

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical**

**IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DO**  
**ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L. ) À *Meloidogyne***  
***incognita* RAÇA 3.**

**TATIANE CHEILA ZAMBIASI**

**CUIABÁ – MT**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical**

**IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DO**  
**ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L. ) À *Meloidogyne***  
***incognita* RAÇA 3.**

TATIANE CHEILA ZAMBIASI  
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. DANIEL CASSETARI NETO  
Co-orientador: Dr. JEAN LOUIS BELOT

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade Federal de Mato Grosso  
para obtenção do título de Mestre em  
Agricultura Tropical.

CUIABÁ - MT  
2008

Zambiasi, Tatiane Cheila  
Z24i Identificação de fontes de resistência do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) à *Meloidogyne incognita* raça 3 Tatiane Cheila Zambiasi .– Cuiabá: UFMT, 2008.  
95.; 30 cm.

Dissertação de (Mestrado) – UFMT / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.  
Orientador: Dr. Daniel Cassetari Neto .  
Co-orientador: Dr. Jean Louis Belot  
Banca Examinadora: Dr. Ivan Schuster, Dr. Luiz Gonzaga Chitarra e Dra. Rosangela da Silva.  
Referências Bibliográficas: f. 90.

1.Nematóides. 2. Marcador molecular. 3. *Meloidogyne incognita*. 4. Algodoeiro. 5. Genótipos de algodoeiro I. Título.

CDU 633.511

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título:** IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DO  
ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L. ) À *Meloidogyne incognita* RAÇA 3.

**Autora:** Tatiane Cheila Zambiasi

**Orientador:** Dr. Daniel Cassetari Neto

**Co-orientador:** Dr. Jean Louis Belot

Aprovada em 29 de maio de 2008.

Comissão Examinadora:

---

Dr. Daniel Cassetari Neto  
(FAMEV/UFMT) (Orientador)

---

Dr. Jean Louis R. Belot  
(CIRAD/COODETEC) (Co-orientador)

---

Dr. Ivan Schuster  
(COODETEC)

---

Dra. Rosangela da Silva  
(UNIVAG/Cuiabá)

---

Dr. Luiz Gonzaga Chitarra  
(EMBRAPA-Cuiabá)

## **IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DO ALGODOEIRO** **(*Gossypium hirsutum* L. ) À *Meloidogyne incognita* RAÇA 3.**

**RESUMO** – A cultura do algodoeiro *Gossypium hirsutum* L. no Mato Grosso é responsável por 60% da área plantada no Brasil, sendo 566,4 mil hectares na safra 2007/08 com esta malvacea. No sistema de cultivo do cerrado, a prática de utilização de monocultura e o uso intensivo de agrotóxicos contribuem para o aumento da incidência de várias doenças e nematóides. O nematóide das galhas (*Meloidogyne incognita*) é o mais importante interferindo na produtividade do algodoeiro, e conseqüentemente, causando maiores perdas econômicas. O objetivo do trabalho foi de testar diversas metodologias de campo e de casa de vegetação para avaliar a resistência à *M. incognita* de variedades e linhagens promissoras do programa de melhoramento da COODETEC. Foi estudada também a possibilidade do uso de marcadores moleculares microssatélites SSR para identificar alguns genes de resistência. Este trabalho foi realizado na COODETEC de Primavera do Leste – MT para os experimentos de campo, e em Cascavel – PR, para os experimentos de casa de vegetação e de biologia molecular, nas safras 2005/06 e 2006/7. As metodologias tanto de campo quanto de casa de vegetação foram capazes de discriminar os genótipos avaliados em relação à resistência à *M. incognita*, sendo que nem sempre existem correlações entre os diversos tipos de avaliação, provavelmente porque as diversas classificações envolvem mecanismos biológicos diferentes, e que existem interações entre organismos. Tampouco foi possível usar os marcadores moleculares previamente identificados por equipes internacionais como sendo ligados a genes de resistência à nematóides das galhas para identificar os genótipos do germoplasma local que apresentam resistência. Finalmente, pode-se constatar que ainda se faz necessário estudos básicos sobre os nematóides, estudos de metodologias de fenotipagem e estudos moleculares, capazes de identificar rapidamente a resistência ao nematóide das galhas em genótipos do algodoeiro.

