

CARMEN ROSA DA SILVA CURVÊLO

**PROCESSO INFECCIOSO DE *Ramularia areola* EM ALGODOEIRO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2009

CARMEN ROSA DA SILVA CURVÊLO

**PROCESSO INFECCIOSO DE *Ramularia areola* EM ALGODOEIRO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2009

---

Prof. Fabrício Ávila Rodrigues  
(Co-Orientador)

---

Prof. Olinto Liparini Pereira

---

Prof. João Carlos Cardoso Galvão

---

Dr<sup>a</sup>. Cláudia Alencar Vanetti

---

Prof. Paulo Geraldo Berger  
(Orientador)

A Deus pela concessão da vida, saúde e pela oportunidade de realizar esse curso e por tudo o que tenho e o que sou.

Aos meus pais, Elinardo Freire Curvêlo e Maria Auxiliadora da Silva Curvêlo, por não terem se enganado em sempre conceder apoio aos meus estudos.

Aos meus irmãos, Edlane, Elaine e Eginardo, pelo carinho.

Aos meus sobrinhos, Letícia e Davi, pela alegria que me proporcionam.

Ao meu esposo, Alexandre Igor, por todo o apoio, desde os tempos de graduação, pela paciência, dignidade quanto ser humano e, principalmente, pelo amor dedicado.

## **OFEREÇO E DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força e sabedoria para transpor as dificuldades encontradas durante esta caminhada e por permitir a concretização deste trabalho.

A minha família pelo constante amor, apoio, incentivo e pela confiança.

Ao meu esposo, Alexandre Igor de Azevedo Pereira, pela companhia, pelo apoio, pela força e incentivo constante e pelo amor e paciência incondicional.

Ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa, pela utilização dos equipamentos.

Ao professor Paulo Geraldo Berger, pelo aceite em me orientar durante o curso de Mestrado, pela atenção nos momentos de adversidade e pela agradável convivência.

Ao professor Fabrício Ávila Rodrigues, pelo apoio constante no planejamento e execução desse trabalho e pela participação como conselheiro em todos os momentos para conclusão deste trabalho.

Ao professor Francisco Xavier R. do Vale, por aceitar ser meu conselheiro.

Ao professor Olinto Liparini Pereira, pela participação na banca de defesa.

Ao professor João Carlos Cardoso Galvão, pela participação na banca de defesa.

A Dra. Cláudia Alencar Vanetti, pela participação na banca de defesa.

Aos demais professores do Departamento de Fitotecnia e de Fitopatologia, pela convivência harmoniosa e pela contribuição para minha formação acadêmica e pessoal.

Aos amigos de orientação e aos estudantes de graduação em Agronomia, Leonardo Aquino, Antônia Mirian, George Gonçalves e Dalilla Rezende, respectivamente, pela ajuda constante na implantação e execução dos experimentos em campo e casa de vegetação e pela amizade no decorrer do curso.

A todos que, direta ou indiretamente, acreditaram em mim e ajudaram a construir e realizar mais esse sonho.

## BIOGRAFIA

CARMEN ROSA DA SILVA CURVÊLO, filha de Elinardo Freire Curvêlo e Maria Auxiliadora da Silva Curvêlo, nasceu em 21 de setembro de 1980, em Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Em 1999, iniciou o curso de Agronomia na Universidade Federal da Paraíba, onde, em 2004, obteve o título de Engenheiro Agrônomo.

Durante o período de graduação, foi bolsista de iniciação científica, pelo CNPq, desenvolvendo suas pesquisas no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba e no Centro Nacional de Pesquisas com Algodão (CNPA), da EMBRAPA. Nesse mesmo período, recebeu o Prêmio “Jovem Pesquisador” concedido pelo CNPq.

Ainda na graduação e após o seu término, ministrou aulas de Biologia e Ciências no Ensino Médio e Fundamental da Escola Estadual Irineu Joffily, situada no município de Esperança, Paraíba.

Em setembro de 2007, iniciou o Curso de Mestrado em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2009.

Em dezembro de 2008 foi aprovada no processo seletivo para ingresso no Curso de Doutorado em Fitotecnia da UFV, que terá início em março de 2009.

## SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO .....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
2.1. O Algodoeiro.....	1
2.2. A mancha de ramulária.....	7
2.2.1. Agente etiológico.....	7
2.2.2. Condições climáticas para ocorrência da doença.....	8
2.2.3. Sintomas.....	8
2.2.4. Manejo da doença.....	10
2. INTRODUÇÃO.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Crescimento das plantas.....	16
3.2. Obtenção e preparo do inóculo de <i>Ramularia areola</i> e inoculação de folhas e plantas.....	16
3.3. Coleta e preparo das amostras de folhas de algodoeiro para observações do processo infeccioso de <i>R. areola</i> utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	17
3.4. Avaliação da severidade da mancha de ramulária em plantas de algodoeiro.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÕES.....	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

## RESUMO

CURVÊLO, Carmen Rosa da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2009. **Processo infeccioso de *Ramularia areola* em algodoeiro.** Orientador: Paulo Geraldo Berger. Co-orientadores: Fabrício de Ávila Rodrigues e Francisco Xavier Ribeiro do Vale.

O processo infeccioso de *Ramularia areola*, o agente causal da mancha da ramulária, em folhas de algodoeiro, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae), foi estudado utilizando a microscopia eletrônica de varredura. Os conídios iniciaram a germinação 12 horas após a inoculação (hai) e nenhum apressório foi observado nesse período. Na maioria dos casos, os conídios germinaram e produziram dois tubos germinativos que cresceram através dos estômatos onde a penetração ocorreu. A esporulação do fungo ocorreu em ambas as faces adaxial e abaxial da epiderme foliar através dos estômatos. As hifas do fungo colonizaram com sucesso as células do mesófilo inter e intra celularmente. Os sintomas da doença apareceram em 12 dai com um nível de severidade de 1%, porém alcançaram 32% em 22 dai.

## ABSTRACT

CURVÊLO, Carmen Rosa da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Infectious process of *Ramularia areola* on cotton.** Advisor: Paulo Geraldo Berger. Co-advisors: Fabrício de Ávila Rodrigues and Francisco Xavier Ribeiro do Vale.

The infectious process of *Ramularia areola*, the causal agent of ramularia leaf spot, on leaves of cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae), was studied by using the scanning electron microscope. Conidia started to germinate at 12 hours after inoculation (hai) and no appressoria were observed at this time. In most cases, conidia germinated and produced two germ tubes that grew towards the stomata where the penetration occurred. Fungus sporulation occurred at both adaxial and abaxial leaf epidermis through the stomata. Fungal hyphae successfully colonized the mesophyll cells both inter and intracellularly. Disease symptoms appeared at 12 dai with severity level of 1%, but reached 32% at 22 dai.

# 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1.1. O Algodoeiro

O algodoeiro é uma oleaginosa pertencente à família Malvaceae, gênero *Gossypium*, abrangendo 50 espécies, sendo que das cultivadas apenas quatro tem importância econômica, como *Gossypium hirsutum* L., responsável por 90% da produção mundial em fibras; *Gossypium barbadense* L., segunda espécie mais cultivada respondendo a 5% da produção mundial e as espécies *Gossypium arboreum* L. e *Gossypium herbaceum* L. que, em conjunto, respondem pelos restantes 5% da produção (Bolek, 2005). A sua classificação taxonômica encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação taxonômica do algodoeiro.

Divisão	Embriophita sifanogamae
Subdivisão:	Fanerogamae ou Espermatophita
Filo:	Angiospermae
Classe:	Dicotiledoneae
Subclasse:	Archichlamidae
Ordem:	Malvales
Família:	Malvaceae
Tribo:	Hibisceae
Gênero:	<i>Gossypium</i>
Espécie:	<i>Gossypium hirsutum</i>
Raça:	<i>G. hirsutum latifolium</i>

Fonte: Algodão Brasileiro, 2008

O algodoeiro é uma planta de clima quente e não suporta frio (Fuzatto et al., 2005; Revista Biodiesel 2008). O período vegetativo é longo, variando entre 5 e 7 meses, conforme a quantidade de calor recebida. Por isso, necessita de verões longos, quentes e

