



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA



DANIEL INSERRA BORTOLIN

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO DE FIBRA BRANCA À *Sclerotinia*
sclerotiorum PELO MÉTODO *STRAW TEST***

UBERLÂNDIA – MG

2018

DANIEL INSERRA BORTOLIN

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO DE FIBRA BRANCA À *Sclerotinia sclerotiorum* PELO MÉTODO *STRAW TEST*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Larissa Barbosa de
Sousa

UBERLÂNDIA – MG

2018

AGRADECIMENTOS

A universidade e seu corpo docente, por proporcionarem um ensino de qualidade, terem possibilitado a minha chegada até aqui e me permitirem vislumbrar novos horizontes.

A minha orientadora, Larissa Barbosa de Sousa, por tornar possível a elaboração deste trabalho, e por todo o apoio durante grande parte da minha graduação.

Aos colegas que ajudaram e tornaram possível a execução deste trabalho.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

Dentre as doenças que não eram consideradas como importantes do ponto de vista econômico, mas que passaram a estar cada vez mais presentes na cultura do algodoeiro, destaca-se o mofo branco, doença fúngica causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Existem vários métodos para avaliação de níveis de tolerância ao mofo branco, entre eles o *straw test* (PETZOLDT; DICKSON, 1996), método já consagrado e muito utilizado na cultura da soja e feijoeiro. O objetivo desse trabalho foi de avaliar genótipos de algodoeiro de fibra branca quanto aos níveis de tolerância ao patógeno *S. sclerotiorum*, através do método *straw test*, além de determinar o melhor tempo de avaliação em horas após a inoculação. Foram realizados dois experimentos conduzidos em épocas diferentes, com temperatura e umidade controladas. Foram avaliados 20 genótipos, sendo 16 linhagens do Programa de Melhoramento de Algodão da UFU (UFU14-A, UFU14-B, UFU14-C, UFU14-D, UFU14-E, UFU14-F, UFU14-G, UFU14-H, UFU14-J, UFU14-K, UFU14-L, UFU14-M, UFU14-N, UFU14-OB, UFU14-P e UFU14-S) e quatro cultivares comerciais (Delta Pine 555 RR, Delta Pine 1227 RR Flex, FMT 705 e TMG-81 WS). As avaliações consistiram em quatro determinações do tamanho (mm) da lesão causada pelo patógeno a 24° C (48, 72, 96 e 120 horas após inoculação). Os dados foram submetidos à análise de variância (Teste F<0,05), teste de agrupamento (teste por Scott; Knott) e regressão. Diferenças genotípicas significativas foram identificadas entre os genótipos em resposta ao patógeno, com interação entre genótipos e tempo de exposição ao patógeno. Para todos os genótipos houve efeito linear com valores de R² acima de 80% e o tempo noventa e seis horas após a inoculação permitiu maior diferenciação dos genótipos em ambas as épocas. Neste tempo, os genótipos 555, UFU14-A, UFU14-E e UFU14-G se destacaram com menores tamanhos de lesões na primeira época, enquanto na segunda época, os genótipos UFU14-B, UFU14-C, UFU14-F, UFU14-H e UFU14-N ficaram no grupo dos que apresentaram menor tamanho de lesão. Não foi observado concordância quanto ao comprimento da lesão para a maioria dos genótipos entre as épocas.

Palavras chave: mofo branco; teste do canudo; *Gossypium hirsutum*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1. Localização, condução e delineamento experimental	7
2.2. Repicagem do fungo e inoculação.....	9
2.3. Avaliações	9
2.4. Análise estatística	9
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4. CONCLUSÃO.....	12
REFERÊNCIAS.....	13

1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das mais importantes para o Brasil, sobretudo para a região Centro-Oeste. É uma cultura em expansão, que possui grande potencial de desenvolvimento e pesquisa. O estado do Mato Grosso é o principal produtor e, na safra 2017/2018, foi responsável por 66% da produção nacional, com 746,5 mil hectares cultivados (CONAB, 2018).

Durante o ciclo, a cultura do algodoeiro passa por inúmeros estresses bióticos e abióticos. Dentre os abióticos são comuns o déficit hídrico e de nutrientes e variações bruscas de temperatura. No caso dos bióticos, destacam-se as doenças Fúngicas, bacterianas, os nematoides, insetos e ácaros praga. Estes agentes são responsáveis por perdas econômicas em várias culturas (ECHER, 2014) e, no algodoeiro, além de reduzir o rendimento, também causam perdas significativas na qualidade da fibra, depreciando o principal produto comercializado na cultura.

