

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**MANCHA DE RAMULARIA DO ALGODOEIRO: AGENTE
ETIOLÓGICO, PRODUÇÃO DE INÓCULO, RESISTÊNCIA DE
GENÓTIPOS E CONTROLE INTEGRADO**

JULIANO CESAR DA SILVA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

JUNHO - 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**MANCHA DE RAMULARIA DO ALGODOEIRO: AGENTE
ETIOLÓGICO, PRODUÇÃO DE INÓCULO, RESISTÊNCIA DE
GENÓTIPOS E CONTROLE INTEGRADO**

JULIANO CESAR DA SILVA

Orientador: Dr. Wagner Bettiol

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

JUNHO – 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO- BOTUCATU (SP)

Silva, Juliano Cesar da, 1977-
S586m Mancha de ramularia do algodoeiro: agente etiológico, produção de inóculo, resistência de genótipos e controle integrado / Juliano Cesar da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2014
45 f.: ils. color., grafs., tabs.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2014
Orientador: Wagner Bettiol
Inclui bibliografia
1. Algodão - Cultivo. 2. Pragas agrícolas - Controle integrado. 3. Algodão - Resistência a doenças e pragas - Aspectos genéticos. I. Bettiol, Wagner. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu. III. Título.

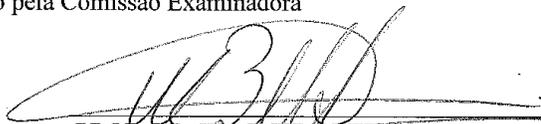
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MANCHA DE RAMULARIA DO ALGODOEIRO: AGENTE ETIOLÓGICO,
PRODUÇÃO DE INÓCULO, RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS E CONTROLE
INTEGRADO

ALUNO: JULIANO CESAR DA SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. WAGNER BETTIOL

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. WAGNER BETTIOL



PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO



PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI



PROF. DR. MARCELO AUGUSTO BOECHAT MORANDI



PROF. DR. DANIEL LAGE

Data da Realização: 23 de junho de 2014

Aos meus pais Francisco e Maria Antonia, pelo amor incondicional, pelos valores, por fazerem parte dos momentos alegres e pelo apoio nos momentos de superação.

À minha irmã Veridiana, ao meu irmão Francisco Donizete e aos meus sobrinhos Brenda Carolina, Emerson Roberto, Isabella Cristina, Ana Beatriz e Arthur pelos momentos de alegria.

À Zayame Vegette Pinto, pela paciência, carinho e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus causa suprema de todas as coisas.

Ao professor Dr. Wagner Bettiol, pela orientação, compreensão e amizade.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Campus de Botucatu, onde realizei o curso de Doutorado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Meio Ambiente, pela oportunidade e apoio concedidos para meu aperfeiçoamento profissional.

Aos professores e funcionários do Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, pelos conhecimentos adquiridos e pela amizade.

Aos professores Sylvia Dias Guzzo e Ricardo Harakava do Programa de Pós Graduação do Instituto Biológico (IB), pelos ensinamentos e conhecimentos adquiridos.

Ao Dr. Edivaldo Cia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pelo envio de sementes de algodão e valorosas contribuições.

Ao Dr. Yeshwant Mehta do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) e ao Dr. Rafael Galbieri do Instituto Matogrossense do Algodão (IMA), pelo envio dos isolados de *Ramularia areola* e pelas valorosas contribuições.

Ao Dr. Nelson Suassuna da Embrapa Algodão, pelo envio de sementes, sugestões que foram determinantes para a execução dos ensaios a campo e pela contribuição na análise dos dados.

Às empresas SLC Agrícola S.A e Vanguarda do Brasil, por cederem às áreas e por todo apoio técnico para que fossem realizados os ensaios a campo.

Aos colaboradores da Bayer CropScience: Rafael Ribeiro da Silva, Gleydson Borges, João Porto e Robson Jayme, pela contribuição durante a condução dos ensaios a campo.

Aos meus avós Benedito, Joana (*in memorian*), José e Benvinda (*in memorian*), pelo exemplo de vida e de dignidade.

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

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	VI
SUMMARY.....	VIII
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 - Mancha de ramularia do algodoeiro.....	3
2.2 - Etiologia da doença.....	4
2.3 - Sintomas da Mancha de ramularia.....	5
2.4 - Controle da Mancha de ramularia.....	6
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 – Local.....	11
3.2 - Obtenção e cultivo dos isolados de <i>R. areola</i>	11
3.3 – Avaliação do efeito de meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de <i>R. areola</i> isolado IMA 244.....	12
3.4 - Produção de conídios de <i>R. areola</i> isolado IMA244 em meio de arroz.....	12
3.5 - Avaliação de germinação de conídios de isolados de <i>R. areola in vitro</i>	13
3.6 - Extração de DNA e sequenciamento do isolado IMA244 de <i>R. areola</i>	14

3.7 – Avaliação do comportamento de genótipos de algodoeiro à mancha de ramularia em telado.....	14
3.8 - Avaliação do comportamento de cultivares à Mancha de ramularia na safra 2011/2012.....	15
3.9 - Avaliação do efeito de agentes de biocontrole na Mancha de ramularia na safra 2011/2012.....	16
3.10 - Avaliação do comportamento de cultivares à Mancha de ramularia na safra 2012/2013.....	16
3.11 - Análise dos resultados.....	17
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5 – CONCLUSÃO.....	35
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro tratadas com agentes de biocontrole, Correntina, Bahia. <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodermil) e <i>Trichoderma asperellum</i> (Trichodermax e Quality).....	25
Figura 2. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro tratadas com agentes de biocontrole, Primavera do Leste, Mato Grosso. <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodermil) e <i>Trichoderma asperellum</i> (Trichodermax e Quality).....	25
Figura 3. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro sem tratamento, tratadas com agentes de biocontrole (<i>Trichoderma asperellum</i> – Quality) e com fungicida, Sapezal, Mato Grosso.....	33

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Efeito do meio de cultura no crescimento micelial (cm) de <i>Ramularia areola</i> isolado IMA244 aos 7, 14, 21 e 28 dias de incubação.....	19
Tabela 2. Efeito do meio de cultura na produção de conídios de <i>Ramularia areola</i> isolado IMA244 aos 7 e 14 dias de incubação.....	19
Tabela 3. Efeito do meio de cultura de arroz e do período de incubação (7, 14, 21 e 28 dias) na esporulação (conídio mL ⁻¹) de <i>Ramularia areola</i> isolado IMA244.....	20
Tabela 4. Germinação (%) de conídios dos isolados 44, IMA244 e IMA 237 de <i>Ramularia areola</i>	21
Tabela 5. Efeito de genótipos de algodoeiro na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS), quando inoculados com os isolados IMA 244 e IMA 237 de <i>Ramularia areola</i>	22
Tabela 6. Efeito de agentes de biocontrole na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro, cultivar FM 951LL cultivadas em Primavera do Leste, MT e em São Desiderio, BA.....	24
Tabela 7. Efeito de agentes de biocontrole na altura (cm) de e no peso de capulho (g) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.....	26
Tabela 8. Efeito de agentes de biocontrole no peso de 100 sementes (g) e na produtividade de algodão em caroço (kg.parcela ⁻¹) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.....	26

Tabela 9. Efeito de agentes de biocontrole no rendimento de fibras (%) e no comprimento da fibra (pol) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.....	27
Tabela 10. Efeito de agentes de biocontrole no Micronaire (mg/pol) e na resistência da fibra (gf/tex) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.....	27
Tabela 11. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Desiderio, BA.....	28
Tabela 12. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Santa Helena de Goiás, Goiás.....	29
Tabela 13. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Primavera do Leste, Mato Grosso (safra).....	30
Tabela 14. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Primavera do Leste, Mato Grosso (segunda-safra).....	30
Tabela 15. Efeito de genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicidas e de <i>Trichoderma asperellum</i> (Quality WG) na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) e na produtividade de algodão em caroço (kg parcela ⁻¹) cultivados em Sapezal, MT.	32

RESUMO

A mancha de ramularia, causada pelo fungo *Ramularia areola*, é responsável pela desfolha prematura da planta de algodoeiro, resultando na redução do potencial produtivo. Dessa forma, o presente trabalho teve o objetivo avaliar o agente etiológico, a produção de inóculo de *R. areola*, a resistência genética de genótipos e o controle integrado da mancha de ramularia. Os ensaios foram conduzidos nos Laboratório e em telado da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP; e em condições de campo nas safras 2011/2012 em Primavera do Leste, MT, Correntina, BA e Santa Helena de Goiás, MT, e na safra 2012/2013 em Sapezal, MT. Nos ensaios conduzidos em laboratório, foram avaliados o crescimento micelial em diferentes meios de cultura, a germinação de conídios e a identificação molecular do isolado IMA244. No ensaio conduzido em telado foi avaliada a severidade da doença por meio de uma escala diagramática. Neste ensaio foi realizada a inoculação artificial de diversos genótipos de algodoeiro utilizando o isolado IMA244. Nos ensaios a campo foram estudados os comportamentos de cultivares suscetíveis e resistentes a mancha de ramularia tratadas com e sem a aplicação de fungicidas; plantas de algodoeiro da cultivar FM 951LL suscetível a doença tratadas com e sem a aplicação foliar de agentes de biocontroles; e plantas de algodoeiro das cultivares BRS 293 e BRS 423 tratadas com e sem fungicida e agente de biocontrole (*Trichoderma asperelum*). Os parâmetros avaliados nos estudos em campo foram: severidade, produtividade e qualidade de fibra. Os meios de cultura extrato de Malte, V8 e BDA apresentaram os melhores resultados, quando analisado o crescimento micelial do isolado IMA244. O isolado IMA244 apresentou 99% de similaridade quando comparados com a região ITS 1 de isolados de *Mycosphaerella areolla* depositados no NCBI. A linhagem CNPA 2007-419 cultivada em telado e inoculada artificialmente com o isolado IMA244 apresentou o menor índice da área abaixo da curva do progresso da severidade da Mancha de ramularia.. Os conídios de *R. areola* dos isolados 44, IMA244 e IMA 237 apresentaram 80% de germinação após 15 h de incubação, quando cultivados em meio de cultura extrato de malte a 25°C. Em ensaio a campo a cultivar BRS 272 e a linhagem CNPA GO 1265 apresentaram os menores índices de severidade da doença quando cultivados nas diferentes regiões, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Quando avaliado diferentes produtos de agentes de biocontrole pulverizados em algodoeiro cultivar FM 951LL, verificou-se que houve redução

da severidade da doença. Entretanto, a aplicação de fungicida apresentou os menores índices de severidade, quando comparados os tratamentos. No ensaio com e sem aplicação de fungicida e com agente de biocontrole a base de *T. asperelum*, verificou-se que houve incremento de produtividade quando as plantas de algodoeiro da cultivar BRS 293 foram pulverizadas com fungicida e agente de biocontrole. Entretanto, quando a cultivar BRS 272, resistente a doença, foi pulverizada com agente de biocontrole e fungicida, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Dessa forma, pode-se concluir que as estratégias integradas, destacando-se a utilização de cultivares resistentes, fungicidas e agentes de biocontrole poderão ser utilizadas como ferramentas de manejo da mancha de ramularia na cultura do algodoeiro.

Palavras-chave: *Ramularia areola*, mancha de ramularia, algodoeiro, controle genético, controle biológico, controle químico.