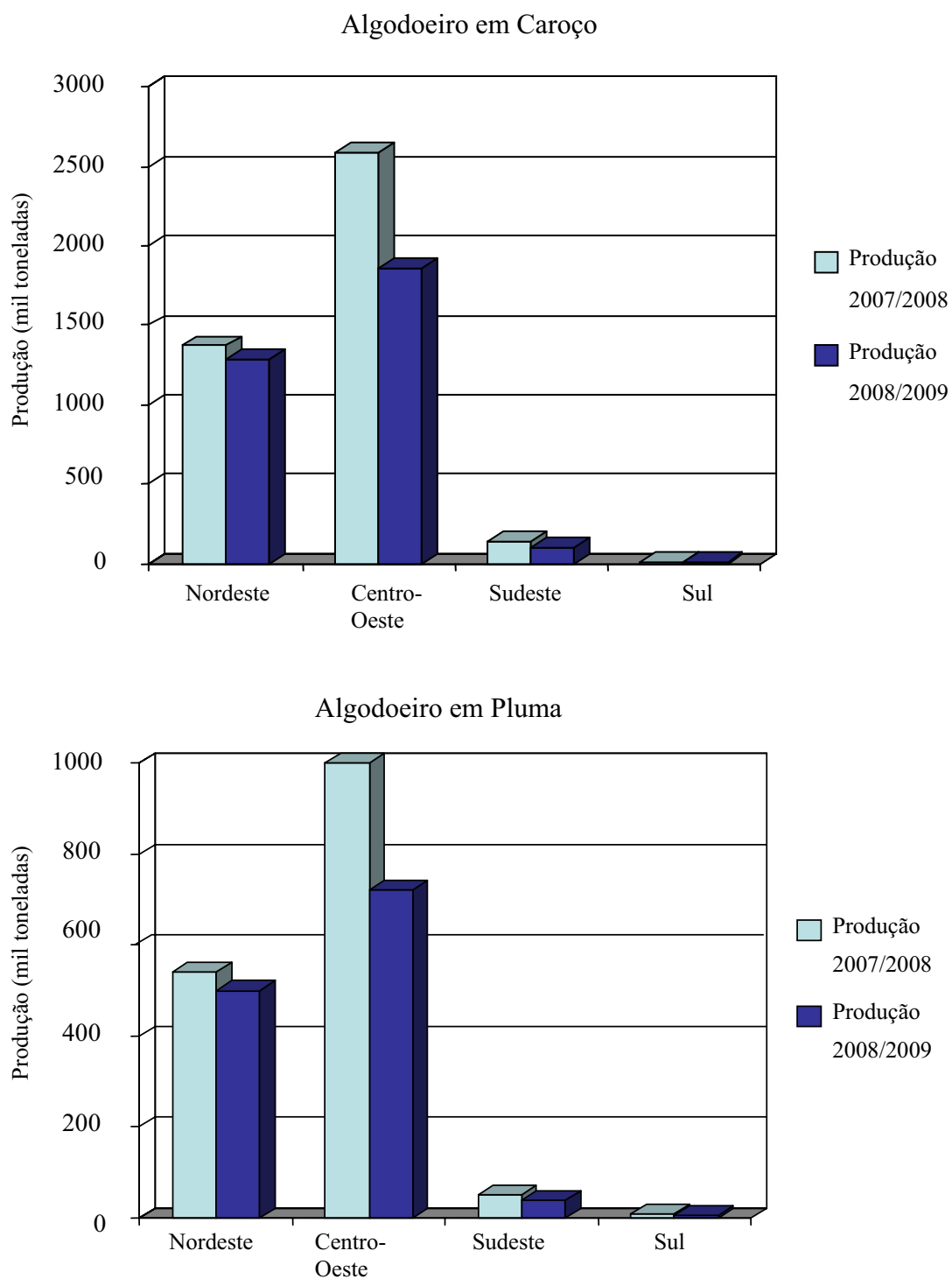
bastante úmidos. Na maturação, quando se abrem as cápsulas, a chuva é prejudicial. Sob condições de clima quente, com duas estações, chuvosa e seca, o algodoeiro encontra condições propícias ao seu desenvolvimento (Carvalho, 2007).

Mundialmente, o algodoeiro é produzido em quase todos os países, obtendo-se cerca de 23 milhões de toneladas por ano (Beltrão, 1999). Sua utilização concentra-se basicamente na indústria de fiação e tecelagem e na indústria de alimentação animal (farelo) e humano (óleo), além da utilização de seus produtos secundários, como por exemplo, o biodiesel, apresentando grande importância socioeconômica (Cardoso, 2001; Ferreira & Freire, 2001).

Para a safra 2008/2009, a área plantada com algodoeiro está estimada em 857,5 mil hectares, representando redução de 20,4%, quando comparada à safra 2007/08, que foi de 1.077,4 mil hectares (Figura 1). Todos os estados produtores apresentaram redução de área. As maiores perdas recaem sobre o Estado de Mato Grosso (162,6 mil hectares), seguido da Bahia (20,1 mil hectares) e de Goiás (13,3 mil hectares). A baixa rentabilidade da cultura, aliada às restrições de crédito e problemas fitossanitários são os principais fatores para esta variação negativa que estão desestimulando os produtores a investirem na cultura do algodão (CONAB, 2008).

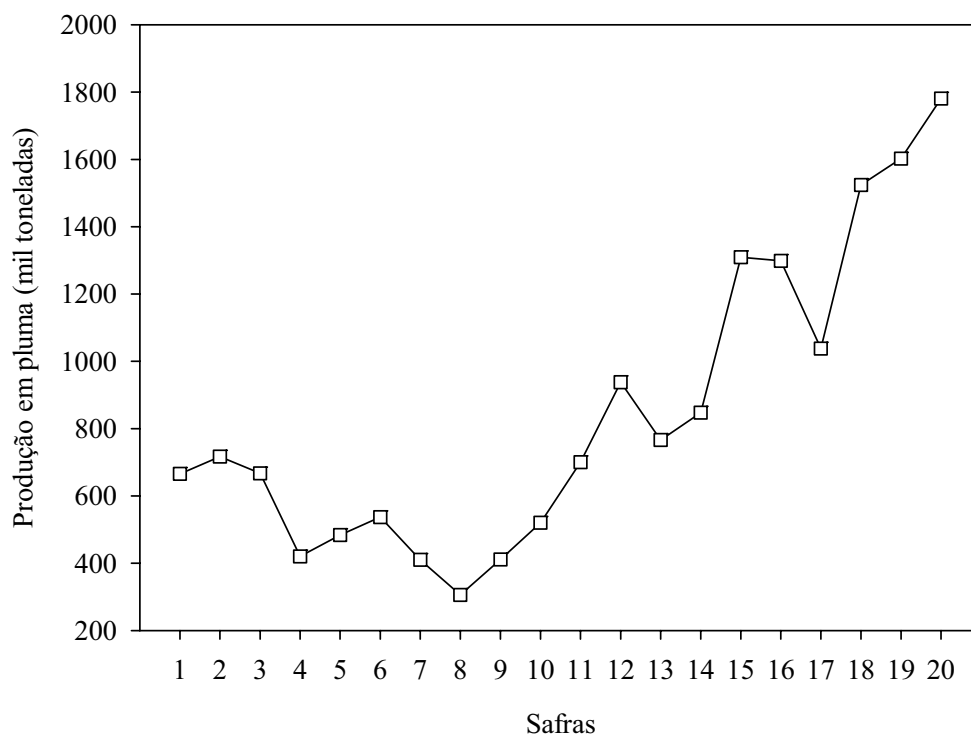
A queda da demanda mundial pela fibra de algodoeiro é consequência da desaceleração da economia global, da competição com a fibra sintética e dentro outros fatores, visto que, o algodoeiro é a *commodity* que está sendo mais prejudicado pela crise mundial, em consequência da valorização do dólar e da queda do valor do barril de petróleo que possuem maior força na redução desse produto em relação aos outros (Gazeta Mercantil, 2008). Essa situação sugere que teremos uma significativa retração nos estoques, fato que obrigará as indústrias em um primeiro momento, recorrerem ao mercado externo objetivando a importação de maiores quantidades da matéria-prima,

passando de 40,0 mil toneladas em 2008, para cerca de 80,0 mil toneladas para 2009 (CONAB, 2008).



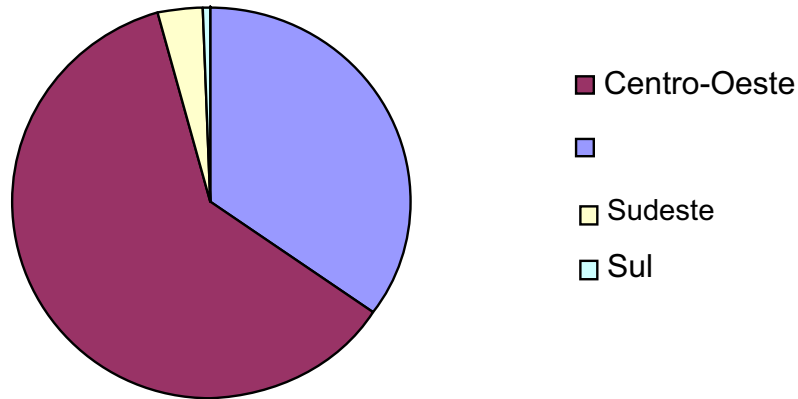
**Figura 1.** Levantamento das regiões brasileiras destinadas à produção (mil toneladas) do algodoeiro em caroço e em pluma (CONAB, 2008).

A cotonicultura passou por uma fase de transição nos últimos vinte anos (Figura 2). No final da década de 80, ocorreu uma drástica redução no cultivo do algodoeiro no Brasil em função do agravamento de problemas relativos à comercialização da matéria prima e ao surgimento de insetos, como por exemplo, o Bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) nas plantações, levando a um decréscimo considerável na área plantada com algodoeiro em lugares onde seu plantio era tradicional, especialmente no Nordeste do país (Barbosa et al., 1997). A retomada da produção de algodão ao cenário brasileiro ocorreu a partir de 1997, na região centro-oeste, principalmente nos estados de Goiás e Mato Grosso, baseado em novos padrões tecnológicos e empresariais (Ferreira Filho, 2001). Passou a ser usada nova técnica como alternativa, empregando rotação com a soja que, até o presente momento apresentava prejuízos na produção devido a problemas com a Ferrugem da Soja. Entretanto, devido às ótimas condições que essas regiões apresentavam para o seu cultivo como relevo, solo e precipitações adequadas, a cultura prosperou de maneira significativa (Freire, 1998, 2007; Nogueira Júnior & Barbosa, 2005). Esse processo de retomada da cultura no cenário nacional trouxe consigo outros problemas, dentre os quais sobressai a ocorrência de doenças, que encontraram ambiente amplamente favorável para seu desenvolvimento (Paiva, 2001). Por conseguinte, justifica-se a enorme preocupação dos cotonicultores com relação às doenças (Cia et al., 2005). Na figura 3 observa-se a produção de algodoeiro na região centro-oeste seguido da região nordeste, nas safras de 2007/2008 e 2008/2009, principais regiões produtoras de algodoeiro no país.

