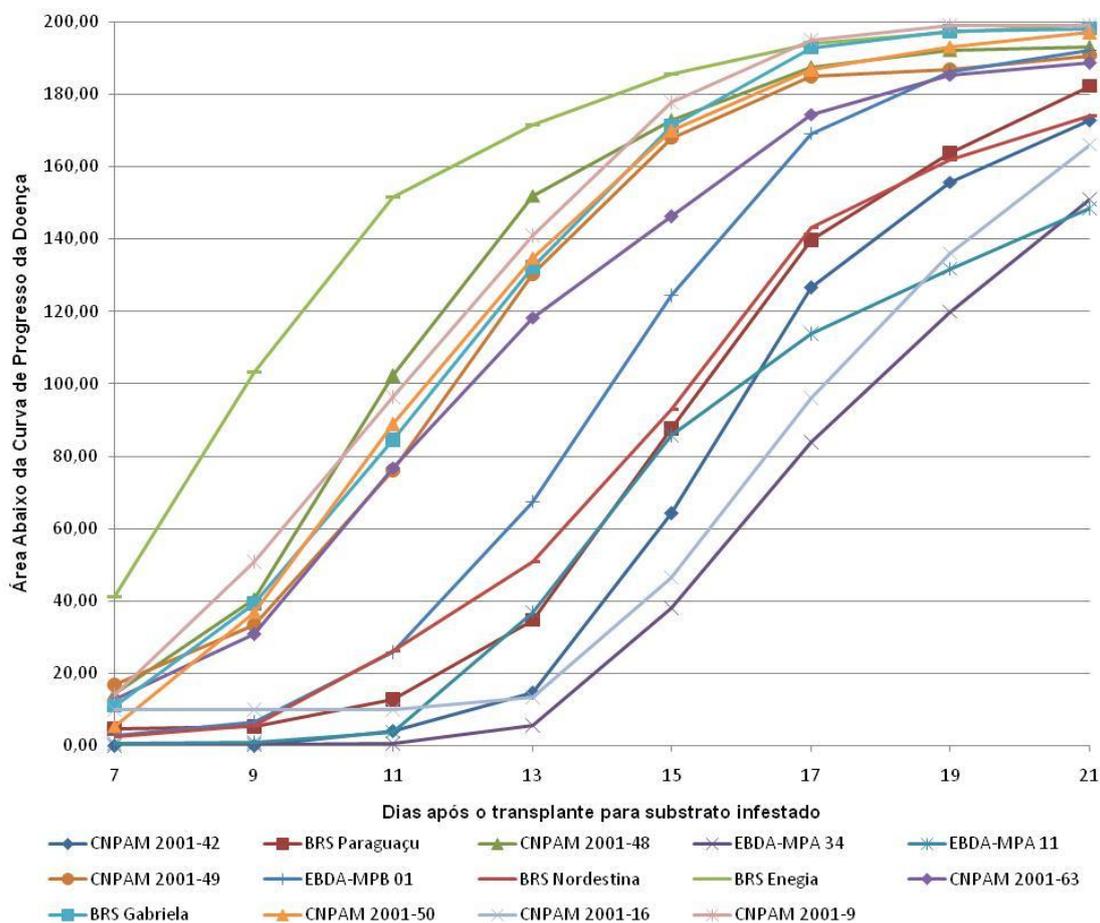


Figura 4. Progresso da murcha-de-fusário em 13 genótipos de mamoneira cultivados em substrato artificialmente infestado com uma mistura proporcional de quatro isolados distintos de *For*.

Dessa forma, com base nos resultados aqui obtidos e conhecendo-se o histórico da área de cultivo seria possível recomendar uma ou outra cultivar de mamoneira de modo que os danos causados pela murcha-de-fusário fossem mitigados.

Essa estratégia do uso de cultivares com maiores níveis de resistência associado a práticas agrícolas que reduzam a população do patógeno é particularmente vantajosa para os pequenos agricultores, que podem também optar pelo plantio consorciado de duas ou mais espécies como é mais

recomendado da região do nordeste do Brasil, melhorando a eficiência de uso da terra e reduzindo os riscos de perda total de produção (BELTRÃO et al., 2006; SAVY FILHO, 2005).

6. CONCLUSÕES

Existe variabilidade entre isolados do patógeno quanto a sua agressividade a mamoneira.

Existe variabilidade entre os genótipos de mamoneira em relação a resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini*.