**Palavras-chave:** Algodoeiro – Nematóide das galhas – Resistência -  
Marcadores moleculares.

## IDENTIFICATION OF COTTON SOURCES OF RESISTANCE TO

### *Meloidogyne incognita* RACE 3.

**ABSTRACT** - The cotton culture of *Gossypium hirsutum* L. in Mato Grosso is responsible for 60% of the planted area in Brazil, holding 567 thousand hectares during the 2007/2008 crop with this malvaceous plant. On the woody pasture cultivation system, the practice of the use of monoculture and the intensive use of agrotocics contribute to the raise of the incidence of several diseases and nematodes. The root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) is the most important interfering on the productivity of cotton and consequently, causing greater economic losses. The aim of this proceeding was to test several field and greenhouse methodologies to evaluate the resistance to *M. incognita* of varieties and promising lineages from Coodetec's breeding program. The possibility of the use of microsatellites molecular markers SSR to identify some genes of resistance were also studied. This research has been done at Coodetec in Primavera do Leste – MT to the field trials and in Cascavel – PR to the greenhouse and molecular biology trials on the 2005/2006 and 2006/2007 crop. The field as well as the greenhouse methodologies were able to describe the genotypes tested related to *M. incognita* resistance, and good correlations among several types of evaluation are not always found, probably because the several classifications involve different biological mechanisms and there are interactions among organisms. The use of molecular markers identified previously by international staffs was not possible either, as being connected to genes of resistance to root-knot nematodes to identify the genotypes of local germplasm which shows resistance. At last, it may be verified that basic studies about nematodes, studies of phenotyping methodologies and molecular studies are still needed, and they are able to identify quickly, the resistance to root-knot nematodes in genotypes of cotton.

**Keywords:** cotton – root-knot nematode – resistance – molecular markers

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Ensaio 1 de avaliação de resistência à nematóides de 20 genótipos. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.....	38
2 Número de galhas de <i>Meloidogyne incognita</i> e produtividade de algodão em caroço (Kg/ha) de 20 genótipos de algodoeiro. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.....	55
3 Disposição dos vasos no ensaio de variedades de algodoeiro inoculadas artificialmente com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3, em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006.....	59
4 Sementes de algodoeiro sendo cortadas para o processo de extração do DNA e adição de solução para o preparo das amostras no Laboratório da Coodetec. Cascavel – PR. 2008.....	75
5 Termociclador utilizado para a realização da reação de PCR para 80 genótipos de algodoeiro. Laboratório de Biotecnologia da Coodetec. Cascavel – PR. 2008.....	77
6 Diagrama de pedigree do germoplasma de resistência ao nematóide, M-120 RNR. (ROBINSON et al. 2001).....	84

## LISTA DE TABELAS

	Página
1 Hospedeiros diferenciais usados na identificação de raças de <i>Meloidogyne incognita</i> , sendo (+) hospedeiro favorável e (-) hospedeiro desfavorável (Taylor & Sasser, 1978).....	20
2 Escala de severidade para nematóides do algodoeiro.....	33
3 Escala de avaliação de severidade de galhas de <i>Meloidogyne incognita</i> em cultivo de algodoeiro, utilizado nos ensaios em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006.....	35
4 Genótipos utilizados nos ensaios 4 e 5 para ajuste de metodologia em casa de vegetação em Cascavel – PR. Safra 2006.....	36
5 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 1 da safra 2005/06.....	39
6 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 1 da safra 2006/07.....	40
7 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 2 da safra 2005/06.....	41
8 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 2 da safra 2006/07.....	42
9 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 3 da safra 2005/06.....	43
10 Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 3 da safra 2006/07.....	44