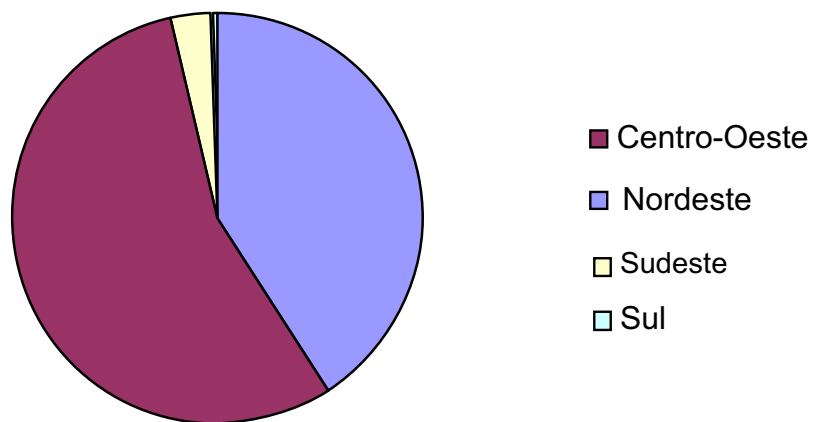


**Figura 2.** Histórico dos últimos vinte anos da produção de algodoeiro em pluma no Brasil (adaptado da CONAB 2008). Os valores no eixo x representam: (1) safra 1989/90, (2) 1990/91, (3) 1991/92, (4) 1992/93, (5) 1993/94, (6) 1994/95, (7) 1995/96, (8) 1996/97, (9) 1997/98, (10) 1998/99, (11) 1999/2000, (12) 2000/01, (13) 2001/02, (14) 2002/03, (15) 2003/04, (16) 2004/05, (17) 2005/06, (18) 2006/07, (19) 2007/08 e (20) a previsão para a safra 2008/09.

Área (em mil ha)  
Safra 2007/2008



Área (em mil ha)  
Safra 2008/2009



**Figura 3.** Levantamento das áreas plantadas (mil ha) com algodoeiro nas regiões brasileiras destinadas a produção de algodoeiro nas safras de 2007/2008 e 2008/2009 (CONAB, 2008).

Entretanto, as mesmas condições favoráveis do cerrado brasileiro que favorece o cultivo de algodoeiro, tais como altos índices pluviométricos, temperaturas diurnas

elevadas e noturnas amenas, vêm favorecendo o surgimento e desenvolvimento de doenças fúngicas com destaque para a mancha de ramulária (Maranha et al., 2002).

## **1.2. A mancha de ramulária**

### **1.2.1. Agente etiológico**

A mancha de ramulária é causada pelo fungo *Ramularia areola* G.F. Atk., [syn.= *Ramularia gossypii* (Speg.) Cif., *Cercospora gossypii* Speg.], forma assexual ou anamórfica e sexual ou teleomórfica, *Mycosphaerella areola* Ehrlich & F.A.Wolf (Suassuna & Coutinho, 2007). Além de mancha de ramulária, a doença é também conhecida em outros países por míldio, oídio, míldio areolado, falso-míldio ou mancha branca (Cia et al., 1999; Machado et al., 1999; Maranhã et al., 2002; Iamamoto, 2007).

O fungo pode sobreviver em plantas de algodoeiro remanescentes da destruição inadequada da soqueira ou em plantas de algodão perene. Assim, repetidos cultivos de algodoeiro na mesma área e a proximidade de plantas cultivadas em anos anteriores (soqueira ou tiguera) podem contribuir como inóculo primário. A fase assexuada do fungo (*Ramularia*) desenvolve-se no tecido vivo, sobretudo na face inferior das folhas, quando estas ainda estão ligadas à planta e, por um curto período, após a sua queda. Na próxima fase, os ascósporos se desenvolvem sobre os restos culturais como folhas e soqueiras, constituindo o inóculo primário (Iamamoto, 2007). O patógeno apresenta conidióforos fasciculados que saem pelos estômatos. Os conidióforos são cilíndricos, hialinos e com um a três septos (Iamamoto, 2007). Vento, água da chuva ou de irrigação e implementos agrícolas disseminam o patógeno para áreas distantes (Freire, 2007).

### **1.2.2. Condições climáticas para ocorrência da doença**

A doença é favorecida por condições climáticas como temperatura de 12 a 32°C, sendo a mais adequada, a faixa de 25 a 30°C e umidade relativa acima de 80% (Rathaiah, 1977). A doença é favorecida por noites úmidas seguidas de dias secos, sem períodos prolongados de molhamento foliar (Paiva, 2001).

Para Rathaiah (1977) a penetração de *Ramuralia areola* pelo estômato é maior sob o ciclo de molhamento noturno e secamento diurno do que em molhamento contínuo. Algumas infecções ocorrem depois de dois ciclos de molhamento noturno de 12 horas e o máximo ocorre depois de cada quatro ciclos. O tubo germinativo pode suportar vários ciclos de secamento de até 16 horas com umidade relativa de 20 a 60% e subsequentemente retomar seu crescimento.

### **1.2.3. Sintomas**

Os sintomas aparecem em ambas as faces da folha, sendo que, no início, na face abaxial (Figura 4). Esses consistem de lesões angulares com coloração branco-azulada entre as nervuras na superfície adaxial da folha, mas, na superfície abaxial, a esporulação abundante dá à lesão uma coloração esbranquiçada, medindo de 1 a 3 mm inicialmente e, posteriormente, amarelada de aspecto pulverulento, caracterizada pela esporulação do patógeno (Bell, 1981; Cassetari Neto et al., 2000; Suassuna & Coutinho, 2007). Após a esporulação, ocorre a destruição das células invadidas levando à abscisão da folha (Ehrlich & Wolf, 1932). Uma vez cessada a esporulação ativa, as lesões tornam-se necróticas, de coloração marron-escura, acarretando perda da área foliar fotossinteticamente ativa e, conseqüentemente, queda na produção (Holey et al., 1992). Sob condições favoráveis, as lesões coalescem e provocam desfolha. Em períodos

chuvosos, podem ocorrer sintomas precoces, chegando a provocar queda de folhas e apodrecimento de maçãs nos ramos mais próximos ao solo (Iamamoto, 2007; Suassuna & Coutinho, 2007).



**Figura 4.** Sintomas da mancha de ramulária na face adaxial de folhas de algodoeiro.

Os sintomas iniciais da doença geralmente coincidem com início da fase reprodutiva da planta, entre o aparecimento do primeiro botão floral até a abertura da primeira flor. Os danos causados pela doença prologam-se até o final do ciclo da cultura, sendo mais expressivos entre o início do florescimento e a abertura dos primeiros capulhos (Suassuna & Coutinho, 2007).

#### **1.2.4. Manejo da mancha de ramulária**

Considerando a ausência de resistência vertical à doença nas cultivares usadas no Brasil, o controle químico é a tática comumente utilizada para o manejo da doença. Assim, torna-se necessário o monitoramento diário da lavoura para o aparecimento das primeiras lesões, o que indica a necessidade de aplicação de fungicidas para retardar o início da epidemia e impedir o aumento de inóculo no campo (Miranda & Suassuna,

2004; Rocha et al., 2005; Aquino, 2006; Yamamoto, 2007; Suassuna & Coutinho, 2007; Aquino et al., 2008).

O manejo sustentável parte do princípio de que a doença constitui parte do sistema produtivo e que essa não precisa ser eliminada do sistema e sim mantida em níveis que não causem danos que ocasionem perdas. Dentro dessa visão ampla de manejo sustentável, as medidas devem ser integradas visando a redução dos custos de manejo, redução do uso de defensivos que promovem impacto ambiental considerável e melhor qualidade da produção. Então, o manejo ideal para o controle desta doença seria por meio da integração de técnicas, como uso de cultivares mais resistentes, época de plantio e aplicação de fungicidas (Rocha et al., 2005).

O uso de cultivares geneticamente modificadas é a tática de controle mais desejável e eficaz por ser de baixo custo, fácil implementação, alta eficácia e por causar danos reduzidos ao meio ambiente (Cia & Salgado, 1997; Maranhã et al., 2002). A resistência genética pode ser implementada em associação com outras medidas de controle como manejo cultural e controle químico. Apesar de cultivares resistentes não estarem disponíveis no mercado, existe diferença entre essas com relação à susceptibilidade à mancha de ramulária (Andrade et al., 1999; Lanza et al., 1999; Cassetari Neto et al., 2000). Mukewar et al. (1995), analisando a resposta de 489 germoplasmas de *Gossypium arboreum* à mancha de ramulária, observaram que 24 deles eram resistentes, sendo que sete deles apresentaram resistência vertical e 17, resistência horizontal. Isso é uma indicação de que há fonte de resistência à *R. areola* e que é possível a obtenção de cultivares resistentes.

Existem relatos de cultivares da espécie *G. hirsutum* com diferentes níveis de resistência, tais como BJA 592 e Reba BTK 12. Algumas cultivares de *G. barbadense*, como Pima S7 e Tadla 16, também possuem resistência (Rathaiah, 1976). A recém

lançada cultivar BRS Buriti possui nível aceitável de resistência à mancha de ramulária o que, na prática, significa uma redução no uso de fungicidas, quando comparado com um cultivar altamente suscetível (Suassuna et al., 2006). Dos cultivares em uso no Brasil, Stoneville 474, Fiber Max 966, IAC 24, Coodetec 407, BRS 269, BRS Camaçari e BRS Araçá são as que possuem maiores níveis de resistência à *R. areola* (Suassuna & Coutinho, 2007).

A resistência de *G. arboreum* à *R. areola* é dependente de mecanismos de resistência pré-formados como camada de cutícula mais espessa, células da epiderme mais entrelaçadas, limbo foliar mais espesso e menor número de estômatos, associados a fatores bioquímicos, como níveis constitutivos da enzima fenilalanina amônia liase, compostos fenólicos, flavonóides, gossipol, taninos, prolinas e também taninos (Punit et al., 1997; Mukewar e Mayee, 2001; Suassuna & Coutinho, 2007).