A metodologia de inoculação e avaliação da resistência utilizada no presente estudo permitiu a avaliação simultânea de grande número de genótipos, foi facilmente reproduzível, apresentou robustez suficiente de forma a permitir a diferenciação qualitativa e quantitativa de genótipos de mamoneira quanto a resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* e foi pouco onerosa.

O uso da escala descritivo-diagramática, elaborada no presente estudo, permitiu maior confiabilidade na atribuição das notas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

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

ANJANI, K. Fusarium wilt resistant castor (*Ricinus communis L.*). **India Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 64, n.2, p. 175-179, 2004.

ANJANI, K. Pattern of genetic diversity among *Fusarium* wilt resistant castor germplasm accessions (*Ricinus communis L.*). **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 1, n.2, p. 182-187, 2010.

ANJANI, K. Castor genetic resources: a primary gene pool for exploitation. **India Industrial Crops and Products**, v. 35, p. 1– 14, 2012.

ANJANI, K. Purple-coloured castor (*Ricinus communis L.*) – A rare multiple resistant morphotype. **Current Science**, v. 88, n.2, p. 215-216, 2005.

ANJANI, K.; RAOOF, M. A.; REDDY, A. V.; RAO, C. H. Sources of resistance to major castor (*Ricinus communis L.*) diseases. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v. 137, p.46-48, 2003.

ARAÚJO, A. E.; SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. **Doenças e seu manejo**. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Eds). O Agronegócio da Mamona no Brasil. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2a ed. rev. & ampl. 2007, p.283-303.

ARRUDA, S. C. A patogenicidade de *Fusarium* agente da murcha da mamona. **O Biológico**, v. 3, p. 390-392, 1937.

ARRUDA, S. C.; DESLANDES, J. A murcha de mamoneira do nordeste. **O Biológico**, v.6, p.144-148, 1940.

ARRUDA, S. C.; GONÇALVES, R. D. A "murcha" uma nova doença da mamona em S. Paulo. **O Biológico**, v.3, p.232-235, 1937.

ATCC. **Preservation and recovery of filamentous fungi**. (Technical Bulletin nº 2), 2001, 4 p.

BATISTA, F. A. S.; LIMA, E. F.; SOARES, J. J.; AZEVEDO, D. M. P. **Doenças e pragas da mamoneira (*Ricinus communis* L.) e seu controle**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1996. 56 p. (Embrapa Algodão Comunicado Técnico, 21).

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

BELTRÃO, N. E. M.; VALE, L. S.; ARAÚJO FILHO. J. O. T.; COSTA, S. G. **Consórcio Mamona + Amendoim: Opção para a Agricultura Familiar**. Campina Grande : Embrapa Algodão, 2006. 10 p. (Embrapa Algodão Comunicado Técnico, 104).

BELTRÃO, N. E. M.; BRANDÃO Z. N.; AMORIN NETO M. S.; AMARAL J. A. B.; ARAÚJO A. E. **Clima e solo**. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Eds). *O Agronegócio da Mamona no Brasil*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2a ed. rev. & ampl, 2007. p. 75- 90

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York City: John Wiley & Sons, 1990.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2011/2012 - Oitavo Levantamento** - Maio de 2012. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_05_10_08_49_52_bol_etim_maio_2012.pdf. Acessado em: 27 de junho de 2012a.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2011/12 – Nono Levantamento** – Junho 2012. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_06_12_16_15_32_bol_etim_portugues_junho_2012.pdf. Acessado em: 27 de junho de 2012b.

CONAB. **Série Histórica da Mamona no Brasil**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conteudo.phpa?=1252&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos. Acessado em: 27 de junho de 2012c.

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

DANGE, S. R. S.; DESAI, A. G.; PATEL, S. I. Diseases of Castor. In: Saharan, G.S.; Mehta, N. & Sangwan, M.S. (Eds.) Diseases of oilseed crops. Indus Publishing co. N. Delhi, cap. 8, p.211-240. 2005.

DANGE, S. R. S.; DESAI, A. G.; PATEL, S. I. Wilt of castor and its management: a review. **Agricultural Review**, v. 27 (2), p.147 - 151, 2006.

DESAI, A. G.; DANGE, S. R. S. Effect of soil solarization on *Fusarium* wilt of castor. **Agricultural Science Digest**, v. 23, n. 1, p. 20-22, 2003.