Diversas doenças afetam severamente o algodoeiro causando perdas econômicas que dificultam o estabelecimento da cultura em diversas regiões do Brasil e do mundo. Entre elas, o tombamento por fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia*, a mancha angular, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* e a ramulose, causada por *Ramularia areola* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* são as mais comuns.

O mofó branco, causado pelo fungo necrotrófico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, tem sido considerado uma das doenças mais preocupantes para a comunidade agrícola, uma vez que o patógeno tem como hospedeiro mais de 400 espécies distribuídas em cerca de 278 gêneros (BOLLAND; HALL, 1994; BOLTON *et al.*, 2006) e apresenta estruturas denominadas escleródios, que desempenham importante função no ciclo de vida desta espécie e permitem que ele sobreviva por até 11 anos no solo (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2006; VRISMAN *et al.*, 2014), além de servir como inóculo para a cultura seguinte enquanto houverem condições de alta luminosidade, alta umidade no solo e temperatura entre 10 e 25 °C, que são favoráveis ao seu desenvolvimento (PHILLIPS, 1987; HUANG; KOZUB, 1991; GARCIA *et al.*, 2012).

S. sclerotiorum pode infectar as culturas em praticamente todos os estádios fenológicos, o que torna a doença ainda mais preocupante para os produtores, e um desafio para o melhoramento de plantas. Este fungo secreta ácido oxálico e uma grande variedade de

enzimas degradantes da parede celular (BOLTON; THOMMA; NELSON, 2006), apresentando um controle genético complexo, uma vez que a resistência é condicionada por muitos genes. De acordo com Yang *et al.* (2007), mais de 300 genes alteraram sua expressão na presença do patógeno em canola e, na cultura do feijoeiro, Antônio (2011) mapeou 4 QTLs (Quantitative Trait Loci) estáveis e demonstrou aumento na atividade de enzimas e lignina em genótipos com resistência parcial ao fungo, além de confirmar a herança quantitativa da resistência do feijoeiro ao mofo branco.

Frente a constante evolução dos microrganismos fitopatogênicos, entre eles o fungo *S. sclerotiorum*, faz-se necessária a identificação e desenvolvimento de novas cultivares que apresentem tolerância ou resistência a essas adversidades. O desenvolvimento de cultivares resistentes é uma solução de baixo custo, por permitir maior retorno econômico devido a uma gestão menos intensiva pelo agricultor pela aplicação de fungicidas, além de provocar menor impacto ambiental (LEITE *et al.*, 2016).

Existem vários métodos para avaliação de níveis de tolerância ao mofo branco, entre eles, um método já consagrado e muito utilizado na cultura da soja e feijoeiro: o *straw test* (PETZOLDT; DICKSON, 1996), ou teste do canudo. Ferreira *et al.* (2013) compararam diversas técnicas de inoculação, entre elas o *straw test*, chumaço de algodão, disco BDA e flor infectada em folha destacada, e concluíram que a técnica *straw test* foi superior às outras mediante à estimativa da razão de sensibilidade. No entanto, no que se refere à avaliação da resistência de genótipos ao mofo branco os resultados obtidos em algumas culturas não validam que determinada técnica seja eficiente para todas as culturas, entre elas o algodoeiro. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar genótipos de algodoeiro de fibra branca quanto à resistência ao patógeno *S. sclerotiorum*, através do método *straw test* e determinar o melhor tempo de avaliação em horas após a inoculação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização, condução e delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos, conduzidos em épocas diferentes, o primeiro semeado em janeiro (Época 1) e o segundo em julho (Época 2), em casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os experimentos foram realizados em duas etapas, sendo a primeira o crescimento até o estágio vegetativo V3 (MARUR; RUANO, 2002), realizada em casa de vegetação, e a segunda etapa,

inoculação realizada em condições de temperatura (24° C) e umidade relativa (60%) controladas em laboratório.

As condições meteorológicas durante a condução do experimento em casa de vegetação foram aferidas via estação meteorológica automática, que apresenta sensor de temperatura (Figuras 1 e 2).