Segundo Lucena (2007), a presença de uma variação contínua de graus de resistência à mancha de ramulária para algumas características como números de pontos necróticos e esporulação, caracteriza herança poligênica. O mecanismo de resistência identificado pelo autor representa uma variação fenotípica contínua para essas características indicando que se trata de uma herança poligênica e a resistência horizontal. A resistência horizontal é considerada melhor por sua durabilidade, porém a identificação dos locos envolvidos pode ser difícil, em razão da baixa expressão fenotípica dos genes envolvidos.

O programa de melhoramento da Embrapa Algodão tem selecionado genótipos com alta resistência, como as linhagens CNPA CO 11612 e CNPA GO 2984, e com resistência moderada, como a cultivar BRS Buriti. Cultivares com resistência parcial à mancha de ramulária podem ser incorporados no manejo da doença, visando à redução no número de aplicações de fungicidas (Iamamoto, 2007; Suassuna & Coutinho, 2007).

Embora os cultivares difiram quanto ao grau de suscetibilidade ao patógeno, ocorre ainda influência da época de plantio e de práticas culturais no grau de severidade da doença (Rocha et al., 2005). O uso de cultivares com algum nível de resistência, principalmente aquelas com arquitetura de copa, que permita ou facilite aeração, aliado a um espaçamento maior e a uma menor densidade de plantas, pode reduzir a severidade da doença (Hillocks, 1992). Plantio em locais com temperaturas elevadas, durante o dia, e amenas, durante a noite, tende a favorecer o progresso da doença por aumentar o período de molhamento foliar noturno e por ter um período diurno com a folha seca, proporcionando condições ambientais favoráveis à reprodução do patógeno (Suassuna & Coutinho, 2007). Plantios adensados favorecem a doença devido ao sombreamento que se inicia mais cedo na cultura e ao maior acúmulo de umidade na parte inferior do dossel das plantas (Paiva, 2001). As formas de manejar a doença seriam um bom preparo do solo e uma nutrição adequada já que uma planta bem nutrida e com bom vigor vegetativo apresenta maior capacidade para se defender contra o ataque de um patógeno (Marschner, 1995; Harris, 2001).

Degrande (2000) recomenda o uso de cultivares resistentes mesmo que haja redução na produtividade, pois são compensadas pela redução nos custos de produção e redução da preocupação do produtor quanto à perda na produtividade pelo cultivo de cultivares mais suscetíveis. Diversos estudos têm caminhado neste sentido, avaliando diversos cultivares e linhagens quanto a sua resistência múltipla às doenças, seu potencial produtivo e adaptabilidade às principais regiões produtoras desta fibra (Andrade et al., 1999; Freire et al., 1999b; Lanza et al., 1999; Cassetari Neto et al., 2001).

Cia et al. (1999) demonstraram que nas condições edafoclimáticas de Mato Grosso, a redução de produtividade pode chegar a 75% em cultivares mais suscetíveis à doença. Segundo Freire et al. (1999a), as perdas estimadas devido às doenças na cultura do

algodão no estado de Mato Grosso e Goiás na safra 98/99 foram da ordem de 14%, tendo a mancha de ramulária sido responsável por uma perda de 3,8%. As perdas causadas pela doença são variáveis em função do cultivar e das condições de cultivo (Suassuna & Coutinho, 2007).

Aquino et al. (2008a) trabalhando com o controle químico da doença observou que na ausência de controle as perdas foram de 49% em relação ao controle químico com três aplicações da mistura de fungicidas triazóis e estrobirulinas.

## 2. INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das culturas mais tradicionais do país, cultivado em diversas regiões Brasil e do mundo, por possuir grande importância econômica e por ser um dos pilares da cadeia produtiva têxtil, além de grande importância social, por gerar empregos e renda ao trabalhador do campo. Entretanto, uma das principais dificuldades no estabelecimento da cotonicultura em diversas regiões do Brasil e do mundo é a ocorrência de doenças. O algodoeiro é cultivado em sistema de monocultura, o que acarreta em uma maior prevalência de epidemias severas de várias doenças, ao contrário do que ocorre em cultivos consorciados ou mesmo utilizando-se a rotação de cultura (Suassuna & Coutinho 2007). Além disso, a indisponibilidade de cultivares com resistência às diversas doenças, ao cotonicultor devido principalmente à pouca ênfase nos programas de melhoramento genético, agrava ainda mais esse panorama (Juliatti & Ruano, 1997; Yamamoto, 2003; Cassetari & Machado, 2006).

A cotonicultura brasileira tem experimentado, nos últimos anos, uma acentuada expansão em área cultivada e, acompanhando esse aumento, os aspectos fitossanitários apresentam-se como limitantes na obtenção de índices elevados de produtividade. (Moreira & Santos, 1994; Freire, 1998; Barbosa, 2000).

A mancha de ramulária causada pelo fungo *Ramularia areola* é considerada atualmente a principal doença foliar da cultura na região centro-oeste do Brasil. Essa doença encontra-se disseminada em praticamente todas as regiões produtoras do algodoeiro (Suassuna & Coutinho, 2007). Embora considerada de importância secundária, por ocorrer sempre no final do ciclo da cultura, a mancha de ramulária passou a ser uma das principais doenças do algodoeiro devido, em grande parte, ao aumento da sua área cultivada, na região dos cerrados e ao uso de cultivares suscetíveis à doença (Fundação

MT, 2001; Paiva, 2001; Utiamada et al., 2003). A doença causa desfolha precoce e pode ocasionar perdas de até 30% quando medidas de controle não são adotadas (Utiamada et al., 2003; Suassuna & Coutinho, 2007). Entretanto, pode-se notar que o potencial de dano dessa doença pode ser ainda mais grave, pois em outros países como Madagascar e Índia, a mesma já foi responsável por perdas acima de 60% da produção (Cauquil & Sément, 1973; Shivankar & Wangikar, 1992).

Rathaiah (1977) estudou a germinação dos conídios de *R. areola* e o processo infeccioso e observou que a germinação e o crescimento do tubo germinativo estão associados diretamente com o teor de umidade do ambiente; tal fato caracteriza-se, atualmente, como importante informação em programas de manejo integrado dessa doença no algodoeiro. O gênero *Ramularia* mostra-se bastante variável com relação aos processos de germinação, penetração e esporulação no seu hospedeiro. Entretanto, estudos sobre o processo infeccioso de *R. areola* em algodoeiro ainda são escassos e muitas perguntas sobre a patogênese dessa doença ainda precisam ser respondidas como, por exemplo, por onde ocorre o processo de penetração no hospedeiro, em que face da folha surgem os sinais do patógeno, qual o tempo para o início da germinação dos conídios, dentre outras informações.

O objetivo desse trabalho foi estudar detalhadamente o processo infeccioso do fungo *R. areola* em folhas de algodoeiro utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Crescimento das plantas

Um total de dez plantas de algodoeiro da cultivar Nu-Opal, suscetível à mancha de ramulária, foram crescidas em vasos plásticos contendo seis litros de substrato. O substrato foi composto de solo misturado com areia e esterco de curral na proporção de 3:1:1. A acidez do solo foi corrigida com calcário dolomítico ( $6,0 \text{ t ha}^{-1}$ ) e o mesmo foi fertilizado com super-simples, sulfato de amônio, cloreto de potássio e sulfato de magnésio (10; 0,75; 0,25 e 0,5 g/kg de substrato, respectivamente), de acordo com a análise química do solo. A classe do solo utilizado no preparo do substrato foi um Argissolo Vermelho Amarelo de textura argilosa com as seguintes características químicas: pH em  $\text{H}_2\text{O}$  (relação 1:2,5) = 5,4; P =  $27,7 \text{ mg dm}^{-3}$ ; K =  $130 \text{ mg dm}^{-3}$  (P-K: extrator Mehlich 1)  $\text{Ca}^{2+} = 38 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{Mg}^{2+} = 6 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Ca e Mg: extrator KCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ); H + Al =  $47,9 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (extrator acetato de cálcio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 7,0); SB =  $47,3 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; V = 50%; m = 0%; M.O. =  $32 \text{ g kg}^{-1}$  e P-rem = 23,8. As plantas de algodoeiro foram mantidas em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e regadas diariamente. Foram realizadas de duas a quatro aplicações do inseticida Endosulfan ( $0,75 \text{ ml/L}$ ) para o controle de pragas.

#### 3.2 Obtenção e preparo do inóculo de *R. areola* e inoculação de folhas e plantas

Folhas de plantas de algodoeiro da cultivar Nu-Opal cultivadas na área experimental da UFV, em Coimbra (MG), apresentando sintomas da mancha de ramulária foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos e trazidas para o laboratório de Interação Planta-Patógeno do Departamento de Fitopatologia da UFV. As folhas foram lavadas com água destilada com auxílio de um pincel de cerdas macias para remoção dos conídios.

Posteriormente, a suspensão obtida foi filtrada em camada dupla de gaze estéril para a retirada de possíveis impurezas e ajustada para a concentração de  $1,5 \times 10^5$  conídios/ml com o auxílio de hemacitômetro.

Plantas de algodoeiro no estágio V4 (30 dias após emergência), (Marur & Ruano, 2001), cultivadas em casa de vegetação, foram inoculadas com a suspensão de conídios de *R. areola* com o auxílio de um pulverizador manual, de modo a cobrir o mais homogêneo possível as superfícies abaxial e adaxial das folhas. Posteriormente, as plantas foram mantidas em câmara de nevoeiro (temperatura de 25°C e umidade relativa de  $\pm 90\%$ ) por 48 h e, em seguida, transferidas para casa de vegetação onde permaneceram até o surgimento dos sintomas da doença.