RAMULARIA LEAF SPOT ON COTTON: ETIOLOGIC AGENT, INOCULUM PRODUCTION, RESISTANCE OF GENOTYPES AND INTEGRATED CONTROL. Botucatu, 2014. 44 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Juliano Cesar da Silva

Adviser: Wagner Bettiol

SUMMARY

Ramularia leaf Spot, caused by *Ramularia areola*, is responsible for premature defoliation of the cotton plant, thus resulting in yield potential reduction. The present study aimed to evaluate the control of Ramularia leaf spot through the use of cotton genotypes and biocontrol agents. The tests were conducted in laboratory and screen house at Embrapa Environment, Jaguariuna, SP; field trials were performed in 2011/2012 in Primavera do Leste, MT, Correntina, BA and Santa Helena de Goiás, MT, and at the season 2012/2013 in Sapezal, MT. In tests conducted in laboratory evaluations of mycelia growth in different culture media, conidial germination and molecular identification of isolated IMA244 were performed. The trial in screen house the disease severity using a diagrammatic scale was evaluated. In this test the artificial inoculation of various cotton genotypes using isolated IMA244 and IMA 237 was performed. In field trials we study the susceptible and resistant genotypes to *R. areola* treated with and without application of fungicides; cotton plants of cultivar FM 951LL treated with and without foliar sprays of biocontrols agents; and cultivars BRS 293 and BRS 423 treated with and without fungicide and biocontrol agent (*Trichoderma asperelum*). It was evaluated severity, yield and fiber quality. The culture media malt extract, V8 and PDA showed the best results when analyzing the mycelia growth of isolate IMA244. The isolated IMA244 showed 99% similarity when compared with ITS 1 region of isolates of *Mycosphaerella areolla* deposited in NCBI. The CNPA 2007-419 grown in greenhouse and artificially inoculated with isolate IMA244 had the lowest ratio of area under the progress of the severity, when compared with the other treatments. In field trials BRS 272 and lineage CNPA GO 1265 had the lowest

rates of disease severity when grown in different regions, differing from the other treatments. When evaluating different biocontrol agents sprayed on cotton cultivar FM 951LL, it was found that the reduction in disease severity, however, fungicide application showed lower level of severity when compared the treatments. In the test with and without fungicide and *Trichoderma asperelum*, it was found that there was an increase in productivity when cotton plants of the cultivar BRS 293 form fungicide sprayed and biocontrol agent. However, when BRS 272, disease resistant, was sprayed with fungicide and biocontrol agent, there was no statistical difference between the treatments. Thus, we can conclude that integrated strategies, highlighting the use of resistant cultivars, fungicides and biocontrol agents may be used as the integrated management of ramularia leaf spot in cotton.

Keywords: *Ramularia areola*, Ramularia leaf spot, cotton, genetic control, biological control, chemical control.

1) INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é considerado uma das principais culturas agrícolas no Brasil e no mundo, exercendo grande importância em termos produtivos, econômicos e sociais, por meio da pluma ou fibra que é o seu produto principal. Dentre as fibras têxteis, naturais ou artificiais, a pluma de algodoeiro é a mais importante pela multiplicidade e qualidade de aplicação (FREIRE, 2011). A cultura do algodoeiro caracteriza-se por apresentar altos custos de produção, alta dependência de processos mecanizados, baixos índices pluviométricos e rigorosos critérios de avaliação de qualidade (BELTRÃO, 2008).

No Brasil, a cotonicultura tem grande importância na geração de empregos e renda, especialmente nos setores primários e industriais. A partir do final da década de 90, a região Centro-Oeste apresenta a maior área cultivada com algodoeiro, destacando-se os Estados do Mato Grosso e Bahia. Na safra 2012/2013, a área cultivada no Brasil foi de 893,5 mil hectares, sendo que a produção nacional de pluma foi de 1,3 milhão de toneladas (<<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&>> Acesso em: 15 mai. 2014).

As condições edafoclimáticas da região central do Brasil são apropriadas para o cultivo do algodoeiro, devido principalmente à topografia plana e o clima adequado. Entretanto, devido à alta precipitação pluviométrica, a alta umidade relativa do ar e as temperaturas noturnas amenas, os patógenos são favorecidos, propiciando assim a incidência de doenças (FREIRE, 2011).

Dentre as doenças que ocorrem, atualmente, na cultura do algodoeiro, destaca-se a mancha de ramularia, causada pelo fungo *Ramularia areola*. A mancha de ramularia sempre foi considerada uma doença secundária, que ocorria no final do ciclo e auxiliava na desfolha da planta (CIA, 1977; CIA & SALGADO, 1997). Entretanto, a partir do ano de 1998, com o incremento da área cultivada, o monocultivo e a utilização de cultivares suscetíveis à doença, a mancha de ramularia passou a ocorrer mais cedo, causando desfolha prematura e, conseqüentemente, a redução do potencial produtivo (SUASSUNA et al., 2006; CHITARRA, 2008). Barros et.al. (2008) verificaram que a doença tem baixa severidade nos estádios iniciais da cultura e alta severidade no final do ciclo. Aquino et al. (2008a) verificaram que a mancha de ramularia causou 49% de redução do potencial produtivo.

Devido a importância da doença para a cultura do algodoeiro no Brasil, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o agente etiológico, a produção de inóculo de *R. areola*, a resistência genética de genótipos e o controle integrado da mancha de ramularia.

2) Revisão de Literatura

2.1) Mancha de ramularia do algodoeiro

Na cultura do algodoeiro ocorrem diversas doenças, como tombamento, ramulose, mancha de ramularia, bacteriose, murcha de fusarium, mofo branco, nematoides, viroses e apodrecimento de maçãs. Dessa forma, as doenças limitam a obtenção de índices satisfatórios de produtividade e de qualidade de fibra.

A doença foliar mais importante, atualmente, é a mancha de ramularia, causada pelo fungo *Ramularia areola* G. F. Atk. A doença foi relatada inicialmente por Atkinson em 1890 nos Estados Unidos. Posteriormente, foi verificada a ocorrência em quase todas as regiões produtoras de algodão no mundo, tendo maior importância em Madagascar, Uganda e Índia (BELL, 1981).

No Brasil, historicamente a mancha de ramularia sempre foi considerada uma doença secundária, que ocorria no final do ciclo e ocasionava a desfolha da planta (SILVEIRA, 1965; CIA, 1977; CIA & SALGADO, 1997). Entretanto, a partir do ano 1998, com o incremento da área cultivada, monocultivo e a utilização de cultivares suscetíveis às doenças, a mancha de ramularia passou a ocorrer mais cedo e a causar desfolha prematura, implicando na necessidade de aplicações de fungicidas (SUASSUNA et al., 2006; CHITARRA, 2008). Prade et al. (2001) também mencionam que o crescente aumento de área de cultivo do algodoeiro no Cerrado vem apresentando um aumento da severidade de doenças

consideradas secundárias para a cultura. Barros et al. (2008) verificaram baixa severidade da doença nos estádios iniciais da cultura, mas apresentando alta severidade no final do ciclo.

Na cultura do algodoeiro tem sido verificada ocorrência de novas doenças e surtos epidêmicos, causados por fungos de importância secundária devido, principalmente, a introdução recente de genótipos de origem australiana e americana sem base de sustentação em programas de melhoramento no Brasil (JULIATTI & POLITZEL, 2003, CASSETARI NETO & MACHADO, 2006, IAMAMOTO, 2003). Segundo Nascimento (2000), o controle das doenças foliares do algodoeiro, com destaque para a mancha de ramularia, deve ser realizado analisando a cultivar, a área de cultivo e o manejo da cultura.

A redução do potencial produtivo do algodoeiro causado pela mancha de ramularia foi relatada por vários autores. Shivankar & Wangikar (1995) verificaram redução do potencial produtivo de até 68,7%, comparando tratamentos com e sem controle químico do fungo. Cia et al. (1999), Andrade et al. (1999) e Aquino et al. (2008a) verificaram que pode ocorrer redução de até 75%, 50% e 49% do potencial produtivo, respectivamente. Segundo Mehta & Menten, (2006) dentre as doenças causadas por fungos, a mancha de ramularia ocupa o lugar de maior importância, ocasionando perdas na produção de até 35%, com recomendação de até quatro aplicações de fungicidas para seu controle.

2.2) Etiologia da doença

A mancha de ramularia é causada pelo fungo *Ramularia areola* G. F. Atk., [syn. *Ramularia gossypi* (Speg.) Cif., *Cercospora gossypi* Speg.] forma assexuada ou anamórfica, sendo que a fase sexual ou teleomórfica é considerada a espécie *Mycosphaerella areola* Ehrlich & F.A. Wolf (SUASSUNA & COUTINHO, 2007).

O fungo pode sobreviver em plantas de algodoeiro remanescentes da destruição inadequada dos restos de cultura, controle de plantas voluntárias e soqueira ou em plantas de algodão perene. Assim, cultivos consecutivos de algodoeiro na mesma área e na proximidade de plantas cultivadas em anos anteriores, comumente chamado de soqueira, podem contribuir como inoculo primário. A fase assexuada do fungo desenvolve-se no tecido

vivo, sobretudo na face inferior da folha e por um curto período de tempo em folhas em decomposição (IAMAMOTO, 2003).

Quanto à morfologia do fungo, os conídios são cilíndricos, hialinos e apresentam de um a três septos (IAMAMOTO, 2003). Rathaiah (1977) verificou que a temperatura ótima variou de 25 a 30 °C para a germinação e o desenvolvimento do tubo germinativo de *R. areola*. Segundo Rathaiah (1977) e Curvêlo (2009), a penetração do fungo ocorre preferencialmente via estômato. O conídio geralmente germina e produz dois tubos germinativos nas suas extremidades (CURVÊLO, 2009). O mesmo autor verificou que o fungo *R. areola* produziu uma grande quantidade de hifas e colonizou inter e intracelularmente a região do mesófilo foliar, sendo que aos 21 dias após a inoculação foi verificado o colapso celular. Curvêlo (2009) verificou que os conidióforos emergiram agrupados através dos estômatos e que a esporulação do fungo iniciou 12 dias após a inoculação, sendo que a esporulação ocorreu nas faces adaxial e abaxial da folha.

A doença é favorecida pela temperatura variando entre 12 e 32 °C, sendo a faixa mais adequada de 25 a 30 °C, associada à umidade relativa superior a 80%. Entretanto, Paiva et al. (2001) verificaram que noites úmidas seguidas de dias secos, sem períodos prolongados de molhamento foliar favoreceram o desenvolvimento da doença. A disseminação dos propágulos do patógeno pode ocorrer por meio de vento, respingos de chuva e trânsito de máquinas (RATHAIAH, 1977).

2.3) Sintomas da mancha de ramularia

A doença conhecida como ramularia, mancha de ramularia, míldio, oídio, míldio areolado ou falso míldio inicia, geralmente, em lavouras bem desenvolvidas, em locais mais sombreados e úmidos. Os sintomas primeiramente verificados nas folhas do baixeiro são lesões brancas azuladas na superfície inferior da folha, logo após é verificada esporulação do fungo de coloração branca ou amarelada e de aspecto pulverulento. O fungo causa manchas angulosas nas folhas que variam de 1 a 4 mm, circunscrita pelas nervuras (BELL, 1981, CIA & SALGADO, 1997; SUASSUNA & COUTINHO, 2007). O ataque do fungo é mais intenso quando existe alta densidade de plantas e alta umidade.

Em situações de alta severidade da doença as lesões coalescem, ocupando quase todo o limbo foliar, podendo-se tornar necrosadas após o período de esporulação do patógeno (EHRLINCH & WOLF, 1932), causando, conseqüentemente desfolha prematura e redução da área fotossintética ativa da planta, resultando na redução do potencial produtivo e na menor qualidade da fibra (BELOT & ZAMBIASI, 2007).

2.4) Controle da mancha de ramularia

Visando o controle da mancha de ramularia, diversos métodos de controle vêm sendo utilizados, destacando a resistência genética, o controle químico e controle cultural.

A utilização de variedades resistentes representa um pilar dentre as estratégias utilizadas para o controle de doenças. É o método ideal de controle, por ser aplicável em largas áreas e possuir baixo impacto ambiental (CAMARGO, 2011). Nos últimos anos, programas de melhoramento vem desenvolvendo cultivares tolerantes a doença, como por exemplo, IAC 25 RMD (<<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/graos/algodao.php>>. Acesso em: 15 mai. 2014). Entretanto, as regiões de cultivo de algodoeiro no Brasil são distantes e apresentam características climáticas distintas, portanto, a adaptação de cultivares muitas vezes não é verificada, dificultando assim a utilização das cultivares em amplas áreas de cultivo.