DESAI, A. G.; DANGE, S. R. S. Standardization of root dip inoculation technique for screening resistance to wilt of castor. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v.33, n.1, p.73-75, 2003.

DESAI, A. G.; DANGE, S. R. S.; PATEL, D. S.; PATEL, D. B. Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* causing wilt of castor. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v.33, n.1, p.37-41, 2003.

DESAI, A. G.; DANGE, S. R. S.; PATHAK, H. C. Genetics of resistance to wilt in castor caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* Nanda and Prasad. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v.31, n.3, p.322-326, 2001.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P.; MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. M. **Melhoramento Genético**. O Agronegócio da Mamona no Brasil. Brasília. : Embrapa Informação Tecnológica, 2a ed. rev. & ampl. 2007, p.171-190.

GOURI SHANKAR, V.; RAO, P. V. R.; REDDY, A. V. Inheritance of certain morphological characters and *Fusarium wilt* resistance in castor, *Ricinus communis* L. **SABRAO Journal of Breeding and Genetics**, v. 42, n.2, p. 56–63, 2010.

KOLTE, S. J. **Castor diseases and crop improvement**. Delhi: Shipra Publications, 1995, p. 119.

LAVANYA, C.; RAOOF, M.A. Development of male lines resistant to *Fusarium* wilt in castor (*Ricinus communis* L.). In: SECOND NATIONAL PLANT BREEDING CONGRESS: Plant Breeding in Post Genomics Era, 2006, Coimbatore. **Proceedings...** Coimbatore: India, 1-3 March, 2006, pp.238-243.

LAVANYA, C.; RAOOF, M.A.; P.RASAD, M. S. L. Genetics of resistance to *Fusarium* wilt in castor caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* Nanda and Prasad. India, Directorate of Oilseeds Research, **Indian Phytopath**, v. 64 (2), 2011.

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

MABBERLEY, D.J. **Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants their classifications and uses**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. p.1019.

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

MASSOLA JR, N.S. BEDENDO, I.P. Doenças da mamoneira (*Ricinus communis* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. v.2. 4ª Ed. São Paulo: Ceres, 2005, p. 445-447.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 2005, p. 417-452.

PATEL, P. B.; PATHAK, H. C. Genetics of yield, wilt resistance, and biochemical traits in castor (*Ricinus communis* L.). **Green Farming**, v.1, n.1, p. 1-5, 2010.

PATEL, P.B.; PATHAK, H.C. Genetics of resistance to wilt in castor caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ricini* Nanda and Prasad. **Agricultural Research Communication Centre**, India, v. 31, p. 30 – 34, 2011.

RAOOF, M. A.; RAO, T. G. N. A simple screening technique for early detection of resistance to castor wilt. **Indian Phytopath**, v. 49 (4), p. 389-392, 1996.

SANTOS, R. F.; KOURI, J.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIÃO, L. E. G. **Aspectos econômicos do agronegócio da mamona**. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Eds). O Agronegócio da Mamona no Brasil. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2ª ed. rev. & ampl, 2007, p. 23-4.

SAVY FILHO, A. **Mamona: Tecnologia Agrícola**. Campinas: Emopi, 2005.

SEVERINO, L. S.; AULD, D. L.; BALDANZI, M.; CÂNDIDO, M. J. D.; CHEN, G.; CROSBY, W.; TAN, D.; XIAOHUA, H.; LAKSHMAMMA, P.; LAVANYA, C.; MACHADO, O. L. T.; MIELKE, T.; MILANI, M.; MILLER, T. D.; MORRIS, J. B.; MORSE, S. A.; NAVAS, A. A.; SOARES, D. J.; SOFIATTI, V.; WANG, M. L.; ZANOTTO, M. D.; ZIEler, a. A review on the challenges for increased production of castor. **Agronomy Journal**, v. 104, 2012.

SINGH, M.; CHAUDHURI, I.; , MANDAL, SK.; CHAUDHURI, RK. Development of RAPD Markers linked to Fusarium Wilt Resistance Gene in Castor Bean (*Ricinus communis L*). **Genetic Engineering and Biotechnology Journal**, 2011.

SVIRIDOV, A. A. Genetics and breeding of castor. In: Moshkin, V.A. **Castor**. New Delhi: Amerind Publising, p. 157-163, 1986.

TIKHONOV, O. I.; ANDREEVA, L. T. Diseases and pests of castor and their control. In: Moshkin, V.A. **Castor**. New Delhi: Amerind Publising, p. 280-286, 1986.