Folhas destacadas de plantas de algodoeiro também foram inoculadas com *R. areola*. As folhas coletadas de plantas crescendo em casa de vegetação foram lavadas com água destilada estéril e colocadas sob tela de náilon no interior de gerbox contendo uma esponja umedecida com água. Os pecíolos das folhas foram envolvidos em algodão umedecido com água estéril. A inoculação da face adaxial das folhas foi realizada pulverizando-as com uma suspensão de conídios na concentração de  $1,5 \times 10^5$  conídios/ml. Posteriormente, os gerbox foram transferidos para câmara de crescimento tipo B.O.D. (temperatura de 25°C, umidade relativa de  $\approx 60\%$  e fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro) onde permaneceram até às 12 horas após inoculação (HAI).

### **3.3 Coleta e preparo das amostras de folhas de algodoeiro para observações do processo infeccioso de *R. areola* utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Fragmentos de folhas ( $\approx 5 \text{ cm}^2$ ) contendo sintomas da mancha de ramulária e sinais do patógeno foram coletados das plantas de algodoeiro aos 12 e 22 dias após a inoculação (DAI). Fragmentos de folhas também foram coletados das folhas inoculadas com *R.*

*areola* em condições controladas às 12 (HAI). Os fragmentos obtidos foram colocados em frascos de vidro contendo fixativo glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e, em seguida, armazenados em geladeira. Após uma semana, os fragmentos foram lavados com tampão cacodilato de sódio por quatro vezes durante 10 min e desidratados em uma série alcoólica de 30, 50, 70, 80, 95 e 100%, com intervalos de 10 min entre as trocas, sendo realizadas três passagens na última concentração, no mesmo intervalo de tempo. As amostras coletadas aos 12 e 22 DAI foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio a 1% preparado em tampão cacodilato de sódio 0,2 M (pH 7,2), durante 2 horas, em condições ambiente. Após a desidratação, os fragmentos foram submetidos à secagem em ponto crítico utilizando-se o aparelho “Critical Point Dryer” (Balzers, modelo CPD020). Uma parte dos fragmentos foram montados sobre suportes metálicos “stubs” de alumínio cobertos previamente com fita adesiva dupla face. A outra parte das amostras foi fragmentada transversalmente com auxílio de um bisturi para obtenção de fragmentos de folhas de  $\approx 1$  mm de altura. Esses fragmentos foram dispostos sobre os “stubs” com a face cortada voltada para cima. Em seguida, todos os fragmentos foram cobertos com ouro por meio de metalização no aparelho “Sputter Coater” acoplado a uma “Freezing Drying Unit” (Balzers, FDU010). Os fragmentos de folha foram examinados no microscópio eletrônico de varredura (MEV) (LEO, modelo 1430VP) operado a 10 Kv para a obtenção das micrografias eletrônicas.

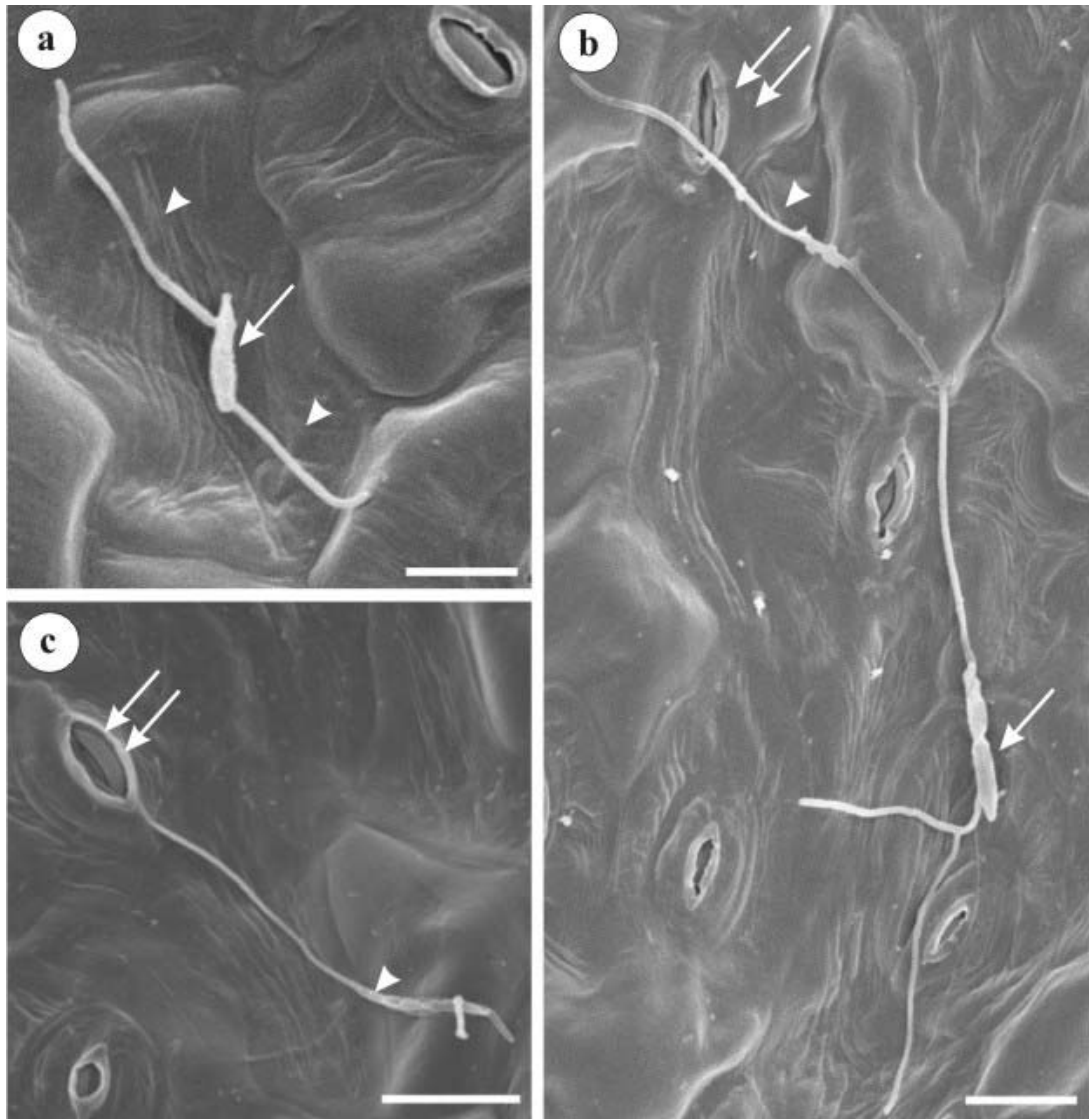
### **3.4 Avaliação da severidade da mancha de ramulária em plantas de algodoeiro**

A severidade da doença nas plantas de algodoeiro foi avaliada aos 12 e 22 DAI utilizando-se uma escala diagramática com severidade variando de 0,05% a 67,20% (Aquino et al., 2008b).

#### 4. RESULTADOS & DISCUSSÃO

O processo infeccioso de *R. areola* em folhas de algodoeiro, investigado através da microscopia eletrônica de varredura, mostrou que os conídios do fungo germinaram e produziram, em sua maioria, dois tubos germinativos nas suas extremidades (Fig. 1a). As extremidades dos tubos germinativos cresceram em direção ao interior dos estômatos mais próximos passando pelas cristas das células guardas, mas sem penetrá-los (Fig. 1b). Em alguns casos, o tubo germinativo foi encontrado lateralmente às células guardas do estômato sem se dirigir para o interior da cavidade sub-estomática, o que possivelmente indicou a ausência de quimiotropismo (Fig. 1b). Fato semelhante também foi registrado para outras espécies de patógenos como *Puccinia sorghi* Schwein. e *Septoria silybi* Pass., em sorgo e cardo mariano, respectivamente (Wynn, 1981; Moscow & Lindow, 1989). Além disso, um único conídio de *R. areola* foi capaz de originar mais de um tubo germinativo durante o processo de germinação, onde foi observado que 87% dos conídios germinados formaram dois tubos germinativos, a exemplo do que foi relatado para *Ramularia rhei* Allesch. em ruibarbo (*Rheum rhaponticum*), onde 80% dos conídios germinados também formaram dois tubos germinativos (Zhao et al., 2006). Graaf et al. (2002) relataram encontrar até quatro tubos germinativos oriundos de um único conídio germinado de *Phoma clematidina* (Thiim.) Borema. Essa grande quantidade de tubos germinativos foi atribuída ao fenômeno denominado de confusão trópica, o qual é um mecanismo de resistência do hospedeiro para impedir o processo de penetração de alguns patógenos fúngicos (Wynn, 1981). Sabe-se que, grande disponibilidade de nutrientes na filosfera da planta hospedeira poderia inibir ou até mesmo maximizar a formação de tubos germinativos pelos conídios do patógeno e, conseqüentemente, trazer algumas vantagens adaptativas para tal, como garantir que a penetração no interior dos tecidos do hospedeiro

ocorra com sucesso. Babu et al. (2007, 2009) estudando os patossistemas mamona-*Cercospora ricinella* Sacc. & Berl. e mandioca-*Cercospora henningsii* Allesch., também não observaram direcionamento dos conídios dessas duas espécies de fungos para o interior dos estômatos presentes na superfície adaxial das folhas dos seus hospedeiros.



**Figura 1.** Eletromicrografias de varredura dos detalhes da germinação e penetração dos conídios de *Ramularia areola* na superfície abaxial das folhas de algodoeiro (Seta = conídio; Duas setas = estômato (b) e tubo germinativo penetrando pelo estômato (c); Cabeça de seta = tubo germinativo). Barras em a = 10 μm; b e c = 20 μm.