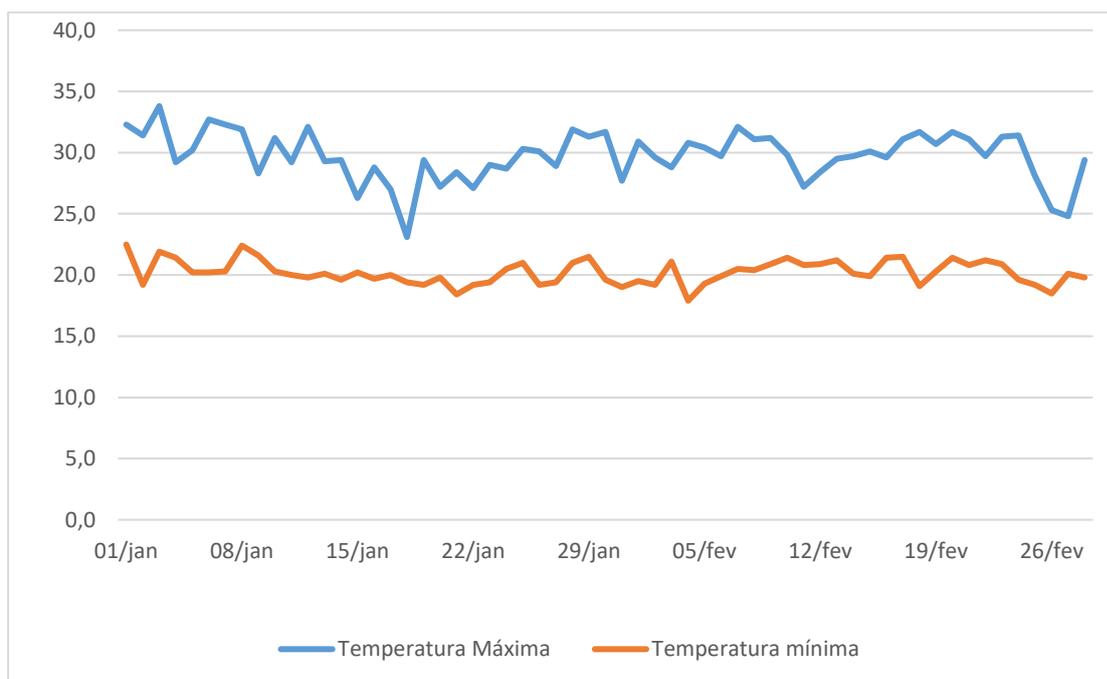


Figura 1. Dados meteorológicos no período de 01/2017 a 02/2017.

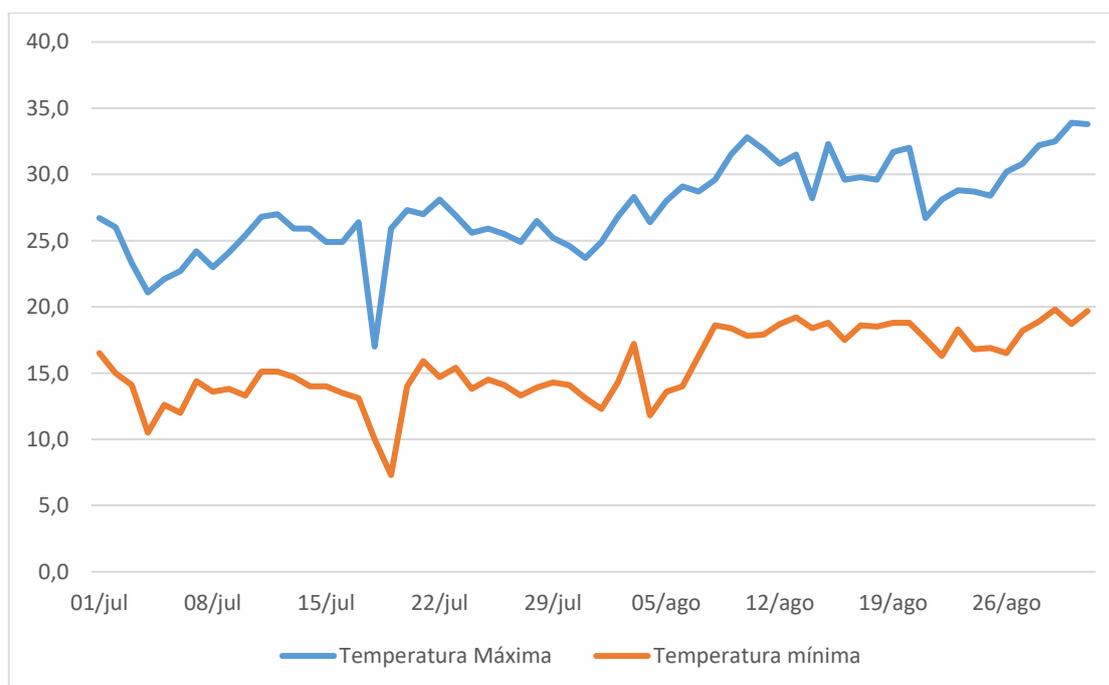


Figura 2. Dados meteorológicos no período de 07/2017 a 08/2017.