A resistência de plantas a patógenos pode ser monogênica, quando controlada por um único gene ou poligênica quando controlada por dois ou mais genes. Estes genes são responsáveis pelos componentes da resistência que visam impedir a penetração e a colonização do patógeno na planta hospedeira. Portanto, alguns componentes de resistência estão presentes em plantas sadias e são parte da defesa constitutiva. Outros componentes são induzidos e formados após o contato entre o patógeno e o hospedeiro. A reação de hipersensibilidade é resultado dos componentes constitutivos e ativos. Assim, os eventos bioquímicos com reação de defesa ativa estão envolvidos em plantas suscetíveis e resistentes em resposta à ação de patógenos biotróficos ou necrotróficos. Do ponto de vista bioquímico, plantas susceptíveis também apresentam resistência, mas a velocidade de resposta é

inadequada e o patógeno coloniza progressivamente a planta (BELL et al., 2010). O grau de resistência depende da velocidade e intensidade da resposta de defesa do hospedeiro à colonização causada pelo patógeno (BELL, 1980).

As doenças do algodoeiro podem ser controladas por meio de uso de cultivares resistentes, desde que o conhecimento sobre as fontes de resistência e o mecanismo de herança de resistência seja disponível. Neste sentido, alguns estudos abordando herança de resistência na cultura do algodoeiro foram realizados em relação a algumas doenças como *Stemphylium solani* (MEHTA & ARIAS, 2001), mancha angular bacteriana (ZANDONÁ et al., 2005), ramulose (ZANDONÁ et al., 2006), a doença azul (PUPIM et al., 2007) e mancha de ramularia (POLIZEL et al., 2008; NOVAES et al., 2011).

Cia et al. (2009) avaliaram 18 genótipos em 33 experimentos instalados nas principais regiões produtoras de algodão no Brasil e verificaram que 61% dos genótipos apresentaram moderada a alta suscetibilidade e somente 29% foram classificados como moderadamente resistentes a mancha de ramularia. Em ensaios conduzidos nas safras 2000/2001 e 2001/2002 as cultivares BRS Ita 90 e BRS Facual apresentaram os menores índices de área abaixo da curva do progresso da doença (BARROS et al., 2008). Segundo RAHTAIAH (1976), as cultivares BJA 592, Reba BTK de *Gossypium hirsutum* e Tadla 16, Pima 67 de *Gossypium barbadense* apresentaram reação de hipersensibilidade, quando inoculadas com quatro isolados de *R. areola*.

Zandoná et al. (2012) verificaram que plantas das linhagens CNPA BA 2003-2059 e FMT 02102996 apresentaram gene dominante para a mancha de ramularia, quando inoculadas com o isolado 44 de *R. areola*, em condições de casa de vegetação. Dessa forma, a resistência monogênica pode auxiliar nas estratégias dos programas de melhoramento do algodoeiro com o objetivo de introduzir a resistência à mancha de ramularia. Por se tratar de uma característica de herança simples, até mesmo programas de retrocruzamento podem ser utilizados para converter cultivares elites suscetíveis em cultivares resistentes à doença, auxiliando no manejo integrado da doença (NOVAES et al., 2011). Entretanto, Lucena (2007) constatou que a herança a mancha de ramularia era recessiva e poligênica. Maranhã (2002) verificou que a cultivar BRS Facual apresentou maior resistência a mancha de ramularia e que a resistência deve ser horizontal, ou seja, mediada por vários genes.

Penzetti et al. (2013) verificaram que as linhagens de algodoeiro CNPA BA-2003-2059 e FMT 02102996 apresentaram reação de suscetibilidade, quando inoculados com os isolados 13.2, 17.5 e 58.4 de *R. aréola*. Entretanto, foi verificada reação de resistência para os demais isolados avaliados. Girotto et al. (2013) recomendam que para a seleção de linhagens deve-se realizar a inoculação de diferentes isolados de *R. areola*, possibilitando assim a obtenção de uma cultivar com ampla resistência a doença.

A resistência a doenças constitui um dos principais objetivos dos programas de melhoramento da maioria das espécies agrônômicas e olerícolas. Segundo Freire et al. (2011), os objetivos gerais dos programas de melhoramento de algodão desenvolvidos no Cerrado são: cultivares com alta produtividade, apresentando ciclo médio e precoce, alta qualidade e rendimento de fibras e resistência as principais doenças com destaque para a mancha de ramularia. Portanto, para o desenvolvimento de cultivares resistentes são necessários conhecimentos e habilidades em áreas específicas, como o melhoramento de plantas e a fitopatologia (BOREM & MIRANDA, 2013).

O controle cultural constitui a adoção de práticas culturais, destacando-se a rotação de culturas, a utilização de sementes sadias, a eliminação de plantas voluntárias, a eliminação de hospedeiros alternativos, a eliminação de restos de culturas, o preparo do solo, o plantio da cultura na época de plantio recomendada para cada região, a utilização de densidade de plantas adequada e a nutrição adequada das plantas entre outras. As práticas culturais preferencialmente deverão ser adotadas em combinação, como contribuição para minimizar os efeitos de doenças sobre a produção de plantas cultivadas (BEDENDO et al., 2011). Assim, a rotação de cultura é um importante método de controle da doença, principalmente associado a um eficiente controle de soqueiras e tiguerras, visando dessa forma, a redução do inoculo inicial. A densidade e a altura das plantas também estão relacionadas ao aumento da severidade da doença, pois lavouras muito altas e com excesso de população favorecem a doença, devido ao sombreamento e ao acúmulo de umidade na parte inferior do dossel da planta (PAIVA, 2001).

O controle químico da doença é empregado com sucesso no controle da doença. Entretanto, os custos são elevados e o risco de insucesso desta medida sempre existe, principalmente, relacionado ao aumento da frequência de isolados do patógeno

resistente ou tolerantes aos principais fungicidas em uso (SUASSUNA et al., 2006). Atualmente, a utilização de fungicidas é uma das principais táticas empregadas para a redução da taxa de progresso da doença (SUASSUNA & COUTINHO, 2007; AQUINO, 2008a), destacando-se os fungicidas à base de triazóis e estrubilurinas que tem apresentado eficiência no controle da doença (SUASSUNA & COUTINHO, 2007). Entretanto, o atraso na primeira aplicação, que geralmente é realizada no início da lesão azulada, diminui a eficiência de controle e podendo, inclusive, inviabilizar economicamente a aplicação do fungicida (SIQUERI & COSTA, 2003). Antes do término do período residual do fungicida devem-se monitorar novamente as plantas, pois, constatando-se novas lesões com esporulação, deve-se realizar a reaplicação, de preferência utilizando um fungicida pertencente a um grupo químico diferente do que foi empregado na aplicação anterior (SUASSUNA et al., 2006).

Carretero & Siqueri (2011) verificaram que o controle mais eficiente da mancha de ramularia é obtido quando as aplicações de fungicidas são realizadas logo nos primeiros sintomas da doença (mancha azulada). Schaedler et al. (2013), avaliando a eficácia de fungicidas, verificaram que a aplicação antes da inoculação com *R. areola*, reduziu a severidade da doença, evidenciando assim a necessidade de realizar o controle preventivo da doença.

A preocupação da sociedade com a produção de alimentos e fibras sem a utilização de defensivos agrícolas ou com a produção certificada, onde existe a garantia de que os defensivos agrícolas foram utilizados adequadamente, demanda outras estratégias de controle. Dentre as alternativas para o manejo de doenças, o controle biológico, apresenta ser uma ferramenta interessante, pois constitui uma prática agrícola ecologicamente sustentável (MORANDI & BETTIOL, 2009). As espécies do gênero *Trichoderma* são utilizadas com sucesso no controle de fitopatógenos de solo, por serem capazes de proteger plantas por meio de diferentes mecanismos de ação (parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência) e por colonizar eficientemente o substrato e o sistema radicular de várias espécies de plantas (HARMAN et al., 2004; HARMAN, 2006; WOO et al., 2006; LUCON et al., 2009). Além disso, esse gênero está entre os microrganismos mais resistentes às toxinas e produtos químicos naturais e sintetizados pelo homem, capazes até mesmo de degradar alguns desses compostos, tais como hidrocarbonetos e agrotóxicos (HARMAN et al., 2004;

HARMAN, 2006; WOO et al., 2006). Outra importante característica desse gênero é que muitas de suas linhagens são produtoras prolíficas de esporos e de antibióticos (WOO et al., 2006; LUCON, 2009). Apesar do enfoque ecológico amplamente difundido pela sociedade, a política agrícola ainda encontra-se incipiente no que se refere à expansão de práticas agrícolas alternativas e ecologicamente sustentáveis. Apesar da comprovação que *Trichoderma* é eficiente, prático e seguro agente de biocontrole, seu uso agrícola ainda é restrito (MACHADO et al., 2012). Na cultura do algodoeiro, a aplicação foliar de *Trichoderma viride* reduziu a severidade da Mancha de ramularia, tanto quando foi aplicado isolado ou em associação a fungicida (DUARTE et al., 2007; FREITAS et al., 2007).

Entretanto, a simples substituição de um produto químico por um biológico não é a opção mais adequada, mas sim o desenvolvimento de um sistema de manejo integrado que inclua: a) controle de plantas voluntárias no período de entressafra, visando à redução do inóculo inicial; b) plantio na época recomendada para a região de cultivo; c) utilização de genótipos tolerantes ou resistentes à doença; d) monitoramento dos sintomas da doença, visando a utilização do método de controle adequado; e e) utilização de fungicida e de agentes de biocontrole, conforme a recomendação do fabricante. Dessa forma, o manejo integrado de doenças deve ser parte do sistema produtivo do algodoeiro.

3) Material e Métodos

3.1) Local

Os ensaios em laboratório e casa de vegetação foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Ambiental e casas de vegetação da Embrapa Meio Ambiente, localizado no município de Jaguariúna, Estado de São Paulo. A extração de DNA e sequenciamento do isolado IMA244 foi realizada no Laboratório de Bioquímica Fitopatológica, do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Sanidade Vegetal (CPDSV), do Instituto Biológico de São Paulo (IB), São Paulo, SP. Os ensaios a campo na safra 2011/2012 foram conduzidos na Fazenda Indiana, Município de São Desiderio, Bahia; na Área Experimental da Coaleste, Município de Primavera do Leste, Mato Grosso e na Área Experimental da Fundação Goiás, Santa Helena de Goiás, Goiás. O ensaio a campo na safra 2012/2013 foi conduzido na SLC Agrícola, Fazenda Planorte, Município de Sapezal, Mato Grosso.

3.2) Obtenção e cultivo dos isolados de *R. areola*

Os isolados IMA244 e IMA237 de *R. areola* foram cedidos pelo Dr. Rafael Galbieri (Instituto Matogrossense do Algodão - IMA MT) e o isolado 44 pelo Dr. Yeshwant R. Metha (IAPAR). Esses isolamentos de *R. areola* foram obtidos de plantas de algodoeiro nos municípios de Montividiu, GO, Pedra Preta, MT e Ipameri, GO, respectivamente. Os isolados fúngicos foram repicados e cultivados em extrato de malte 2% à temperatura de 25 °C, sob luz fluorescente, com fotoperíodo de 12 h. Após sete dias foi

adicionado 2 mL de água destilada e esterilizada e com o auxílio de alça de Drigalski foi realizada a raspagem da superfície do meio de cultura, visando a liberação dos conídios. A suspensão de conídios foi ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} , com auxílio de hemacitômetro.

3.3) Avaliação do efeito de meios de cultura no crescimento micelial e esporulação de *R. areola* isolado IMA 244.