Os tubos germinativos de *R. areola* foram de certa forma, alongados (Fig. 1b), o que leva a crer na existência de uma relação nutricional entre o fungo e a filosfera da folha do algodoeiro. Fato semelhante foi relatado por Ellingboe (1972) para o patossistema cevada-*Erysiphe graminis*. A penetração do tubo germinativo de *R. areola* nas folhas de algodoeiro ocorreu tendenciosamente via estômato (Fig. 1c), indicando ser esse o local preferencial de entrada no hospedeiro para garantir que a colonização dos tecidos seja eficiente. Não foi observado a presença de apressórios, nem mesmo rudimentares, nas extremidades dos tubos germinativos formados pelos conídios de *R. areola*, a exemplo do que é comumente observado em outras espécies de fungos tais como *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. em arroz (Ohtake et al., 1999). O processo de penetração de algumas espécies de fungos a exemplo de *P. grisea* em arroz ocorre mediante a formação de um apressório muito bem elaborado que necessita de energia oriunda do conídio para garantir a formação de uma pressão de turgor necessária para vencer mecanicamente a camada de cutícula e a parede celular do hospedeiro (Howard et al. 1991; Xu et al. 1998). Existe um relato na literatura de que conídios de *R. areola* são capazes de formar apressórios, porém apenas quando as plantas são submetidas às condições de noites com alta umidade relativa e dias secos (Rathaiah, 1977), condições essas que não ocorreram no presente trabalho.

A facilidade do fungo *R. areola* em entrar pelos estômatos sem nenhum impedimento a nível tigmotrópico pode contribuir para que o processo de colonização seja eficiente. Diversos autores concordam com a afirmação de que os estômatos são vias preferenciais para a penetração fúngica (Ruehle 1964; Moscow & Lindow 1989; Pimentel et al. 2006; Dehpour et al. 2007; Graça 2007). Porém, a relação de alguns fungos causadores de doenças foliares com os estômatos de seus hospedeiros é complexa. Algumas espécies de fungos biotróficos podem secretar terpenóides que aumentam o fluxo de potássio no

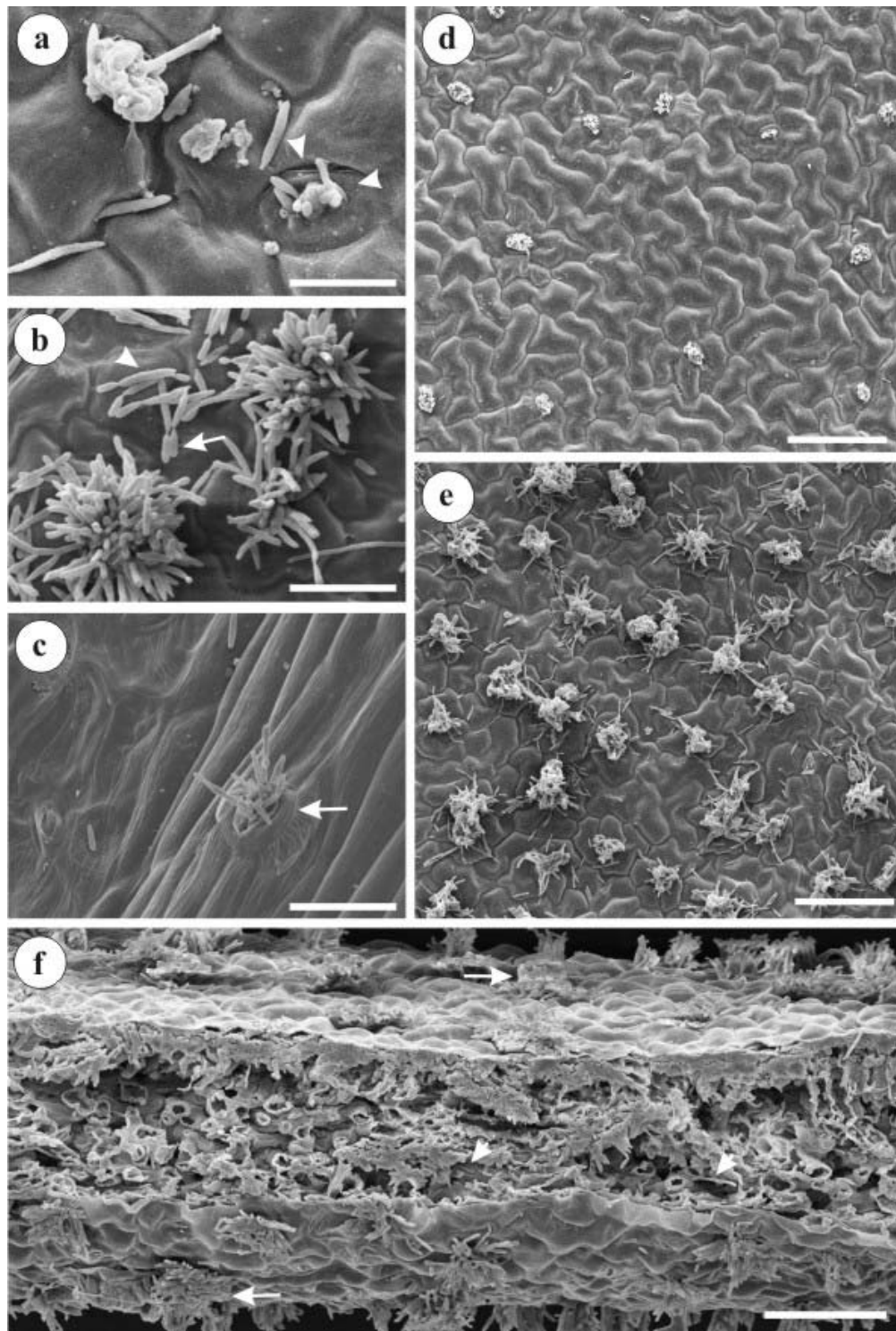
interior das células guardas dos estômatos induzindo a abertura constante dessas estruturas e, conseqüentemente, a perda excessiva de água pela transpiração da folha (Turner & Graniti, 1969), podendo também ocorrer o inverso (Arntzen et al., 1973). Sabe-se que fatores de natureza química possivelmente envolvidos com a fase de penetração de *R. areola* ainda não foram relatados na literatura.

A esporulação de *R. areola* ocorreu apenas em tecidos necrosados das folhas de algodoeiro com os conidióforos emergindo agrupados através dos estômatos (Fig. 2a-b). A esporulação do fungo pelos estômatos das folhas de algodoeiro aumentou dos 12 (Fig. 2c) aos 22 DAI (Fig. 2d).

Observou-se esporulação do fungo pelo estômato presente na nervura foliar, o que passa a ser uma ocorrência quase que atípica para o patossistema estudado (Fig. 2e). Fungos que colonizam preferencialmente as nervuras das folhas são comumente mais agressivos, pois, em contato direto com os vasos xilemáticos carreando seiva bruta, podem disseminar suas estruturas reprodutivas, além de toxinas, de forma mais rápida e eficiente a exemplo do que se conhece para o patossistema feijão-*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magmis) Briosi & Cavana (Jerba et al., 2005). No caso do algodoeiro, é incomum observar a presença de estômatos sob a região da nervura foliar. Babu et al. (2009) também relatam o mesmo fato em folhas de mandioca. A presença de estruturas reprodutivas de *R. areola* em estômatos presentes na região da nervura foliar leva a crer que o fungo tenha colonizado os tecidos vasculares do algodoeiro e não sendo necessariamente específico para tecidos da região do mesófilo ou parênquima.

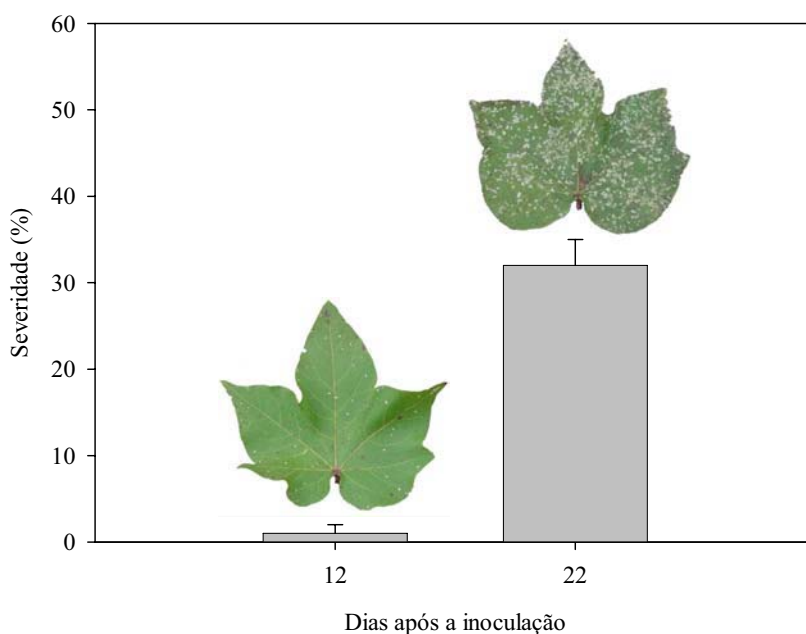
A esporulação de *R. areola* ocorreu nas faces adaxial e abaxial da folha de algodoeiro (Fig. 2f). Resultados semelhantes foram observados por Koike et al. (2004) para *Ramularia sphaeroidea* Sacc. em *Vicia* sp. e também por Babu et al. (2007) para *C. ricinella* em folhas de mamona. Observou-se uma grande quantidade de hifas de *R. areola*

colonizando inter e intra celularmente a região do mesófilo das folhas de algodoeiro (Fig. 2f). Observou-se o colapso de um grande número de células na região necrótica da folha de algodoeiro somente aos 22 DAI (Fig. 2f), indicando um avançado estágio de infecção. Huss & Sachs (1998) e Hostert et al. (2006) diagnosticaram os primeiros sintomas da infecção por *Ramularia collo-cygni* B. Sutton & J.M. Waller em cevada e *Ramularia carthami* Zaprom. Em cártamo, respectivamente, aos 7 DAI. Entretanto, Huerta-Espino et al. (2006) relataram um período de 14 dias para o desenvolvimento dos primeiros sintomas causados por *Ramularia cercosporelloides* V. Bram & Crous em folhas de cártamo, o que demonstra ocorrer variabilidade fisiológica para os fungos do gênero *Ramularia*. Em termos práticos, a diagnose precoce da colonização por fungos foliares nos tecidos dos seus hospedeiros, é importante por representar uma evidência da presença do patógeno e, com isso, iniciar o controle da doença.