Vinte genótipos de algodoeiro de fibra branca foram avaliados, sendo dezesseis linhagens do Programa de Melhoramento de Algodão da UFU (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M, N, OB, P e S) e quatro cultivares comerciais (Delta Pine 555, Delta Pine 1227 RR Flex, FMT 705 e TMG-81 WS).

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com cinco repetições em esquema de parcelas subdivididas no tempo, sendo a parcela o genótipo e a subparcela o tempo de avaliação em horas após a inoculação. A parcela experimental foi composta por dois vasos contendo uma planta cada um.

O substrato de cada vaso foi preparado com areia, matéria orgânica e solo na proporção de 1:1:1 que preencheu os vasos plásticos de 1 litro, com orifícios circulares nos lados e no fundo para drenagem da água. As plantas foram irrigadas duas vezes ao dia.

2.2. Repicagem do fungo e inoculação

Os isolados de *S. sclerotiorum* foram obtidos através de escleródios provenientes de campos de produção localizados no município de São Miguel do Passa Quatro (GO).

Os escleródios foram limpos em água destilada estéril e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). As placas de Petri foram incubadas a 20°C (com variação de $\pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12 horas durante 5 dias.

A inoculação foi realizada na haste principal imediatamente após o ápice da planta ser cortado (15 cm acima do nó cotiledonar), no estágio V3, sendo utilizadas ponteiras plásticas (200 μL) que foram infectadas após contato com o ágar contendo micélio de *S. sclerotiorum*. A ponteira foi então encaixada à haste principal seccionada, com o objetivo de manter o contato entre o micélio fúngico e a lesão.

2.3. Avaliações

Foram realizadas quatro avaliações do tamanho (mm) da lesão causada pelo patógeno, com 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação. As lesões de cada planta foram avaliadas a partir do ápice de maneira descendente com o auxílio de um paquímetro digital Zaas Precision 150 mm.

2.4. Análise estatística

Foi realizada a análise de variância (Teste $F < 0,05$) e teste de agrupamento (Teste por Scott; Knott), com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças genotípicas significativas ($P < 0,05$) foram identificadas entre os genótipos em resposta ao patógeno, com interação entre genótipos e tempo de exposição ao patógeno (Tabela 1), o que evidencia a existência de variabilidade genética quanto a resistência ao mofo branco, o que possibilita a seleção de genótipos superiores.

Tabela 1 – Médias do tamanho da lesão (mm) causada por *S. sclerotiorum* em genótipos de algodoeiro em duas épocas no município de Uberlândia, estado de Minas Gerais, no ano de 2017, obtidas pelo *straw test*.