Para avaliar o crescimento micelial e a esporulação de *R. areola*, foram utilizados os seguintes meios de cultura: V8 – 100 mL de V8, CaCO_3 2 g, ágar 20 g e água 1000 mL; extrato de malte (EM) – extrato de malte 20 g, ágar 20 g e água 1000 mL; Batata-dextrose-ágar (BDA) – 18 g de BDA (Neogen Corporation, Lansing, Michigan) em 1000 mL de água destilada; Kirchoff modificado (KMM) – dextrose 30 g, asparagina 0,5 g, sulfato de potássio 1,0 g, sulfato de magnésio 0,5 g, ágar 20 g e 1000 mL de água destilada; dextrose-peptona-ágar (DPA) – dextrose 10 g, peptona 2 g, KH_2PO_4 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, ágar 20 g e 1000 mL de água destilada; meio de arroz (MA) – arroz triturado 15 g, peptona 20 g, ágar 20 g e 1000 mL de água destilada; meio de arroz modificado (MAM) - arroz triturado 15 g, ágar 20 g, e 1000 mL de água destilada. Para o centro de cada placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo os meios de cultura, foi transferido um disco com as estruturas do patógeno. O fungo foi incubado por 28 dias à temperatura de 25 °C, sob condição de luz contínua. As avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21 e 28 dias de cultivo. Para determinar o crescimento micelial foi mensurado o diâmetro da colônia com o auxílio de uma régua. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo utilizadas 10 repetições/tratamento. A esporulação foi avaliada aos 7 e 14 dias de incubação.

3.4) Produção de conídios de *R. areola* isolado IMA244 em meio de arroz.

Para a produção de conídios, 100 μL de uma suspensão de conídios (1×10^6 conídios mL^{-1}) do fungo foram transferidos para o meio de cultura V8 e incubado por sete dias, sob luz contínua e temperatura de 25 °C. Após sete dias foi obtida uma suspensão de conídios para a realização dos estudos que foi ajustada para a 1×10^6 conídios mL^{-1} . Para preparar o meio de cultura, 100 g de grãos de arroz foi colocado de molho em água por 12 h, após este período foi retirado o excesso de água com o auxílio de uma peneira e o arroz foi

acondicionado em sacos plásticos de polipropileno, sendo adicionado ou não 1% de dextrose. O arroz foi autoclavado por duas vezes a 121 °C a 1 atm, durante 20 minutos. Para cada 100 g de arroz esterilizado foi adicionado 200 µL da suspensão de 1×10^6 conídios mL^{-1} de *R. areola*. O fungo foi cultivado a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com por quatro repetições. Os tratamentos consistiram de: 1 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose (1%) por sete dias; 2 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por sete dias; 3 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 14 dias; 4 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 14 dias; 5 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 21 dias; 6 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 21 dias; 7 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz + dextrose por 28 dias; 8 – *R. areola* isolado IMA 244 cultivado em grãos de arroz por 28 dias.

Após o período de incubação, uma amostra de 10 g de grãos de arroz colonizado foi adicionada a 90 mL de água destilada esterilizada com 0,1% de Tween 80. As amostras foram acondicionadas em agitador orbital por 60 minutos a 150 rpm. Após a agitação, as amostras foram colocadas em banho de ultra-som com frequência de 40 kHz, durante 5 minutos. Foi coletada uma alíquota de cada amostra e determinada a concentração de conídios, com o auxílio de um hemacitômetro.

3.5) Avaliação de germinação de conídios de isolados de *R. areola in vitro*.

Para a avaliação da germinação de conídios, os isolamentos IMA244, IMA237 e 44 de *R. areola* foram cultivados em meio de cultura extrato de malte, durante sete dias à temperatura de 25 °C. Para a quantificação da germinação de conídios, uma gota de 10 µL da suspensão de conídios de *R. areola* foi adicionada a placas de petri contendo meio de cultura extrato de malte e incubados à temperatura de 25 °C. As avaliações foram realizadas após 7, 9, 11, 13 e 15 horas. Para a paralização da germinação, foi adicionada uma gota de lactofenol. As placas de Petri foram examinadas utilizando microscópio óptico (400x).

3.6) Extração de DNA e sequenciamento do isolado IMA244 de *R. areola*

Para a extração do DNA do isolado IMA244 foi utilizado o protocolo CTAB (DELLAPORTA et al., 1983). A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada utilizando os pares de primers ITS 1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG3-') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Para a PCR foram utilizados 1 µL de DNA total extraído, 10 µL de tampão da enzima *GoTaq* DNA polimerase (Promega®), 5 µL MgCl₂, 1 µL dNTP, 1 µL de cada primer e 0,2 µL de *GoTaq* DNA polimerase (Promega®), ajustando-se o volume da reação para 50 µL com água ultra pura. O regime utilizado no termociclador foi de 94 °C por 2 min., 40 ciclos de 94 °C por 15 segundos, 54 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos, finalizando-se o processo com 72 °C por 4 minutos (DELLAPORTA et al., 1983). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em gel de agarose corado com brometo de etídio e observado sob luz UV. O produto amplificado foi submetido a reação de sequenciamento com nucleotídeos marcados, utilizando o sequenciador automático ABI377 (Applied Biosystems). As sequências de nucleotídeos do isolado IMA224 foram comparadas com as sequências depositadas no site do National Center for Biotechnology Information - NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast).

3.7) Avaliação do comportamento de genótipos de algodoeiro à mancha de ramularia em telado.

Visando avaliar o comportamento dos genótipos DP 604B, FMT 705, CNPA MT 2009-1381, CNPA GO 2009-204, CNPA GO 2008-1265, CNPA GO 2008-1266, CNPA GO 2008-1271 e CNPA GO 2007-419 a mancha de ramularia, plantas de algodoeiro foram cultivadas em vasos plásticos de 5L, contendo uma mistura de solo e esterco (10:1). O solo foi coletado numa área de mata da fazenda experimental da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. A adubação do solo e a correção com calcário foram realizadas com base nos dados da análise de solo. As plantas foram mantidas em telado com redução de 25% da luminosidade. A irrigação, por meio de micro-aspersores, foi realizada duas vezes ao dia. Para multiplicação do patógeno, 100 µL de uma suspensão de conídios (10⁶ conídios mL⁻¹) do

isolado IMA244 foi transferida para o meio de cultura extrato de malte (2%). A cultura foi incubada durante sete dias, sob luz contínua e temperatura de 25 °C. Depois deste período, foi obtida uma suspensão de conídios à qual foi ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} para inoculação das plantas de algodoeiro com 30 dias após a semeadura. As plantas de algodoeiro foram inoculadas com a suspensão de inóculo do isolado IMA 244 através de pulverização da superfície das folhas até o ponto de escorrimento. As avaliações da severidade da doença foram realizadas aos 15, 20, 30 e 40 dias após a inoculação, utilizando a escala de notas variando de 0,05 a 67,20% de severidade (AQUINO et al. (2008b)). Foram avaliadas 10 plantas por repetição. Com os resultados de severidade foram calculadas as áreas abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, composto de três repetições.

3.8) Avaliação do comportamento de cultivares à mancha de ramularia na safra 2011/2012.

Os genótipos CNPA GO 1381, CNPA GO 419, BRS 293, BRS 272, CNPA GO 1265 e FMT 701 de algodoeiro visando avaliar o comportamento à mancha de ramularia foram cultivados nos municípios de Primavera do Leste, MT, São Desiderio, BA e Santa Helena de Goiás, GO. Os tratamentos consistiram em parcelas tratadas e não tratadas com fungicidas. As aplicações do fungicida Emerald na dose $0,5 \text{ L ha}^{-1}$ foram realizadas aos 25, 40, 55, 70, 90, 105 e 120 DAE (dias após a emergência). As avaliações da severidade da doença foram realizadas durante todo o ciclo da cultura, utilizando a metodologia descrita por Aquino et al. (2008b). Com os resultados de severidade foram calculadas as AACPS. Adicionalmente foi avaliada a produtividade. A parcela experimental foi constituída de quatro linhas de cinco metros, sendo o espaçamento entre linhas de 0,9 m. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, composto de três repetições.

3.9) Avaliação do efeito de agentes de biocontrole na mancha de ramularia na safra 2011/2012.

Visando avaliar o efeito de agentes de biocontrole no controle da mancha de ramularia, foram utilizados os seguintes produtos: Trichodermil SC (1,0 kg ha⁻¹) e Trichodermil SP (0,1 kg ha⁻¹) à base de *Trichoderma harzianum*; Quality WG (0,1 kg ha⁻¹) e Trichodermax (0,2 kg ha⁻¹) à base de *Trichoderma asperellum*; *Bacillus subtilis* (0,1 kg ha⁻¹) e *Clonostachys rosea* (0,2 kg ha⁻¹). Os experimentos, foram conduzidos nos municípios de Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA, com semeaduras em 15/12/2011 e 17/01/2012, respectivamente. A cultivar de algodoeiro utilizada foi FM 951LL. Os tratamentos consistiram em parcelas tratadas com os agentes de biocontrole, fungicida Emerald (0,5L ha⁻¹) e testemunha. As pulverizações foram realizadas aos 25, 40, 55, 70, 90, 105 e 120 DAE. As avaliações da severidade da doença foram realizadas durante todo o ciclo da cultura, utilizando a metodologia descrita por Aquino et al. (2008b). A parcela experimental foi constituída de quatro linhas de cinco metros, sendo o espaçamento entre linhas de 0,9m. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, composto de três repetições. Com os resultados de severidade foram calculadas as AACPS. Também foi avaliada a produtividade, o rendimento de fibra e a qualidade de fibras. A análise da qualidade de fibra foi realizada no Laboratório de Classificação Visual e HVI da Associação Goiana dos Produtores de Algodão (Agopa). O HVI (High Volume Instrument), que dá nome a essa análise, é o equipamento utilizado para medir as características intrínsecas da fibra do algodão, dessa forma, foram analisadas a resistência, o comprimento e o micronaire.

3.10) Avaliação do comportamento de cultivares à mancha de ramularia na safra 2012/2013.

Avaliou-se o comportamento de genótipos BRS 293 e CNPA GO 423 de algodoeiro a mancha de ramularia, associados à aplicação ou não de fungicida e ou de agente de biocontrole. O ensaio foi conduzido no município de Sapezal, MT. O espaçamento entre linhas utilizado foi de 0,9 m. Os tratamentos consistiram em parcelas tratadas e não tratadas com o fungicida Emerald na dosagem de 0,5L ha⁻¹, e de parcelas tratadas e não

tratadas com o agente de biocontrole Quality WG na dosagem de $0,1 \text{ kg ha}^{-1}$. As pulverizações foram realizadas aos 25, 40, 55, 70, 90, 105 e 120 DAE. As avaliações da severidade da doença foram realizadas durante todo o ciclo da cultura, utilizando a metodologia descrita por Aquino et al. (2008b). Com os resultados de severidade foram calculadas as AACPS e adicionalmente foi avaliada a produtividade..

3.11) Análise dos resultados.

Os resultados obtidos foram analisados empregando-se SAS System Software Package, version 8. Os dados foram submetidos à análise de variância e submetidos ao teste de Tukey e ao teste t, ambos com 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação de meios de cultura

O isolado IMA244 de *R. areola*, quando cultivado por 28 dias em meio de cultura extrato de malte (2%), V8 e BDA, apresentou o crescimento micelial de 1,50 cm, 1,46 cm e 1,41 cm, respectivamente. Estes meios de culturas diferiram estatisticamente, quando comparados com os demais meios (Tabela 1). Segundo Crous (2007), o meio de cultura extrato de malte (2%) é recomendado para a realização de estudos morfológicos de fungos do gênero *Mycosphaerella*, pois as características da colônia e a morfologia de ascósporos são geralmente consistentes *in vitro*. Menten & Marques (1979) verificaram que o isolado de *Ramularia tulasnei* apresentou o maior crescimento micelial em BDA.

Quando analisado o efeito no meio de cultura na produção de conídios do isolado IMA244, verificou-se que o meio de cultura extrato de malte (2%), aos sete dias de incubação a 25 °C, apresentou a esporulação de 1×10^8 conídios mL⁻¹ (Tabela 2). Enquanto que aos 14 dias de incubação, apresentou a esporulação de 5×10^7 e 3×10^7 conídios mL⁻¹ quando cultivados nos meios de cultura extrato de malte (2%) e DPA, respectivamente. Menten & Marques (1979) verificaram que o isolado de *R. tulasnei* apresentou a melhor esporulação em meio de cultura BDA, após 16 dias de incubação quando cultivado à 25 °C, independente do regime de luz.