**Figura 2.** Eletromicrografias de varredura dos processos de colonização e esporulação em folhas de algodoeiro por *R. areola* nas superfícies adaxial e abaxial da epiderme. a. início da esporulação dos conídios pelo estômato (cabeça de seta = conídios); b. estágio avançado da esporulação (cabeça de seta = conidióforos e seta = conídio); c. caso atípico: esporulação sob a nervura foliar (seta = estômato); d. esporulação aos 12 DAI; e. esporulação aos 22 DAI; f. colonização de hifas de *R. areola* em folhas fraturadas de algodoeiro (seta = esporulação em ambas as faces da superfície da folha; cabeça de seta = hifas de *R. areola* colonizando inter e intra celularmente na região do mesófilo). Barras em a, b, e = 20  $\mu\text{m}$ ; c, d e f = 100  $\mu\text{m}$ .

A observação a nível microscópico corrobora com os sintomas da mancha de ramulária observados na face adaxial de folhas de algodoeiro aos 12 DAI (Fig. 3). Esses sintomas se maximizaram aos 22 DAI quando uma intensa esporulação do fungo foi observada na superfície adaxial das folhas, o que foi fielmente retratado pela maior severidade da doença (Fig. 3).



**Figura 3.** Severidade da mancha de ramulária em folhas de algodoeiro aos 12 e 22 DAI com *Ramularia areola*. Os sintomas da doença na face adaxial das folhas de algodoeiro estão representados para cada época de avaliação.

Ao contrário de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. que produziu estruturas reprodutivas diretamente nas lesões necróticas formadas nas folhas de tangerina infectadas, os estômatos presentes nas folhas de algodoeiro aparentaram ser uma via acessível para a esporulação de *R. areola* (Dehpour et al., 2007). Algumas espécies de fungos podem, inclusive, produzir conidióforos sustentando conídios tanto na página adaxial quanto abaxial da folha a exemplo do que foi relatado para *C. ricinella* em mamona (Babu et al., 2007) e também para *R. areola* no presente trabalho.

Os resultados desse trabalho contribuem para melhor elucidar o processo infeccioso de *R. areola* em algodoeiro. Essas informações são importantes porque contribuem para o melhor entendimento da relação fungo-planta no sentido de que medidas de controle que sejam mais eficientes para o controle da doença sejam obtidas.

## 5. CONCLUSÕES

- Os conídios germinaram a partir das 12 HAI;
- A maioria dos conídios germinados formou pelos menos dois tubos germinativos;
- A penetração do tubo germinativo de *R. areola* nas folhas de algodoeiro ocorreu via estômato;
- A esporulação de *R. areola* ocorreu nas faces adaxial e abaxial da folha de algodoeiro;
- A colonização das hifas de *R. areola* foi inter e intra celularmente a região do mesófilo das folhas de algodoeiro;
- Os primeiros sintomas da doença surgiram em ambas as faces da folha de algodoeiro aos 12 DAI.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALGODÃO BRASILEIRO. <http://www.algodao.agr.br/cms/index.php?>. Acesso em dezembro de 2008.
- ANDRADE, P.M.C., CASSETARI NETO, D. & MACHADO, A.Q. Controle químico de doenças em algodão no Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira*. 24 (Supl.): 262. 1999.
- AQUINO, L.A., BERGER, P. G., RODRIGUES, F.A., ZAMBOLIM, L., OGOSHI, F., MIRANDA, L.M. & LÉLIS, M.M. Controle alternativo da mancha de *Ramularia* do algodoeiro. *Summa Phytopathologica*. 34: 131-136. 2008a.
- AQUINO, L.A.; BERGER, P.G.; RODRIGUES, F.A.; ZAMBOLIM, L.; HERNANDEZ, J.F.R.; MIRANDA, L.M. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de ramularia do algodoeiro. *Summa Phytopathologica*. 34 (2): 361-363. 2008b.
- ARNTZEN, C.J., HAUGH, M.F. & BOBICK, S. Induction of stomatal closure by *Helminthosporium maydis* pathotoxin. *Plant Physiology*. 52: 569-574. 1973.
- BABU, A.N., PHILIP, T., KARIARPA, B.K. & KAMBLE, C.K. Scanning electron microscopy of the infection process of *Cercospora henningsii* on Cassava leaves. *Journal Phytopathology*. 157 (1): 57-62. 2009.
- BABU, A.N., PHILIP, T. & KUMAR, V. Development of the leaf spot fungus, *Cercospora ricinella*, on Castor leaf – an SEM account. *Journal Phytopathology*. 155: 426-430. 2007.
- BARBOSA, M.Z., KONDO, J.I., SOUZA, M.C.M., FUZATTO, M.G. & YASBEK, J.R. W. Têxteis de algodão: realidade e perspectivas. São Paulo. 1997. pp. 66.
- BARBOSA, M. Z. Algodão no cerrado. <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?>. Acesso em dezembro de 2008.
- BELL, A.A. AREOLATE MILDEW. In: Watkins, G.M. (Ed.). *Compendium of cotton diseases*. 1981. p.32-35.
- BELTRÃO, N.E.M. O agronegócio de algodão no Brasil. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Brasília. 1999. p. 17-85.
- BOLEK, Y., KAMAL, M. EL-ZIK., PEPPER, A.E., BELL, A.A., MAGILL, C.W., CARDOSO, E. G. Subprodutos do algodão como alimento animal. In: Embrapa Agropecuária Oeste. *Algodão: tecnologia de produção*. Dourados. 2001.
- CARVALHO, J.D.V. Cultivo do algodão. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília. 2007.

- CASSETARI NETO, D. & MACHADO, A. Q. Doenças do Algodoeiro: Diagnose e Controle. 2ª. Ed. Várzea Grande MT. 2006.
- CASSETARI NETO, D., MACHADO, R.S.S. & FARIA, A.Y.K. Comportamento de genótipos de algodão em relação às doenças fúngicas no Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira*. 25 (Supl.):362-363. 2000.
- CAUQUIL, J. & SÉMENT, G.L. Faux mildiou du cotonnier (*Ramularia areola* Atk.) dans le sud-ouest de Madagascar. *Coton et Fibres Tropicales*. 28: 279-286. 1973.
- 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. Ribeirão Preto SP. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, 1999. p. 468-470.
- CIA, E. & SALGADO, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamim Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.). *Manual de Fitopatologia*. Sao Paulo: Agronômica Ceres. 1997. p.40-55.
- CIA, E., FUZATTO, M.G., ALMEIDA, W.P., RUANO, O., KONDO, J.I., PIZZINATTO, M. A., CARVALHO, L.H., ROSSETTO, R., KASAI, F.S. & FOLTRAN, D. E. Resistência genética a doenças e nematóides em genótipos de algodoeiro. *Summa Phytopathologica*. 31(4): 323-326. 2005.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. <http://www.conab.gov.br>. Acesso em novembro de 2008.
- DEGRANDE, P.E. Manejo de Pragas e Doenças: realidade e desafios. In: Congresso Internacional do Agronegócio do Algodão. Anais. Cuiabá MS. 2000. p.229-244.
- DEHPOUR, A.A., ALAVI, S.V. & MAJD. A. Light and scanning electron microscopy studies on the penetration and infection processes of *Alternaria Alternata*, causing brown spot on Minneola tangelo in the west Mazandaran – Iran. *World Applied Sciences Journal*. 2 (1): 68-72. 2007.
- EHRlich, J. & WOLF, F.A. Areolate mildew of cotton. *Phytopathology*. 22: 229-240. 1932.
- ELLINGBOE, A. H. Genetics and physiology of primary infection by *Erysiphe graminis*. *Phytopathology*. 62:401-406.1972
- FERREIRA, I.L. & FREIRE, E.C. Industrialização. In: Beltrão, N.E.M. (Org.). *O agronegócio do algodão no Brasil*. Brasília. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2001. 2: 926-931.