Genótipos	Época 1				Época 2			
	Tempo (horas)				Tempo (horas)			
	48	72	96	120	48	72	96	120
DP 555	10,16 a	18,75 a	25,72 a	33,21 a	7,71 a	7,71 a	31,04 b	34,03 b
UFU14 - A	12,32 a	20,66 a	29,09 a	38,07 a	11,06 a	11,06 a	26,09 b	26,39 a
UFU14 - B	14,40 a	27,63 a	40,62 b	48,83 b	3,58 a	3,80 a	22,67 a	22,96 a
UFU14 - C	13,71 a	28,17 a	36,31 b	43,11 a	4,94 a	4,94 a	14,32 a	24,55 a
UFU14 - D	17,27 a	34,73 b	55,82 d	76,88 c	19,57 b	19,80 b	38,61 c	41,09 c
DP1227RR Flex	18,47 a	36,09 b	61,94 d	70,28 c	17,22 b	19,02 b	47,08 d	50,20 c
UFU14 - E	13,52 a	18,05 a	29,56 a	36,44 a	14,89 b	14,89 b	31,20 b	37,38 b
UFU14 - F	16,52 a	32,24 b	38,38 b	51,61 b	13,54 b	13,76 b	21,91 a	22,21 a
FMT 705	19,38 a	25,22 a	42,17 b	54,59 b	16,68 b	16,74 b	46,03 d	46,10 c
UFU14 - G	10,97 a	25,11 a	31,57 a	38,32 a	20,65 b	20,65 b	45,28 d	45,54 c
UFU14 - H	20,09 a	37,53 b	57,02 d	68,98 c	9,85 b	16,85 b	18,79 a	25,93 a
UFU14 - J	17,65 a	35,94 b	37,46 b	50,56 b	8,09 a	9,31 a	30,00 b	30,30 b
UFU14 - K	16,91 a	25,35 a	40,47 b	56,75 b	9,48 a	11,3 a	29,19 b	30,92 a
UFU14 - L	17,51 a	33,03 b	44,93 c	53,37 b	14,07 b	14,13 b	34,14 c	34,21 b
UFU14 - M	15,99 a	27,89 a	36,64 b	46,64 b	15,88 b	17,31 b	32,62 c	35,19 b
UFU14 - N	12,88 a	32,52 b	44,83 c	57,01 b	14,87 b	15,61 b	23,61 a	23,68 a
OB	17,55 a	27,19 a	38,54 b	48,11 b	16,49 b	16,52 b	35,26 c	35,56 b
UFU14 - P	16,47 a	32,36 b	45,21 c	47,73 b	12,64 a	12,64 b	35,65 c	35,95 b
UFU14 - S	16,43 a	29,74 b	46,47 c	54,99 b	15,69 b	15,74 b	48,34 d	48,64 c
TMG 81 WS	15,44 a	31,58 b	44,53 c	52,99 b	19,70 b	19,92 b	34,21 c	36,41 b

Médias seguidas por letras iguais na coluna pertencem ao mesmo grupo ao nível de significância de 0,05 pelo Teste de Scott; Knott.

Na primeira época, com 48 horas após a inoculação, não houve variabilidade entre os genótipos quanto ao crescimento da lesão causada pelo fungo *S. sclerotiorum*, em contraste com a segunda época neste mesmo tempo, em que os genótipos expressaram a variabilidade, que pode ser observada pelas médias das lesões (Tabela 1), justificado pelas variações ambientais no período de crescimento antecedente à inoculação.

A resistência ao mofo branco é aditiva e poligênica (ANTONIO, 2011; CARNEIRO; SANTOS; LEITE, 2010; DIAS, 2013), ou seja, susceptível as variações ambientais como intensidade luminosa, temperatura e umidade, que influenciam a expressão gênica. A primeira época foi caracterizada por maiores temperaturas (Figuras 1 e 2), que impactaram diretamente no desenvolvimento da planta. Segundo Maynard e Bassuk (1988), o estiolamento das plantas causa menor lignificação, suberificação e espessura das paredes celulares, sendo os sintomas mais comuns a perda de clorofila, alongação dos internódios e formação de tecidos mais suculentos, condições essas que são ideais para o desenvolvimento rápido de *S. sclerotiorum* na planta, que pode ser observado pelas maiores médias da época 1 em relação à época 2. Leite (2014) associou a resistência parcial à quantidade de lignina, como consequência, uma maior quantidade de lignina combinada a outros fatores, podem contribuir para a resistência ao patógeno.

O tempo de avaliação de 96 horas pelo método *straw test* (PETZOLDT; DICKSON, 1996) foi o mais efetivo em ambas as épocas para distinguir a resistência entre os genótipos avaliados, uma vez que permitiu maior diferenciação (mais agrupamentos) entre os genótipos pelo agrupamento de Scott-Knott (1974), indicando este momento de avaliação (96 h após a inoculação) como o mais propício para distinguir níveis de resistência entre os genótipos de algodoeiro avaliados.

Os genótipos com as menores lesões podem indicar maior resistência ao fungo. No tempo de avaliação 96 horas, destacam-se os genótipos DP 555, UFU14-A, UFU14-E e UFU14-G, na época 1 (época mais quente) no tempo de avaliação 96 horas, sendo que DP 555 e UFU14-A apresentaram lesões 31% e 30% menores que a média geral dessa época, neste tempo de avaliação, respectivamente. Os genótipos UFU14-B, UFU14-C, UFU14-F, UFU14-H e UFU14-N apresentaram as menores lesões na época 2 (época menos quente), com destaque para UFU14-C, que apresentou média 56% menor que a média geral para esta época de avaliação.