Tabela 1. Efeito do meio de cultura no crescimento micelial (cm) de *Ramularia areola* isolado IMA244 aos 7, 14, 21 e 28 dias de incubação.

Meio de cultura*	Crescimento micelial (cm)			
	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
V8	0,30bc	0,69a	1,13abc	1,46a
EM 2%	0,31b	0,74a	1,30a	1,50a
BDA	0,51a	0,71a	1,21ab	1,41a
KMM	0,19bc	0,63ab	1,01bc	1,16b
DPA	0,26bc	0,63ab	0,96c	1,16b
MAM	0,14c	0,54ab	1,08bc	1,34ab
MA	0,24bc	0,38b	0,50d	0,53c
CV (%)	25,1	18,4	8,7	7,7

*Meios de cultura: V8, BDA = batata-dextrose-ágar, KMM = kirchoff modificado DPA = dextrose-peptona-ágar, MAM = meio de arroz modificado e MA = meio de arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito do meio de cultura na produção de conídios de *Ramularia areola* isolado IMA244 aos 7 e 14 dias de incubação.

Meio de cultura*	Concentração de conídios (conídios mL ⁻¹)	
	7 dias	14 dias
V8	4x10 ⁷ ab	2x10 ⁷ ab
EM 2%	1x10 ⁸ a	5x10 ⁷ a
BDA	6x10 ⁷ ab	2x10 ⁷ ab
KMM	6x10 ⁶ b	9x10 ⁶ b
DPA	4x10 ⁷ ab	3x10 ⁷ a
MAM	7x10 ⁵ c	4x10 ⁵ c
MA	6x10 ⁶ b	9x10 ⁶ b
CV (%)	5,1	2,38

*Meios de cultura: V8, BDA = batata-dextrose-ágar, KMM = kirchoff modificado DPA = dextrose-peptona-ágar, MAM = meio de Arroz modificado e MA = meio de Arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando o grão de arroz esterilizado como meio de cultura para produção de inóculo do fungo, observou-se que a maior esporulação de *R. areola* isolado IMA244 foi obtida em meio de cultura de grão de arroz, seguido do grão de arroz com 1% de dextrose (Tabela 3). Quanto ao período de cultivo, foi verificado que aos 28 dias o isolado IMA244 apresentou a maior produção de conídios. Entretanto, Suassuna (2006) verificou que o isolado Ra062 de *R. areola* apresentou maior esporulação em arroz, quando cultivado durante sete dias. Esse meio de cultura, além da facilidade de obtenção, é utilizado para fermentação de agentes de biocontrole (LUCON et al., 2009). Também se deve considerar o baixo custo e a facilidade de obtenção do ingrediente constituinte do meio de cultura.

Tabela 3. Efeito do meio de cultura de arroz e do período de incubação (7, 14, 21 e 28 dias) na esporulação (conídio mL⁻¹) de *Ramularia areola* isolado IMA244.

Incubação (dias)	Concentração de conídios (conídios mL ⁻¹)	
	Arroz + Dextrose	Arroz
7	6,5x10 ⁵ c	1,6x10 ⁵ b
14	5,3x10 ⁶ c	5,3x10 ⁶ b
21	2,0x10 ⁷ b	2,9x10 ⁷ b
28	8x10 ⁷ a	3,3x10 ⁸ a
CV (%)	17,4	17,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliação da germinação de conídios de *R. areola in vitro*

Os isolados 44, IMA244 e IMA237 de *R. areola* apresentaram 84,1%, 79,3% e 81,9% de germinação de esporos após 15 h de incubação, quando cultivados em meio de cultura extrato de malte (Tabela 4). Os conídios de *R. areola* germinaram após 12 h da inoculação em folhas de algodoeiro (RAHTAIAH, 1977; CURVELO, 2009). Brunelli et al. (2005) verificaram que sob alta umidade relativa e temperatura entre 28 e 32 °C a germinação dos esporos de *Stenocarpella macrospora* ocorre entre 12 e 15 h, após a sua deposição em folha de milho. Segundo Lopez & Pereira (2010), o patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*,

após 24 h de inoculação sobre folhas do ecótipo PI de pinha (*Annona squamosa* L.), apresentou 80% de germinação e 50% de formação de apressórios, sendo que após 48 h se verificou sintomas da doença..

Tabela 4. Germinação de conídios dos isolados 44, IMA244 e IMA 237 de *Ramularia areola*.

Incubação (h)	Germinação (%)		
	44	IMA244	IMA237
7	6,3d	7,1e	0,0d
9	24,9c	20,9d	0,0d
11	49,3b	48,2c	18,6c
13	60,0b	62,1b	50,6b
15	84,1a	79,3a	81,9a
CV	9,5	5,7	11,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Identificação molecular do isolado IMA244

Com relação a identificação molecular do patógeno, foi verificado que o isolado IMA244 de *R. areola* apresentou 99% de similaridade quando comparado com as sequências da região ITS 1 de *Mycosphaerella areola* existentes no National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Avaliação de genótipos em telado

Houve interação entre genótipo x isolados de *Ramularia* ($p < 0,001$). Assim, foi verificada a variação de genótipos quanto à resistência e suscetibilidade ao patógeno. Também foi verificada a existência de especificidade de isolados com relação aos genótipos, sendo que o isolado IMA244 foi mais agressivo em alguns genótipos e o isolado IMA237 em outros. Nos genótipos de algodoeiro inoculados com os isolados IMA244 e IMA237 de *R. areola*, observou-se que todos diferiram significativamente entre si (Tabela 5). Os genótipos de algodoeiro LD CV 03, BRS 336, IAC 08-2031 e IMA CD 03-1661 apresentaram os maiores índices de AACPS da mancha de ramularia (45,03 a 36,58), quando comparados com os demais tratamentos, demonstrando alta suscetibilidade à doença. Lima

(2007), estudando o comportamento de genótipos a mancha de ramularia verificaram que Delta Opal, Makina e Sure Grow 821 foram suscetíveis a *R. areola*, sendo que os materiais Delta Penta e Deltapine Acala 90 foram mais resistentes. Galbieri (2008), testando vários genótipos em diferentes regiões no Brasil nos anos agrícolas de 2004/2005 e 2005/2006, também observou que as cultivares Delta Opal e Makina foram suscetíveis à mancha de ramularia, com destaque para a cultivar Makina que apresentou altos índices da doença em locais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno.

Tabela 5. Efeito de genótipos de algodoeiro na área abaixo da curva do progresso da severidade, quando inoculados com os isolados IMA 244 e IMA 237 de *Ramularia areola*.

Genótipo	IMA 244	IMA 237
LD CV 12	181,8gB	221,4deA
CNPA GO 2006-174	155,9gA	116,7hB
FM 993	193,4gA	179,5fgA
IAC 08/90	214,1fgA	200,4efA
NUOPAL	242,8efA	221,6deA
PRGOA 03-231-04	184,4fgB	252,2cdA
DP 604 BG	277,7deA	252,7cdA
FMT 709	28,1iB	41,3iA
FM 910	95,5hB	214,0eA
BRS 2080	332,6cdA	162,3gB
IMA CD 05-8276	11,5iA	5,2jB
CNPA 2007-419	17,8iA	13,2ijB
IPR Jataí	541,8aA	380,3bB
LD CV 03	480,3bA	508,2aA
BRS 336	385,9cA	366,1bA
IAC 08-2031	539,2aA	487,3aB
IMA CD 03-1661	523,6abA	257,7cB
FMT 705	22,3iA	14,8ijB
CV (%)	9,17	5,6

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os genótipos IMA CD 05-8276 e CNPA 2007-419 apresentaram os menores índices de AACPS da Mancha de ramularia (11,5 e 17,8, respectivamente) quando

inoculados com o isolado IMA 244. Resultado semelhante foi verificado com os genótipos IMA CD 05-8276, CNPA 2007-419 quando inoculados com o isolado IMA 237 (5,2 e 13,2, respectivamente). Portanto, estes genótipos demonstraram possuir a característica de resistência ao patógeno, quando inoculados com os isolados IMA 237 e IMA 244 de *R. areola* e comparados aos demais genótipos avaliados (Tabela 5). Maranhã et al. (2002) verificaram que dentre as 16 cultivares avaliadas a BRS Facual apresentou a maior resistência a mancha de ramularia. Estudos realizados por Novaes et al. (2011) verificaram que a herança de resistência à mancha de ramularia é monogênica.

Cia et al. (2014), avaliando o comportamento de genótipos a mancha de alternaria, verificaram que os genótipos IAC 08-2031, FMT 709 e BRS 336 foram resistentes a doença. Enquanto que os genótipos mais suscetíveis foram FMT 705, IMA CD 08-12427 e DP 555 BG RR. Os autores ressaltam o risco potencial do uso de cultivares que apresentaram suscetibilidade, em ambientes sabidamente propensos a incidências severas dessa doença.

Os resultados observados no presente trabalho diferem quanto à suscetibilidade das cultivares quando comparado com a literatura, indicando a importância de estudos em diferentes localidades considerando a variação da patogenicidade dos isolados prevalente.

Avaliação de agentes de biocontrole

Observou-se interação entre tratamento x local ($p < 0,001$) quando se avaliou a área abaixo da curva do progresso da severidade da mancha de ramularia. Somente o tratamento fungicida, no Mato Grosso, diferiu estatisticamente dos demais tratamentos. Quando se avaliou o local, observou-se que houve maior pressão da doença no Mato Grosso, onde para todos os tratamentos a severidade foi maior que na Bahia (Figura 1). Observa-se que há uma redução no progresso da doença somente com o tratamento fungicida (Figura 2).

A aplicação foliar de agentes de biocontrole em algodoeiro cultivar FM 951LL não apresentou diferença estatística para a área abaixo da curva do progresso da severidade (Tabela 6) e produtividade (Tabela 7), quando comparado com o tratamento testemunha. Somente o tratamento fungicida, no Mato Grosso, diferiu estatisticamente dos

demais tratamentos. Esses resultados diferem dos obtidos por Duarte et al. (2007) e Freitas et al. (2007), os quais verificaram que a aplicação foliar de *T. viride* reduziu a severidade da mancha de ramularia, quando aplicado isolado ou em associação a fungicida. Pesquisas comprovam que *Trichoderma* é eficiente, prático e seguro quanto aos métodos de aplicação, biocontrole e promoção de crescimento vegetal, no entanto, na prática a sua aplicação ainda é restrita (MACHADO et al., 2012). Entretanto, há necessidade de desenvolver mais estudos para a mancha de ramularia.

Tabela 6. Efeito de agentes de biocontrole na área abaixo da curva do progresso da severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro, cultivar FM 951LL cultivadas em Primavera do Leste, MT e em São Desiderio, BA.

Produto	MT	BA
	Testemunha	2471,7aA
<i>Trichoderma harzianum</i> – Trichodermil SC	2015,3aA	42,83aB
<i>T. harzianum</i> – Trichodermil SP	2237,5aA	43,08aB
<i>Trichoderma asperellum</i> – Quality WG	2130,3aA	47,72aB
<i>T. asperellum</i> – Trichodermax	2024,8aA	45,22aB
<i>Bacillus subtilis</i>	2067,3aA	51,00aB
<i>Clonostachys rosea</i>	2151,2aA	50,75aB
Fungicida	1269,3bA	23,33aB
CV (%)	9,12	30

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quando analisado os parâmetros altura e peso de capulho (Tabela 7), peso de 100 sementes (Tabela 8), rendimento de fibra e comprimento da fibra (Tabela 9), micronaire e resistência (Tabela 10) não houve diferença estatística entre os tratamentos, mas houve diferença entre localidades. Sendo que para quase todos os parâmetros, o ensaio conduzido no Mato Grosso apresentou ser diferente estatisticamente quando comparado com o ensaio conduzido na Bahia na safra 2011/2012.