11	Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 4 da safra 2005/06.....	45
12	Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 4 da safra 2006/07.....	46
13	Avaliação de resistência ao nematóide das galhas ( <i>Meloidogyne incognita</i> ) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 5 da safra 2005/06.....	47
14	Notas de avaliação de severidade das testemunhas suscetíveis (FM 966) e resistentes (IAC 24) para o nematóide das galhas. Ensaio das safras 2005/06 e 2006/07. Primavera do Leste – MT...	48
15	Comparação de resultados obtidos no Instituto Agrônomo de Campinas e na Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola – Coodetec para variedades comerciais. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.....	50
16	Notas, Nota Relativa, Número de Galhas, Peso de Raiz e Produtividade no ensaio 1 de avaliação de genótipos para <i>Meloidogyne incognita</i> . Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06....	52
17	Matriz de correlação de Pearson para as variáveis Altura, Nota, Nota Relativa, Número de Galhas, Peso de Raiz, Número de Galhas/Peso de Raiz e Produtividade no ensaio 1. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.....	53
18	Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 30 dias após inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> . Cascavel – PR. 2006.....	57
19	Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 45 dias após inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> . Cascavel – PR. 2006.....	57
20	Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 60 dias após inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> . Cascavel – PR. 2006.....	58

21	Ensaio 2. Avaliação do algodoeiro semeado em vasos, 30 dias após a inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> em casa de vegetação. Cascavel – PR. 2006.....	59
22	Ensaio 3. Avaliação do número de galhas, peso de raiz e galhas/peso de raiz de variedades de algodoeiro inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> em tubetes, em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006/07.....	60
23	Resultado dos ensaios 4 e 5. Classificação de genótipos de algodoeiro avaliado em casa de vegetação em tubete, inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 3. Cascavel – PR. Safra 2005/06.	62
24	Genótipos e genealogia de linhagens/variedades de algodoeiro utilizadas para a caracterização molecular com marcadores ligados a genes de resistência ao nematóide das galhas. Cascavel – PR. 2007.....	72
25	Seqüência dos primers de microsatélite utilizados na avaliação de 80 genótipos de algodoeiro caracterizados quanto à resistência ao nematóide das galhas. Cascavel – PR. 2008.....	76

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1	A cultura do algodoeiro no Brasil.....	15
2.2	Os nematóides na cultura do algodoeiro.....	17
2.3	Resistência varietal do algodoeiro aos nematóides das galhas....	21
2.4	Marcadores moleculares para <i>Meloidogyne incognita</i> .....	23
	<b>CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE</b>	
	<b>GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) À</b>	
	<i>Meloidogyne incognita</i> RAÇA 3.....	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Ensaio de campo.....	32
3.2.2	Ensaio de casa de vegetação.....	34
3.2.3	Análise estatística.....	37
<b>3.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
3.3.1	Resultados de campo.....	38
3.3.2	Resultados de casa de vegetação.....	56
<b>3.4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
	<b>CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE</b>	
	<b>ALGODOEIRO COM MARCADOR MOLECULAR ASSOCIADO</b>	
	<b>À RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DAS GALHAS (<i>Meloidogyne</i></b>	
	<i>incognita</i> ) RAÇA 3.....	<b>66</b>
<b>4.1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>4.2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>72</b>
4.2.1	Material vegetal.....	72
4.2.2	Extração e quantificação do DNA.....	75
4.2.3	Reação de PCR e eletroforese.....	76
4.2.4	Análise dos dados.....	77
<b>4.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>78</b>

<b>4.4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>87</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>88</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>90</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>96</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro *Gossypium hirsutum* L. vem sofrendo transformações, tanto na área comercial quanto tecnológica. O algodoeiro que antes era cultivado em grande escala nos estados do Paraná e São Paulo, migrou para a região Centro-Oeste e teve mudanças intensas no sistema de produção, passando a ser um cultivo altamente tecnificado e totalmente mecanizado.

Na safra 2005/06, foram plantados 857,10 mil hectares e produzidas 605,50 mil toneladas de pluma, colocando o Brasil em posição de destaque na exportação mundial de fibras de algodão. Na última safra de 2006/07, a área plantada ultrapassou um milhão de hectares e a produção de fibra, 1,4 milhões de toneladas (CONAB, 2007).

A cotonicultura desenvolvida no cerrado passou a ser uma alternativa ao plantio de soja, tornando-se uma cultura de destaque no agronegócio brasileiro. Nesta região, o Mato Grosso foi responsável em 2007/08 por 566,4 mil hectares (49% da área plantada) com produção de 2.078,7 mil toneladas de algodão em caroço, correspondendo a 50% da produção nacional, classificando o Estado como o primeiro produtor e exportador nacional de fibra (ALGODÃO BRASILEIRO, 2008).