Como opções gerais ao cultivo do algodoeiro em áreas com a presença do mofo branco se destacam os genótipos DP 555, UFU14-A e UFU14-C. Estes genótipos apresentaram maior estabilidade das médias em ambas as épocas de avaliação, sendo

potenciais fontes de genes de resistência para futuras hibridações em programas de melhoramento visando resistência ao mofo branco.

A avaliação do desenvolvimento da lesão ao longo do tempo também é fator primordial para escolha de genótipos. É importante observar o tempo decorrido entre a exposição da planta ao patógeno e o aparecimento dos primeiros sintomas, pois genótipos com menores lesões iniciais possibilitam maior tempo para tomada de para que o controle químico seja efetuado. Nesse sentido, destacam-se os genótipos DP 555, UFU14-A, UFU-B e UFU14-C, que apresentaram menores lesões iniciais em ambas as épocas.

Adicionalmente, ao analisar a progressão do sintoma entre 48 e 120 horas verificou-se que os genótipos UFU14-A, UFU14-D, UFU14-E, FMT 705, UFU14-M, OB e UFU14-P tiveram menores médias, o que pode sugerir presença de genes de resistência.

4. CONCLUSÃO

Os genótipos com melhores desempenhos gerais foram DP 555, UFU14-A e UFU14-C.

O tempo de avaliação de 96 horas pelo método straw test foi o mais efetivo em ambas as épocas para distinguir a resistência entre os genótipos avaliados.

REFERÊNCIAS

ANTÔNIO, R. P. **Identificação de QTLs de resistência ao mofo branco e de mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa em feijoeiro**, 2011, 155 p, Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

BOLAND, G. J.; HALL, R Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

BORÉM, A.; MIRANDA, G,V, 2013. **Melhoramento de plantas**, 6ed, Viçosa: Editora UFV, 2013, 523p.

CARNEIRO, F.F.; SANTOS, J. B.; LEITE, M. E. Marker-assisted backcrossing using microsatellites and validation of SCAR Phs marker for resistance to white mold in common bean. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 12, n. 6, p. 9, 2010.

CONAB, Acompanhamento da safra brasileira: Grãos, Disponível em: <https://www.conab.gov.br/index.php/component/k2/item/download/18685_07a28517646ae00e727653d253eeb17c>. Acesso em: 01 abr, 2018.

DIAS, J. A. **Controle genético da reação do feijoeiro ao mofo branco por meio da resistência ao ácido oxálico**. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 42, 2013.

ECHER, F. R. O algodoeiro e os estresses abióticos: temperatura, luz, água e nutrientes, **Embrapa Agropecuária Oeste-Outras publicações científicas (ALICE)**, 2014.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; CASSEMIRO, T. A. Produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary em meio de cultura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 1-7, jan/fev, 2012

FERREIRA, D. F. Sisvar versão 4,2, **Lavras: UFLA**, 2003.

FERREIRA, L. U. *et al.* Avaliação de Métodos de Inoculação Artificial e Caracterização de Cultivares de Feijoeiro Comum Quanto à Reação ao Mofo Branco, In: **7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Uberlândia, 2013.

HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Temperature requirements for carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of different geographic origin, **Botanical Bulletin of Academia Sinica** 32:279-286, 1991.

LEITE, M. E. *et al.* Increasing the resistance of common bean to white mold through recurrent selection, **Scientia Agricola**, Piracicaba, v, 73, n, 1, p, 71-78, 2016.

MARUR, C. J.; RUANO, O. Escala do algodão. **Informe da Pesquisa, IAPAR**, 2002.

MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. **Advances in plant sciences series (USA)**, 1988.

NORUSIS M, J. Advanced statistics SPSS/PC+ for the IBM PC/XT/AT. **Chicago: SPSS Inc.**; 1992.

PAULA JÚNIOR, T. J. **Manejo integrado do mofo-branco do feijoeiro**, Viçosa – MG: Epamig, 2006.

PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. *Straw test* for resistance to white mold in beans. **ANNUAL REPORT-BEAN IMPROVEMENT COOPERATIVE**, v, 39, p, 142-143, 1996.

PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica** 19:279-283, 1987.

VRISMAN, C. M. *et al.* Influência de herbicidas e fungicidas na germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary = Influence of herbicides and fungicides in the carpogenic germination of. **Bioscience Journal**, v, 30, n, 2, 2014.

YANG, B. et al. Transcriptional profiling of canola (*Brassica napus* L.) responses to the fungal pathogen *Sclerotinia Sclerotiorum*. **Plant Science**, v. 173, p. 156–171, 2007.