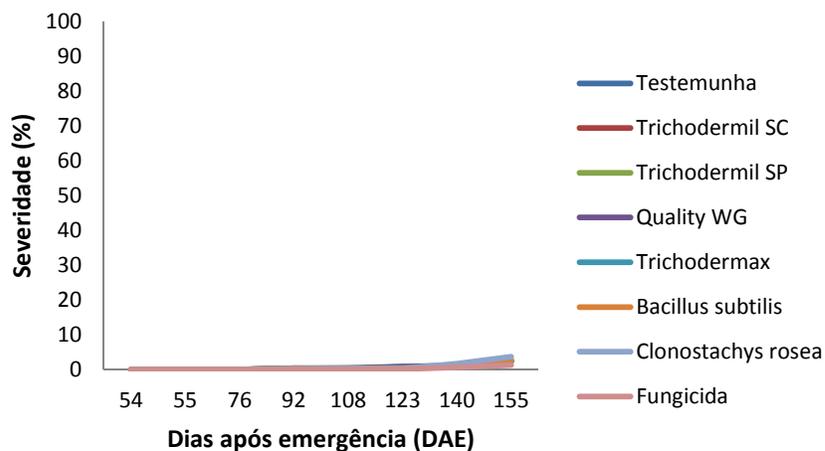


Figura 1. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro tratadas com agentes de biocontrole, Correntina, Bahia. *Trichoderma harzianum* (Trichodermil) e *Trichoderma asperellum* (Trichodermax e Quality).

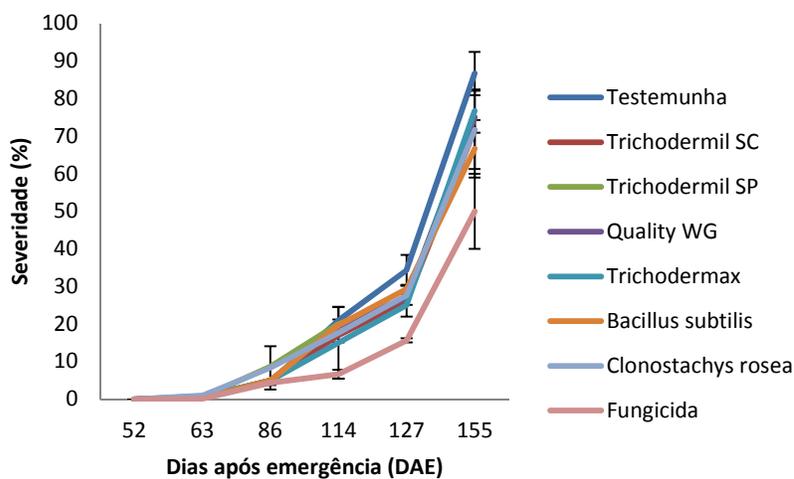


Figura 2. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro tratadas com agentes de biocontrole, Primavera do Leste, Mato Grosso. *Trichoderma harzianum* (Trichodermil) e *Trichoderma asperellum* (Trichodermax e Quality).

Tabela 7. Efeito de agentes de biocontrole na altura (cm) de e no peso de capulho (g) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.

Produtos	MT	BA	MT	BA
	Altura (cm)		Peso de Capulho (g)	
Testemunha	118,0aA	71,97aB	6,3aA	5,14aB
<i>Trichoderma harzianum</i> - Trichodermil SC	125,7aA	67,13aB	6,1aA	5,16aA
<i>T. harzianum</i> -Trichodermil SP	124,3aA	61,53aB	6,3aA	5,18aB
<i>Trichoderma asperellum</i> - Quality WG	127,3aA	67,07aB	6,4aA	5,36aB
<i>T. asperellum</i> -Trichodermax	123,7aA	65,77aB	6,1aA	5,23aB
<i>Bacillus subtilis</i>	122,7aA	64,70aB	5,8aA	5,71aA
<i>Clonostachis rosea</i>	126,3aA	69,50aB	6,5aA	5,08aB
Fungicida	120,3aA	65,20aB	6,2aA	5,00aB
CV (%)	3,4	7	4,5	8,9

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Efeito de agentes de biocontrole no peso de 100 sementes (g) e na produtividade de algodão em caroço (kg parcela⁻¹) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.

Produtos	MT	BA	MT	BA
	100 sementes (g)		Produtividade kg parcela ⁻¹	
Testemunha	9,6aB	10,53aA	3,12cA	1,53bB
<i>Trichoderma harzianum</i> Trichodermil SC	9,6aB	10,68aA	3,49bcA	1,60bB
<i>T. harzianum</i> Trichodermil SP	9,6aB	10,50aA	3,48bcA	1,68bB
<i>Trichoderma asperellum</i> Quality WG	9,5aB	10,68aA	3,53bcA	1,57bB
<i>T. asperellum</i> Trichodermax	9,7aA	10,33aA	3,33bcA	1,73bB
<i>Bacillus subtilis</i>	9,5aB	10,96aA	3,35bcA	1,68bB
<i>Clonostachis rosea</i>	9,5aB	10,25aA	3,65abA	1,699bB
Fungicida	9,5aB	10,30aA	4,02aA	2,08aB
CV (%)	1,4	1,6	4,3	5,2

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. .

Tabela 9. Efeito de agentes de biocontrole no rendimento de fibras (%) e no comprimento da fibra (pol) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.

Produtos	MT	BA	MT	BA
	Rendimento (%)		Comprimento (pol)	
Testemunha	41,8aB	44,37aA	1,12aA	1,05aB
<i>Trichoderma harzianum</i> Trichodermil SC	42,0aA	45,21aA	1,13aA	1,05aB
<i>T. harzianum</i> Trichodermil SP	41,5aB	43,25aA	1,12aA	1,06aB
<i>Trichoderma asperellum</i> Quality WG	41,6aA	44,04aA	1,11aA	1,03aB
<i>T. asperellum</i> Trichodermax	42,3aA	43,14aA	1,13aA	1,06aB
<i>Bacillus subtilis</i>	42,9aA	43,11aA	1,11aA	1,06aB
<i>Clonostachis rosea</i>	41,5aB	43,63aA	1,12aA	1,03aB
Fungicida	41,4aB	43,80aA	1,11aA	1,07aB
CV (%)	1,6	1,6	1,7	1,7

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10. Efeito de agentes de biocontrole no Micronaire (mg/pol) e na resistência da fibra (gf/tex) de plantas de algodoeiro cultivadas em Primavera do Leste, MT e São Desiderio, BA.

Produtos	MT	BA	MT	BA
	Micronaire (mg/pol)		Resistência (gf/tex)	
Testemunha	4,1bB	5,10aA	30,9aA	28,60aB
<i>Trichoderma harzianum</i> Trichodermil SC	4,7aA	5,00aA	31,2aA	29,70aA
<i>T. harzianum</i> Trichodermil SP	4,4abB	4,77aA	31,5aA	27,70aB
<i>Trichoderma asperellum</i> Quality WG	4,5abB	4,83aA	31,4aA	29,80aA
<i>T. asperellum</i> Trichodermax	4,3abA	4,73aA	32,1aA	27,93aB
<i>Bacillus subtilis</i>	4,3abB	4,77aA	31,0aA	29,37aA
<i>Clonostachis rosea</i>	4,5abA	4,93aA	30,6aA	27,87aA
Fungicida	4,5abA	4,90aA	30,9aA	28,90aB
CV (%)	3,6	3,2	1,3	3,2

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliação de genótipos safra 2011/12

Nos ensaios conduzidos na safra 2011/2012, em São Desiderio, o genótipo CNPA GO 1265 tratado com fungicida apresentou a menor severidade quando comparada com os demais tratamentos, entretanto, não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 11). Quando analisado os genótipos tratados e não tratados com fungicidas somente os genótipos BRS 293 e FMT 701 apresentaram diferença estatística, respondendo a aplicação de fungicida.

Nos ensaios conduzidos na safra 2011/2012, em Santa Helena de Goiás os genótipos CNPA GO 419, BRS 272 e CNPA GO 1265 apresentaram os menores índices de severidade, não diferindo estatisticamente quando tratado ou não tratado com fungicida. Demonstrando nestas condições tolerantes a doença (Tabela 12). Entretanto, Os genótipos BRS 193 e FMT 701 apresentaram menor severidade quando tratadas com fungicidas.

Tabela 11. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Desiderio, BA.

Genótipo	AACPS	
	Com fungicida	Sem Fungicida
CNPA GO 1381	55,50aA	58,25abA
CNPA GO 419	20,66bA	67,50aA
BRS 293	15,83bB	83,00aA
BRS 272	14,41bA	39,57abA
CNPA GO 1265	15,65bA	11,38bA
FMT 701	15,83bB	63,16aA
Média	22,98	53,81

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 12. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Santa Helena de Goiás, Goiás.

Genótipo	AACPS	
	Com fungicida	Sem Fungicida
CNPA GO 1381	37,33cB	100,33cA
CNPA GO 419	17,50cA	12,83cA
BRS 293	697,67aB	1082,67aA
BRS 272	21,00cA	18,67cA
CNPA GO 1265	37,33cA	53,67cA
FMT 701	394,33bB	627,67bA
Média	200,86	315,97

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Nos ensaios conduzidos na safra 2011/2012, em Primavera do Leste, em cultivo safra, somente o genótipo BRS 272 não apresentou diferença estatística quando tratado e não tratado com fungicida. Os genótipos CNPA GO 419, CNPA GO 1265, BRS 293 e FMT 701 apresentaram os menores índices de severidade quando tratadas com fungicidas (Tabela 13). Estes dados demonstram que a aplicação de fungicida associada a genótipo tolerante contribuiu para reduzir a severidade da doença. Entretanto, os maiores índices de severidade foram verificados nos genótipos BRS 293 e FMT 701.

Nos ensaios conduzidos na safra 2011/2012, em Primavera do Leste, em cultivo de segunda-safra, os genótipos CNPA GO 1381, CNPA GO 419, BRS 272 e CNPA GO 1265 não apresentaram diferença estatística quando tratados e não tratados com fungicida (Tabela 14). O genótipo CNPA GO 1265 apresentou os menores índices de severidade. Entretanto, os maiores índices de severidade foram verificados nos genótipos BRS 293 (2305,57) e FMT 701 (1777,30) quando não tratados com fungicida.

Cia et al. (2009) avaliaram 18 genótipos em 33 experimentos instalados nas principais regiões produtoras de algodão no Brasil e verificaram que 61% dos genótipos apresentaram moderada a alta suscetibilidade e somente 29% foram classificados como moderadamente resistentes a mancha de ramularia. Segundo MONTEIRO (2002), a área sob a curva de progresso da ramulose no algodoeiro, apresentou elevada correlação com a

perda de rendimento de algodão em caroço, sendo esta, uma boa variável para a estimativa dos danos causados pela doença.

Tabela 13. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Primavera do Leste, Mato Grosso (safra).

Genótipo	AACPS	
	Com fungicida	Sem fungicida
CNPA GO 1381	67,20cB	209,4cA
CNPA GO 419	87,17cB	397,2cA
BRS 293	949,48aB	3203,5aA
BRS 272	88,28cA	132,3cA
CNPA GO 1265	43,42cB	182,1cA
FMT 701	685,83bB	2550,3bA
Média	320,23	1112,46

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 14. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha de ramularia em genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicida em Primavera do Leste, Mato Grosso (segunda-safra).

Genótipo	AACPS	
	Com fungicida	Sem fungicida
CNPA GO 1381	45,73cdA	112,08cA
CNPA GO 419	86,50bA	123,92cA
BRS 293	974,5aB	2305,57aA
BRS 272	81,13bcA	86,33cA
CNPA GO 1265	37,38dA	82,17cA
FMT 701	990,33aB	1777,30bA
Média	369,26	747,89

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Cia et al. (2008) verificaram que as cultivares CNPA ITA 90 e BRS Ipê apresentaram resistência a mancha de ramularia no Estado de São Paulo. Galbieri (2008) verificou que o genótipo CNPA CO 99-11612 na safra 2004/2005 e os genótipos IAC 03-

2281, FMT 702, CNPA CO 00-337, COODETEC 410, EPAMIG 24-5-78, FIBERMAX 966 na safra 2005/2006, apresentaram resistência a Mancha de ramularia.