A cotonicultura brasileira corre o risco de perder estabilidade produtiva e competitividade econômica, devido ao agravamento do problema de doenças em decorrência do aumento da área cultivada em condições de elevada umidade e de práticas de monocultivo. O problema de doenças foi subestimado até agora, e à medida que altas produtividades têm sido

obtidas, isto se agrava, à custa do emprego maciço de defensivos, quer visando ao controle direto dos patógenos, quer aos seus vetores. O inevitável aumento dos custos de produção serve para mostrar o equívoco da persistência dessa prática cultural, considerar o provável surgimento de variantes de pragas e patógenos resistentes aos defensivos, o fatal desequilíbrio biológico e a concomitante agressão ao meio ambiente, e as possíveis restrições na comercialização, sobretudo externa, do algodão brasileiro.

Dessa forma é imperioso introduzir e manter na região apenas cultivares resistentes ou pelo menos tolerantes aos patógenos que nela ocorrem. Isso exige, obviamente, conhecer o comportamento, em face de doenças, do material genético colocado à disposição dos produtores.

Nos últimos anos têm-se observado uma maior incidência de doenças de importância econômica na cultura do algodoeiro, dentre essas se destaca aquelas provocadas por nematóides. Segundo Cia et al. (2003) dentre os nematóides que atacam o algodoeiro, destacam-se *Pratylenchus brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita*.

Os nematóides formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, constituem o grupo de fitonematóides com maior importância econômica na agricultura. Sua ampla distribuição mundial, o grande número de hospedeiros existentes e a interação com outros organismos patogênicos os colocam entre os primeiros patógenos responsáveis pela limitação da produtividade agrícola mundial.

Como os nematóides têm sido um sério problema na cultura do algodoeiro, há grande interesse em melhorar geneticamente as cultivares, tornando-as mais tolerantes à infecção por esses patógenos.

No Brasil, trabalhos foram realizados objetivando a seleção de genótipos resistentes ou tolerantes aos fitonematóides (GALBIERI, 2007). Diferentes metodologias de campo ou em casa de vegetação foram testadas, usando parâmetros como produtividade, índice de galha, notas de folha carijó, entre outros. Porém, nem sempre estes trabalhos são conclusivos, e os resultados, às vezes são contraditórios.

Padronizar metodologias confiáveis para realizar testes de resistência aos nematóides de genótipos ou linhas, é uma etapa indispensável antes de se envolver na identificação de marcadores moleculares ligados à resistência. Alguns marcadores moleculares microsátélites já foram identificados por diversas equipes de pesquisa internacional e a informação está disponível em diversas publicações (NIU et al., 2007)

Devido à crescente importância do algodoeiro em todo o mundo e do papel relevante que as doenças exercem na produtividade desta cultura, especialmente aquelas causadas por nematóides, o presente trabalho, teve como objetivos:

- Avaliar em condições de campo e em casa de vegetação o nível de resistência de genótipos de algodoeiro ao nematóide *Meloidogyne incognita*.
- Avaliar a eficiência dos marcadores moleculares publicados na literatura, em identificar genótipos resistentes à *Meloidogyne incognita*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do algodoeiro no Brasil

O algodoeiro é uma dicotiledônea da família das Malváceas. O gênero *Gossypium* é constituído de 52 espécies distribuídas nos diversos continentes: Ásia, África, Austrália e América, sendo que destas apenas quatro são cultivadas.

O *Gossypium arboreum* L. é cultivado na Índia, e o *Gossypium herbaceum* L. que já teve maior importância no passado, atualmente é plantado apenas em algumas regiões secas da África e Ásia. Ambas espécies são diplóides e representam menos de 2% da produção mundial de fibra de algodoeiro. Atualmente, cerca de 90% da produção mundial de algodoeiro é obtida de *Gossypium hirsutum* L. e 8% de *Gossypium barbadense* L, ambas tetraplóides (LEE, 1984).

Segundo Phillips (1963) e Fryxell (1965) o gênero *Gossypium* é muito antigo, tendo os tetraplóides, provavelmente, se originado há aproximadamente 1,5 milhão de anos. Saunders (1961) propõe que o centro de origem do gênero *Gossypium* seja a África Central, pois quatro dos sete grupos genômicos diplóides ocorrem neste continente.