- FERREIRA FILHO, J.B.S. Comercialização do algodão no Brasil. In: Fontoura, J.U.G. & Freire, E. C. (Eds.). Algodão: tecnologia de produção. Dourados. Embrapa Agropecuária Oeste. 2001. p. 35-53.
- FREIRE, E.C. Algodão no Cerrado. Campina Grande PB. Embrapa-Algodão. (Documentos, 57). 1998. p.29.
- FREIRE, E.C. História do Algodão no Cerrado. In: Freire, E.C. (Ed.). Algodão no Cerrado do Brasil. Brasília: Abrapa. 2007. p. 21-52.
- FREIRE, E.C., FARIAS, F.J. & AGUIAR, P.H. Perdas estimadas da produção de algodão devido a pragas e doenças no centro-oeste – Safra 1998/1999. In: II Congresso Brasileiro de Algodão, Ribeirão Preto SP. Anais. Embrapa Algodão, 1999a. p.1-3.
- FREIRE, E.C. Comportamento de novas cultivares e linhagens com relação a doenças no centro-oeste – safra 1998/99. In: Congresso Brasileiro de Algodão. Ribeirão Preto SP. Anais. Embrapa Algodão. 1999b. p.454-457.
- FUNDAÇÃO MT. Fundação Mato Grosso. Boletim de pesquisa de algodão. Rondonópolis MT. (Boletim 04). 2001. p.238.
- FUZATTO, M.G., CARVALHO, L.H., CIA, E., SILVA, N.M., CHIAVEGATO, E.J. & LÜDERS, R.R. (Boletim 200). <http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Algodao>. Acesso em dezembro de 2008.
- GAZETA MERCANTIL. Commodities - Demanda menor derruba algodão. <http://indexet.gazetamercantil.com.br/>. Acesso em dezembro de 2008.
- GRAAF, P.V., JOSEPH, M.E., CHARTIER-HOLLIS, J.M. & O'NEILL, T.M. Prepenetration stages in infection of clematis by *Phoma clematidina*. Plant Pathology. 51: 331-337. 2002.
- GRAÇA R.N. Penetração e condições favoráveis à infecção de *Cylindrocladium pteridis* em eucalipto. (Dissertação de Mestrado). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2007.
- HARRIS, G. Deficiência de potássio em algodoeiro relacionada à mancha foliar. Informações Agronômicas. 96: 1-2. 2001.
- HILLOCKS, R.J. Fungal disease of the leaf. In: Hillocks, R.J. (Ed.). Cotton diseases. Wallington: CAB International. 6: 191-238. 1992.
- HOLEY, N.R., SAPUTE, G.N., GHODERAO, B.N. & PESHNEY, N.L. Evaluation of diploid cottons (*Gossypium species*) for resistance to grey mildew disease caused by *ramularia gossypii*. Crop Protection. 62: 293-294. 1992.

- HOSTERT, N. D., BLOMQUIST, C. L., THOMAS, S. L., FOGLE, D. G. & DAVIS, R. M. First Report of *Ramularia carthami*, Causal Agent of Ramularia Leaf Spot of Safflower, in California. *Plant Disease*. 90: 1260. 2006.
- HOWARD, R.J., FERRARI, M.A., ROACH, D.H. & MONEY, N.P. Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Microbiology*. 88: 11281-11284. 1991.
- HUERTA-ESPINO, J., CONSTANTINESCU, O., VELÁSQUEZ, C. & HERRERA-FOESSEL, S.A.; FIGUEROA-LOPES, P. First report of *Ramularia cercosporelloides* on *carthamus tinctorius* in Northwestern México. *Plant disease*. 90 (12): 1552. 2006.
- HUSS, H. & SACHS, E. Ramularia-Blattflecken-oder-Sprenkelkrankheit der Gerste. *Der Pflanzenarzt*. 51: 15–18. 1998.
- IAMAMOTO, M.M. Doenças foliares do algodoeiro. 1ª ed. Jaboticabal SP. Funep. 2003. p.41.
- JERBA, V.F., RODELLA, R.A. & FURTADO, E.L. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 40 (3): 217-223. 2005.
- JULIATTI, F. C. & RUANO, A. Algodão: Doenças causadas por fungos e bactérias. In: Vale, F.X.R. & Zambolim, L. Controle de doenças de plantas. Viçosa MG. 1997. p. 555-570.
- KOIKE, S.T., SMITH, R.F., CROUS, P.W. & GROENEWALD, J.Z. Leaf and stem spot caused by *Ramularia sphaeroidea* on purple and lana woollypod vetch (*Vicia* spp.) cover crops in California. *Plant disease*. 88 (2): 221. 2004.
- IAMAMOTO, M.M. Doenças do algodoeiro. Interação patógeno-hospedeiro. Jaboticabal SP. Funep. 2007. p.62.
- JULIATTI, F.C. & RUANO, A. Algodão: Doenças causadas por fungos e bactérias. In: Vale, F.X.R. & Zambolim, L. Controle de doenças de plantas. Viçosa MG: UFV. 1997. p. 555-570.
- LANZA, M.A. Comportamento de cultivares de algodão quanto à resistência as viroses. In: Congresso Brasileiro de Algodão, Ribeirão Preto SP. Anais. Embrapa Algodão. 1999. p.428-430.
- LUCENA, V.S. Caracterização da resistência do algodoeiro a *Ramularia areola* e variabilidade molecular do patógeno. (Dissertação Mestrado). Rio Grande do Norte. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2007.

- MACHADO, A.Q., ANDRADE, P.M.C. & CASSETARI NETO, D. Controle químico de doenças da parte aérea do algodão em Mato Grosso. In: II Congresso Brasileiro de Algodão, Ribeirão Preto SP. Anais. Embrapa Algodão. 1999. p. 483-484.
- 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 de Oleaginosas e Fibras. 6(2): 565-575. 2002.
- MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2ª ed. New York: Academic press. 1995. p.889.
- MARUR, C.J.; RUANO, O. A reference system for determination of developmental stages of upland cotton. Revista de Oleaginosas e Fibras, 5(2): 313-317, 2001.
- MIRANDA, J.E. & SUASSUNA, N.D. Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. (Documento 254). Campina Grande PB. Embrapa Algodão. 2004.
- MOSCOW, D. & LINDOW, S.E. Infection of milk thistle (*Silybum marianum*) leaves by *Septoria silybi*. Phytopathology. 79: 1085-1090. 1989.
- MOREIRA, J.A.N. & SANTOS, R.F. Origem, crescimento e progresso da cotonicultura no Brasil. Campina Grande PB. Embrapa Algodão. 1994. p.169.
- MUKEWAR, P.M. & MAYEE, C.D. Grey mildew immune cotton germplasm lines registred. Indian Phytopathology. 54 (1): 141. 2001.
- MUKEWAR, P.M., SHEO, R., SINGH, V.V. & ANAP, G.R. Screening of tree cotton (*Gossypium arboreum*) germplam to grey mildew caused by *Ramularia areola*. Indian Journal of Agricultural Science. 65 (4): 298-300. 1995.
- NOGUEIRA JUNIOR, S. & BARBOSA, M.Z. O papel da pesquisa e a importância do cerrado para a reorganização da cotonicultura brasileira. Agricola. 52 (2): 87-98. 2005.
- OHTAKE M.; H. YAMAMOTO & T. UCHIYAMAT. Influences of metabolic inhibitors and hydrolytic enzymes on the adhesion of appressoria of *Pyricularia oryzae* to wax-coated cover-glasses. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 63: 978-982. 1999.
- PAIVA, F.A. Doenças. In: Embrapa Agropecuária do Oeste. Algodão: tecnologia de produção. Embrapa Algodão. Dourados MS. 2001. p. 245-266.
- PUNIT, M., MUKEWAR, P.M., RAJ, S. & SINGH, V.V. Anatomy of *Gossypium arboretum* lines immune to grey mildew disease. Journal of Cotton Research and Development. 11: 191-195. 1997.
- RATHAIAH, Y. Reaction of cotton species and cultivars to four isolates of *Ramularia areola*. Phytopathology. 66: 1007-1009. 1976.

- RATHAIAH, Y. Spore germination and mode of cotton infection by *Ramularia areola*. *Phytopathology*. 67: 351-357. 1977.
- REVISTA BIODIESEL. A hora e a vez do algodão - Cultura se insere no mercado de biocombustíveis como mais uma opção de matéria prima. Disponível em: <http://www.revistabiodiesel.com.br/edicoes/18/> Acessado em 20 de dezembro de 2008.
- RICHETTI, A. & MELO FILHO, G.A. Aspectos socioeconômicos do algodoeiro. In: Embrapa Agropecuária do Oeste. Algodão: tecnologia de produção. Embrapa Algodão. Dourados MS. 2001. p. 13-34.
- ROCHA, C.L., CARVALHO, C.L. & OLIVEIRA, C.G. Avaliação de fungicidas no controle de ramularia (*Ramularia aerola*) na cultura do algodão. In: XXXVIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Brasília. Anais. 2005. p. 582 (Suplemento).
- RUEHLE, G.D. A strain of *Alternaria citri* Ellis & Pierce causing a leaf spot of rough lemon in Florida. *Phytopathology*. v.27, p. 863-865. 1964.
- SHIVANKAR, S.K. & WANGIKAR, P.D. Estimation of crop losses due to grey mildew disease of cotton caused by *Ramularia areola*. *Indian Phytopathology*. 45(1): 74-76. 1992.
- SUASSUNA, N.D.; COUTINHO, W.M.; FERREIRA, A.C. DE B. Manejo da mancha de *Ramularia* em algodoeiro. (Comunicado Técnico, 272). Campina Grande PB. Embrapa Algodão. 2006. p.4.
- SUASSUNA, N.D. & COUTINHO, W.M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: Freire, E.C. (Ed.). Algodão no Cerrado do Brasil. Brasília. 2007. p. 479-521.
- TURNER, N.C. & GRANITI, A. Fusicoccin: a fungal toxin that opens stomata. *Nature*. 223: 1070 - 1071. 1969.
- UTIAMADA, C.M., LOPES, J.C., SATO, L.N., ROIM, F.L.B., KAJIHARA, L. & OCCHIENA, E.M. Controle químico da ramularia (*Ramularia areola*) e ferrugem (*Phakopsora gossypii*) na cultura do algodoeiro. In: Congresso Brasileiro de Algodão. Goiânia GO. Algodão, um mercado em evolução. Anais. Embrapa Algodão. 2003. CD-ROM.
- WYNN, W.K. Tropic and taxic responses of pathogens to plants. *Annual Review of Phytopathology*. 19: 237-255. 1981.
- XU, JIN-R., STAIGER, C.J. & HAMER, J.E. Inactivation of the mitogen-activated protein kinase Mps1 from the rice blast fungus prevents penetration of host cells but allows activation of plant defense responses. *Plant Biology*. 95: 12713-12718. 1998.

ZHAO, Y., GROUT, B.W. & XU, X. Effects of temperature on germination and hyphal growth from conidia of *Ramularia rhei* and *Ascochyta rhei*, causing spot diseases of rhubarb (*Rheum rhaponticum*). *Plant Pathology*. 55: 664-670. 2006.