Penzetti et al. (2013) verificaram que as linhagens de algodoeiro CNPA BA-2003-2059 e FMT 02102996 apresentaram reação de suscetibilidade, quando inoculados com os isolados 13.2, 17.5 e 58.4 de *R. areola*. Entretanto, foi verificada reação de resistência para os demais isolados avaliados. Cia et al. (2013), conduzindo ensaios a campo em Ituverava-SP e Primavera do Leste-MT, verificaram indicativo da ocorrência de variação genética do patógeno. Segundo Rathaiah (1976), existe variação na agressividade dos isolados de *R. areola*. Girotto et al. (2013) recomendam que para a seleção de linhagens, deve-se realizar a inoculação utilizando diferentes isolados de *R. areola*, possibilitando assim a obtenção de uma cultivar com ampla resistência a Mancha de ramularia.

Avaliação de genótipos safra 2012/13

Com base nos ensaios anteriores foram selecionados dois genótipos de algodoeiro, sendo que a cultivar BRS 293 foi considerada suscetível e a cultivar BRS 272 resistente a mancha de ramularia. Quando analisada a área abaixo da curva do progresso da severidade, verificou-se que houve interação entre genótipo x tratamento ($p < 0,001$). Verificou-se que as aplicações de fungicida e Quality reduziram significativamente a AUDPC em relação à testemunha, mas a redução com fungicida foi estatisticamente maior (Tabela 15). Conforme esperado, observou-se ainda diferença significativa entre os genótipos, sendo que o genótipo BRS 272 foi mais resistente a mancha de ramularia (Tabela 15). Na Figura 3, observa-se que houve redução da taxa de progresso da doença com a aplicação de fungicida e o produto Quality. Verificou-se que a cultivar BRS 272 com a aplicação de fungicida apresentou a menor índice de severidade, mas, não diferiu dos tratamentos sem aplicação e com aplicação de *T. asperellum* (Figura 3). Entretanto, estes tratamentos diferiram estatisticamente quando comparado com a cultivar BRS 293. Portanto, pode-se verificar que a utilização de cultivar resistente ou tolerante a mancha de ramularia, associado a outro método de controle, como o biológico, propiciou a redução da severidade da doença.

Tabela 15. Efeito de genótipos de algodoeiro tratados e não tratados com fungicidas e *Trichoderma asperellum* (Quality WG) na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) e na produtividade de algodão em caroço (kg parcela⁻¹) cultivados em Sapezal, MT.

Tratamento	AUDPC		Produtividade	
	BRS 293	BRS 272	BRS 293	BRS 272
Testemunha	2322,2aA	157,4aB	2,83aB	3,92aA
Quality	1806,2bA	136,7bB	2,55aB	3,64aA
Fungicida	1307cA	66,8cB	2,99aB	3,79aA
CV	7,3		6,6	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação ao parâmetro produtividade, houve diferença significativa ($p < 0,001$) somente para o fator genótipo, ou seja, independente da aplicação dos tratamentos ou não, a produtividade da cultivar BRS 272 foi sempre maior que a cultivar BRS 293. Verificou-se que os tratamentos com a cultivar BRS 272 sem e com aplicação de fungicida e com aplicação de *T. asperellum* não apresentaram diferença estatística entre si. Mas quando comparado com os tratamentos composto pela cultivar BRS 293, verificou-se que houve diferença estatística, ou seja, mesmo com a aplicação de fungicida e de agente de biocontrole, a cultivar suscetível apresentou menor produtividade e, conseqüentemente, maior severidade da doença. Por outro lado, o tratamento com fungicida reduziu em 43,72% a área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) e propiciou o incremento de 14,86% em produtividade, quando comparado com o tratamento composta da cultivar BRS 293 sem aplicação. Entretanto, há necessidade de realizar estudos de viabilidade econômica para se recomendar o tratamento.

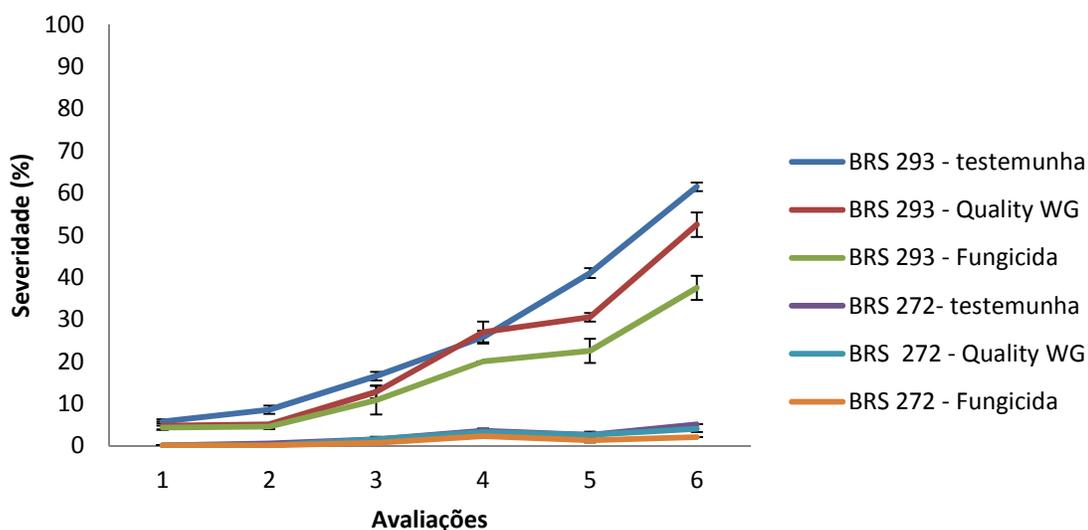


Figura 3. Severidade da mancha de ramularia em plantas de algodoeiro sem tratamento, tratadas com agentes de biocontrole (*Trichoderma asperellum* – Quality) e com fungicida, Sapezal, Mato Grosso.

Segundo Cia et al. (2005), justifica-se a grande preocupação da cotonicultura nacional com respeito às doenças, uma vez que estas constituem um dos principais problemas da cultura em determinadas regiões do país, chegando a provocar grandes perdas em cultivares suscetíveis. Bell (1981) cita que a forma mais eficiente de controle da Mancha de ramularia é a utilização de cultivares resistentes. Em alguns experimentos realizados na Índia por Lakshmann & Vidhyasekaran (1990), no qual avaliaram 1000 genótipos de algodoeiro em campo e 58 em casa de vegetação, obtendo respectivamente 16,6 e 27 % de genótipos resistentes. Adicionalmente, existem trabalhos mostrando a existência de genótipos que se apresentaram como imune a *R. areola* (AURANGABADKAR et al., 1981; MUKEWAR et al., 1995; MUKEWAR & MAYEE, 2001).

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem afirmar que a utilização de um único método de controle não é a opção mais adequada para o controle da Mancha de ramularia, mas sim o desenvolvimento de sistema de manejo integrado onde se deve incluir: a) Controle de plantas voluntárias no período de entressafra, visando à redução do inóculo inicial; b) Plantio na época recomendada para a região de cultivo; c) Utilização de

cultivares tolerantes ou resistentes a doença; d) Utilização de fertilizantes e regulador de crescimento para que as planta expresse o máximo do potencial produtivo, devido a manutenção da sanidade; e) Monitoramento dos sintomas da doença, visando à correta tomada de decisão; f) Utilização de fungicida e ou de agente de biocontrole, quando necessário, conforme a recomendação do fabricante. Ou seja, o manejo integrado de doenças deve fazer parte do sistema produtivo do algodoeiro no Brasil.

5. CONCLUSÃO

1) Os meios de cultura Extrato de malte (2%), V8 e BDA são indicados para o cultivo de *Ramularia areola*.

2) Existe variação quanto ao comportamento dos genótipos de algodoeiro a Mancha de ramularia.

3) Dos genótipos avaliados a cultivar BRS 272 apresentou ser resistente à doença e a cultivar BRS 293 apresentou se altamente suscetível à doença.

4) A utilização de fungicida e *Trichoderma asperellum* (Quality WG) propiciaram redução da severidade da doença em cultivar suscetível e resistente a doença..

5) A integração dos métodos de controle é recomendada para o correto manejo da mancha de ramularia do algodoeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P. M. C.; CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. Controle químico de doenças em algodão no mato Grosso. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 361-363, 1999.

AQUINO, L. A.; BERGER, P. G.; RODRIGUES, F. A.; ZAMBOLIM, L.; OGOSHI, F.; MIRANDA, L.M.; LÉLIS. M. Controle alternativo da mancha de ramularia do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. 131-136, 2008a.

AQUINO, L. A.; BERGER, P. G.; RODRIGUES, F. A.; ZAMBOLIM, L.; HERNANDEZ, J. F. R.; MIRANDA, L.M. Elaboração e validação da escala diagramática para a quantificação da mancha de ramularia do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. 361-363, 2008b.

AURANGABADKAR, J. H.; SHUKLA, V. N.; WANGIKAR, P. D. Reaction of some cotton varieties against grey mildew caused by *Ramularia areola*. **Indian Phytopathology**, New Dehli, v. 34, p. 244, 1981.

BARROS, R.; DEGRANDE, P. E.; SORIA, M. F.; RIBEIRO, J. S. F. Ocorrência de manchas foliares causadas por fungos e bactérias em cultivares de algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Brasília, v. 38, p. 297-303, 2008.

BEDENDO, I. P.; MASSOLA JR, N. S.; AMORIM, L. controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In. AMORIM, L.; REZENDEM J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**, v. 1. Princípios e Conceitos. 4. ed. Piracicaba: Ed. Ceres, p. 367-387, 2011.

BELL, A. A. The time sequence of defense. In: J.G. HORSFALL AND E.B. COWLING (Eds.). **Plant Disease: An Advanced Treatise, Vol. V, How Plants Defend Themselves**. New York: Academic Press, 1980. p. 53-73.

BELL, A. A. Areolate mildew. In: WATKINS, G.M. **Compendium of cotton disease**. New York: Academic Press, p. 32-35, 1981.

BELL, A. A.; HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Cotton host-microbe interactions. In: STEWART, J. M.; OOSTERHUIS, D.; JAMES, J.; HEITHOLT, J. J.; MAUNEY, J. R. (Eds.) **Physiology of Cotton**. New York, Springer Dordrecht Heidelberg, p. 187-205, 2010.

BELLOT, J. L.; ZAMBIASI, T. C. **Manual de identificação das doenças, deficiências minerais e injúrias no cultivo algodoeiro**. Cascavel: COODETEC/ CIRAD-CA, 2007. 95p. (Boletim Técnico, 36).

BELTRÃO, N. E. M. **O agronegócio de algodão no Brasil**. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Brasília, 2008. 85 p.

BOREM, A., MIRANDA, G. M., Melhoramento visando à resistência a doenças. In: BOREM, A., MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. UFV: Viçosa, 2013. p. 383-412

BRUNELLI, K. R., ATHAYDE SOBRINHO, C., CAVALCANTI, L. S., FERREIRA, P.T.O. & CAMARGO, L.E.A. Germinação e penetração *Stenocarpella macrospora* em folhas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 187-190. 2005.

CAMARGO, L. E. A. Controle Genético. In. AMORIM, L.; REZENDEM J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**, v. 1. Princípios e Conceitos. 4. ed. Piracicaba: Ed. Ceres, p. 325-341, 2011.

CARRETERO, D. M.; SIQUERI, V. F. Resistência preservada. **Revista Cultivar**, Pelotas, p. 28-30, 2011.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. **Doenças do Algodoeiro: Diagnose e Controle**. 2. ed., Várzea Grande, MT, UNIVAG, UFMT/FAMEV. 2006. 63p.