Na Índia, em 1500 A.C., o algodoeiro já era cultivado visando a fabricação de tecidos. Mil anos depois foram os chineses que ampliaram o cultivo, que só chegou à Europa no século IV. Na América, o algodoeiro já

era utilizado e cultivado pelos índios quando o Brasil foi descoberto pelos europeus. Até o final do século XVIII e início do século XIX, a cultura do algodoeiro no Brasil era basicamente do tipo perene (*Gossypium barbadense* e *Gossypium hirsutum* raça Marie Galante), concentrando-se, principalmente, na região Nordeste.

A partir de 1860 a Inglaterra introduziu a variedade herbácea (*Gossypium hirsutum* L. r. *Latifolium*, tipo upland anual) no nordeste do Brasil com o objetivo de incentivar a produção brasileira e diminuir sua dependência com relação aos Estados Unidos. Em 1870/71, a cultura do algodoeiro no Brasil enfrentou decadência profunda, recuperando-se apenas em 1880/81. Em 1940, a cotonicultura brasileira viveu a fase áurea de expansão de área cultivada no nordeste, com sistemas de cultivo extensivos (FREIRE, 2007).

Nos anos 80 o cultivo migrou para o sul, como uma opção de renda aos agricultores dos estados do Paraná e São Paulo, que se tornaram os maiores produtores do país. A década de 90 foi marcada por uma forte crise da cotonicultura brasileira. A partir de 1998, com a sua expansão para a região Centro-Oeste, principalmente Mato Grosso, a situação se modificou, pois a cotonicultura se tornou totalmente mecanizada nesta região, apesar do elevado uso de insumos agrícolas e o país voltou a ter elevados ganhos de produtividade e qualidade de fibra (CONAB, 2007).

Desde a safra de 2003/04 e, exceto a safra 2005/06, a área algodoeira tem superado 1.100 mil hectares e poderá alcançar rapidamente 1,5 milhões de hectares nos próximos anos (CONAB, 2007).

Os sistemas de cultivo no Mato Grosso, onde predominam o monocultivo, favorecem pragas, doenças e nematóides devido às condições edafoclimáticas. Na região sul do Mato Grosso, utiliza-se o algodoeiro e a soja como cultivos principais. Estas culturas são implantadas muitas vezes sobre a palhada de milho, semeado após a destruição da soqueira do algodão.

No norte do MT onde as chuvas são mais prolongadas, é praticado um sistema diferenciado, onde a principal técnica de cultivo é a “safrinha”. A soja é semeada no início das primeiras chuvas, final de setembro, e após a colheita no mês de janeiro, a cultura do algodoeiro é implantada em plantio direto.

A soja, o milho e o algodoeiro são hospedeiros de algumas espécies de nematóides. Algumas plantas são recomendadas para utilização em sistema de plantio direto, como por exemplo, a *Brachiaria* (SEGUY et al., 2004) que também podem ser hospedeiras de nematóides.

Pode-se observar, no entanto que os sistemas de monocultivo, e sucessão soja e algodão, podem favorecer o estabelecimento, a multiplicação e a infecção dos nematóides. Devido a estes diferentes sistemas de cultivo, várias técnicas de controle, isoladamente ou em sistema integrado, são recomendadas para o manejo de áreas infestadas com fitonematóides. No entanto, o sucesso dessas técnicas em áreas específicas, depende do conhecimento e da distribuição dos referidos patógenos no campo (WYSE-PESTER et al., 2002), e da capacidade das cultivares e espécies de multiplicar os nematóides.

## 2.2 Os nematóides na cultura do algodoeiro

As espécies mais comumente consideradas patogênicas ao algodoeiro são: *Meloidogyne incognita* e *M. acronea* (nematóides das galhas radiculares), *Rotylenchulus reniformis* (nematóide reniforme), *Pratylenchus brachyurus* (nematóide das lesões radiculares), *Hoplolaimus* spp., *Belonolaimus longicaudatus* e *Paratrichorus minor* (BRIDGE, 1992).

No Brasil, os nematóides mais comuns são *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* (GOULART et al., 1997; INOMOTO, 2001; MONTEIRO & FERRAZ, 1987), que atacam o algodoeiro, sendo o gênero *Meloidogyne* o mais agressivo para o sistema radicular e causador de danos econômicos.