CHITARRA, L. G. **Identificação e controle das principais doenças do algodoeiro**. 2. ED. Embrapa Algodão: Campina Grande, 2008. 84p.

CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 3, p. 167-193, 1977.

CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Ed. Ceres, v.2, p. 33-48, 1997.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; CHIAVEGATO, E. J.; FARIAS, F. J. C.; ARAÚJO, A. E. Desempenho de cultivares e linhagem de algodoeiro diante da incidência de *Ramularia*. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 1999, Ribeirão Preto. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999. p. 468-470.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; ALMEIDA, W. P.; RUANO, O.; KONDO, J. I.; PIZZINATTO, M. A.; CARVALHO, L. H.; ROSSETO, R.; KASAI, F.S.; FOLTRAN, D. E. Resistência genética a doenças e nematóides em genótipos de algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n.4, p. 323-326, 2005.

CIA, E.; FUZATTO, G. M.; KONDO, J. I.; SABINO, N. P.; GALBIERI, R.; LUDERS, R.; CARVALHO, L. H.; ITO, M. I.; ERISMANN, N. M.; CHIAVEGATO, E.; BOLONHESI, D.; FOLTRAN, D. E.; KASAI, F. S.; BORTOLETTO, N. Comportamento de genótipos de algodoeiro no Estado de São Paulo: Produtividade, resistência a doenças e qualidade de fibra. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 326-331, 2008.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; MARTINS, A.L.; MICHELOTTO, M. D.; ALMEIDA, W. P.; OLIVERIA, A. P. Reação de genótipos de algodoeiro à incidência da mancha de *Ramularia*

em condições naturais de infestação. In: Congresso Brasileiro do Algodão, 7. 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA/Algodão, p.1452-1455, 2009. 1 CDROM.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; KONDO, J. I.; OHL, G. A.; GALBIERI, R. Reação de genótipos de algodoeiro à mancha de *Ramularia* em diferentes épocas e ambientes. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.39, n.3, p.193-197, 2013.

CIA, E.; FUZATTO, M. G.; ALMEIDA, W. P.; KONDO, J. I.; ITO, M. F.; DIAS, F. L. F. Reação de genótipos de algodoeiro à mancha-da-alternária. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.40, n.1, p.81-83, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **CONAB**. Disponível em: (<<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&>> Acesso em: 15 mai. 2014.

CROUS, P. W., SUMMERELL, B. A., CARNEGIE A., MOHAMMED, C., HIMAMAN, W. and GROENEWALD, J. Z. Follicolous *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs on *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Fungal Diversity** Mae Taeng, v. 26, p. 143-185, 2007.

CURVÊLO, C. R. S. **Processo infeccioso de *Ramularia areola* em algodoeiro**. 2009. 33p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

DELLAPORTA, S. L.; WOOD, J.; HICKS, J. B. A plant DNA minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 1, n. 4, p. 19-21, 1983.

DUARTE R. P.; JULIATTI, F. C.; FREITAS, P. T. GENÓTIPOS, FUNGICIDAS E TRICHODERMA VIRIDE NO CONTROLE DA MANCHA DE RAMULÁRIA, FERRUGEM E PODRIDÃO DE MAÇÃS, EFEITO NA PRODUTIVIDADE DO ALGODOEIRO. Congresso Brasileiro do Algodão, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/cba6/trabalhos/Fitopatologia/Trabalho%20F17.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2014.

EHRlich, J.; WOLF, F. A. Areolate mildew of cotton. **Phytopathology**, St. Paul, v. 22, p. 229-240, 1932.

FREIRE, E. C. História do algodão no Cerrado. In: Freire, E. C. (Ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**, Brasília, p. 23-61. 2011.

FREIRE, E. C.; MORELLO, C. L.; FARIAS, F. J. C. Melhoramento do algodoeiro e cultivares obtidas para o Cerrado. In: FREIRE, E. C. **Algodão no Cerrado do Brasil**. 2. ed. Aparecida de Goiânia: Mundial gráfica, 2011. p. 345-412.

FREITAS, P. T.; JULIATTI, F. C.; DUARTE, R. P. Fungicidas e o fungo *Trichoderma viride* no controle da Mancha de ramularia, ferrugem e Podridão de maçãs do algodoeiro, efeitos na produtividade e qualidade de fibra. Congresso Brasileiro do Algodão, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/cba6/trabalhos/Fitopatologia/Trabalho%20F22.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2014.

GALBIERI, R. **Comportamento de genótipos de algodoeiro na presença de patógenos e nematoides**. 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola). IAC. Campinas, 2008.

GIROTTO L.; MARANGONI, M. S.; MATOS, J. N.; GALBIERI, R.; ALMEIDA, W. P.; MEHTA, Y. R. Identification of Phenotypic and Genotypic Variability among the Isolates of *Ramularia areola* of Brazilian Cotton. **American Journal of Plant Sciences**, p. 1893-1898, 2013.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews. Microbiology**, London, v. 2, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 96, p.190-194, 2006.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. **Algodão IAC 25 RMD**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/graos/algodao.php>>. Acesso em: 26 maio 2014.

IAMAMOTO, M. M. **Doenças foliares do algodoeiro**. Editora Funep, 1. ed. 2003. 41p.

LAKSHMANAN, P.; VIDHYASEKARAN, P. Resistance of cotton genotypes to grey mildew (*Ramularia areola* Atk.) in Tamil Nadu, India. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Rostock, v. 97, n. 5, p. 444-447, 1990.

LIMA, L. L. **Reação de cultivares de algodoeiro a *Ramularia areola* Atk.** 2007. 32 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: Produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 15-28.

LOPEZ, A. M. Q.; PEREIRA, D. S. T. A. Interação entre *Colletotrichum gloesporioides* e ecótipos de pinha. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.1, p.105-114, 2010.

LUCENA, V. S. Caracterização da resistência de algodoeiro a *Ramularia areola* e variabilidade molecular do patógeno. 2007. 78 f. Dissertação (Mestre em Genética e Biologia Molecular). UFRN. 2007.

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M., ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.

JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. C. **Manejo integrado de doenças na cotonicultura brasileira**. 1. ed. Uberlândia, MG, Edufu – UFU. 2003. 142p.

MACHADO, D. F. M., PARZIANELLO, F. R., SILVA, A. C. F., ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias** . Recife, v. 35, n. 1, 26: 274-288, 2012.

MARANHA, F. G. C. B.; RAMALHO, M. A. P.; FARIAS, F. J. C. Estratégias de análise da reação de cultivares de algodoeiro a patógenos. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.6, n.2, p.565-575, 2002.

MEHTA, Y. R.; ARIAS, C. A. A. Herança da resistência a *Stemphylium solani* e insensibilidade a sua fitotoxina em cultivares de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 761-765, 2001.

MENTEN, J. O. M.; MARQUES. Influência do inóculo, meio de cultura e regime de luz no desenvolvimento micelial e esporulação de *Micosphaerella fragariae* (Tul.) Lind. (*Ramularia tulasnei* Sacc.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4, p. 63-71, 1979.

MEHTA, Y. R.; MENTEN, J. O. M. Doenças e seu controle. In: MORESCO, E. (Ed.). **Algodão – Pesquisas e Resultados para o Campo**. v. 2, Cuiabá - MT, FACUAL, p.157-205, 2006.

MONTEIRO, J. E. B. A. Microclima e ocorrência de Ramulose no algodoeiro em diferentes densidades populacionais. 2002. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração: Física do Ambiente Agrícola). USP. 2002.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 07-14.

MUKEWAR, P.M.; MAYEE, C.D. Grey mildew immune cotton germplasm lines registered. **Indian Phytopathology**, New Dehli, v. 54, n. 1, p. 141, 2001.

MUKEWAR, P. M.; RAJ, S.; SINGH, V. V.; ANAP, G. R. Screening of tree cotton (*Gossypium arboreum*) germplasm to grey mildew caused by *Ramularia areola*. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Dehli, v. 65, n. 4, p. 298-300, 1995.

NASCIMENTO, J. F. Progresso da mancha de ramularia (*Ramularia areola* Atk.) do algodoeiro. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, XXXIII, 2000, Belém. **Resumos ...** Belém, 2000. p. 399.

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

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

PEZENTI, L. F.; BARBOSA, J.; VIEIRA, M. A.; MARANGONI, M. S.; VOLPONIL, J.; ALMEIDA, W. P.; GALBIERI, R.; MEHTA, Y. R. Phenotypic variability among isolates of *Ramularia areola* from Brazilian cotton. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38 n. 4, p. 329-331, 2013.

POLIZEL, A. C.; JULIATTI, F. C.; PENNA, J. V.; HAMAWAKI, O. T. Reação de genótipos de algodoeiro à severidade de manchas foliares. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, p. 8-12, 2008.

PRADE, A. G.; CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. Controle químico de doenças em algodão no mato Grosso,. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 34, 2001, São Pedro. **Resumos...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2001. p.333.

PUPIM, O. J.; SCHUSTER, I.; PIRES, E.; BELOT, J.; SILVIE, P.; CHITARRA, L. G.; HOFFMANN, BARROSO, P. A. V. Herança de resistência do algodoeiro à doença azul. In: Congresso Brasileiro do Algodão, n. 6, 2007, Uberlândia. **Anais**. Uberlândia: EMBRAPA, 2007.

RATHAIAH, Y. Reaction of cotton species and cultivars to four isolates of *Ramularia areola*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 66, p. 1007-1009, 1976.

RATHAIAH, Y. Spore germination and mode of action of cotton infection by *Ramularia areola*. **Phytopathology**, St. Paul. v. 67, p. 351-357, 1977.

SCHAEDLER, L. S.; ARAUJO, D. V.; ZAVISLAK, F. D.; PIZZATO, J. A.; KRAUSE, W. Eficácia de fungicidas no controle de *Ramularia areola in vitro* e em casa de vegetação. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17; p. 1227-1240, 2013.

SILVEIRA, A.P. Moléstias: fungos e bactérias. In: Neves et al. (Eds). Cultura e adubação do algodoeiro, São Paulo, POTASSA, p. 417-433, 1965.

SIQUEIRA, F. V.; COSTA, J. A. Influência da época de aplicação de fungicidas no controle da mancha de ramularia (*Ramularia areola*) na região de Campo Verde. In: Congresso Brasileiro de algodão, 4., 2003, Goiânia. Algodão, um mercado em evolução – **Anais...** Campina Grande; Embrapa Algodão, 2003. CD-ROM.

SUASSUNA, N. D. **Mapeamento da resistência do algodoeiro à mancha de ramulária (*Ramularia areola*) e variabilidade do patógeno no Estado do Mato Grosso**. Relatório Final. Campina Grande: Embrapa Algodão/Fundação Centro –Oeste, 2006. 13p.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M.; FERREIRA, A. C. B. **Manejo da mancha de *Ramularia* em algodoeiro**. Comunicado Técnico 272. Embrapa Algodão, Campina Grande, 2006.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: Freire, E. C. **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Gráfica Talento, 2007, p. 479-521.

WOO, S.L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 96, p. 181-185, 2006.

ZANDONÁ, C.; MEHTA, Y. R.; SCHUSTER, I.; ALVES, P. F. R.; BOMFETI, C. A.; BIBANCO, K. R. P.; SILVA, R. B.; LOPES, L. P. Mecanismo genético de resistência em três cultivares de algodoeiro a *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n.6, p. 647-649, 2005.

ZANDONÁ, C.; NOVAES, T. G., MEHTA, Y. R., SCHUSTER, I, TEIXEIRA, E. A., CUNHA, E. A. Herança de resistência à *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro brasileiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n.1, p. 76-78. 2006.

ZANDONÁ, C.; NOVAES, T. G.; NUNES, M. P.; ALMEIDA, W. P.; AGUIAR, P.H.; MORELLO, C. L.; SHUSTER, I.; MEHTA, Y. R. Mechanism of resistance and presence of different resistance genes to *Ramularia areola* in two cotton genotypes. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 175-178, 2012.