No oeste do Paraná e São Paulo, em solos arenosos, muitos trabalhos relatam à presença e danos de *Meloidogyne* sp. (GRIDII PAPP et al., 1994). Já no norte do Paraná, em solos argilosos, anteriormente cultivados com café, *Rotylenchulus reniformis* é comumente encontrado (INOMOTO, 2001).

Foi possível constatar a presença de *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus*, em 5,3 %, 2 % e 94 % das amostras coletadas no Mato Grosso, respectivamente (SILVA et al., 2003). No Mato Grosso do Sul, o nematóide das lesões ocorreu em 59% das 104 amostras coletadas, (COMUNELLO & ASMUS, 2003).

*Meloidogyne incognita*, nematóide das galhas, ocorre na cultura do algodoeiro em praticamente todas as regiões do mundo, principalmente nas regiões de solos arenosos. Os nematóides das galhas são endoparasitas sedentários, permanecendo no interior da raiz até o final do seu ciclo de vida. Inicialmente os juvenis de segundo estágio (J2) eclodem e infectam as raízes do algodoeiro, movimentam-se no solo e penetram nas raízes novas, incitando a formação das células nutridoras onde permanecem até o estágio adulto. Os machos migram das raízes e as fêmeas, sedentárias, tornam-se globosas, produzindo cerca de 500 ovos, que são depositados numa matriz gelatinosa externamente às raízes, de onde eclodem os J2, que reinfestam o sistema radicular (LORDELLO, 1976).

No período de verão, *Meloidogyne incognita* completa seu ciclo em 28 dias. No inverno, nas regiões Sul e Sudeste, o ciclo de vida pode completar-se em até 70 dias. O ciclo varia com a temperatura e umidade do solo. Sua disseminação ocorre por meio de solo infestado e implementos agrícolas, animais, vento e, principalmente pela água. (LORDELLO, et al., 1982).

Após o cultivo, os nematóides permanecem no solo parasitando as raízes de outras plantas hospedeiras. Esse nematóide reproduz-se por partenogênese, mas o macho vermiforme, embora não seja necessário para a reprodução, pode ocasionalmente ser encontrado no solo (BRIDGE, 1992).

Segundo Abrão & Mazzafera (1998), as galhas são mais freqüentes nas raízes secundárias do algodoeiro, porém, podem ser encontradas, em menor quantidade, na raiz principal. Esse é um aspecto importante para a diagnose do problema no campo, pois, arrancando uma planta atacada sem auxílio de ferramentas adequadas, as raízes finas rompem-se e ficam no solo, não permitindo a observação desse importante sintoma.

Segundo Bridge (1992), as plantas infestadas por *M. incognita* ficam raquíticas, atrofiadas e de tamanho reduzido. Nas folhas, é possível observar as mudanças de coloração, variando desde o amarelo até o vermelho intenso, chamado de sintoma de “folha carijó”. Em quadros mais graves, os sintomas podem evoluir para um crestamento generalizado, com desfolha muito intensa. Um sintoma bastante típico é o mosqueamento amarelo, distribuído pelo limbo foliar, em contraste com o verde normal levemente claro. Essas áreas amareladas passam posteriormente a uma tonalidade castanha, tornando-se, finalmente, necrosadas.

Taylor et al. (1982) estimaram em 3,1% as perdas causadas por esse nematóide à cotonicultura mundial, variando conforme o tipo do solo. Nos Estados Unidos, este nematóide causa prejuízos em muitas áreas produtoras de algodoeiro, mas a intensidade desses danos varia muito (STARR & PAGE, 1993).

Algumas espécies de *Meloidogyne* apresentam ampla distribuição geográfica, podendo ser separadas umas das outras por suas preferências de hospedeiro. Essas preferências são denominadas raças biológicas ou fisiológicas.

Eisenback (1983) relata que, segundo os hospedeiros diferenciadores padrões, estabelecidos na Carolina do Norte, *Meloidogyne incognita* apresenta quatro raças fisiológicas. Todas as raças reproduzem em tomate (Rugter), melancia (Florunner) e pimenta (C. Wonder), porém sua reposta ao fumo (NC. 95) e ao algodoeiro (Deltapine 16), varia com a raça presente (Tabela 1).

**TABELA 1.** Hospedeiros diferenciais usados na identificação de raças de *Meloidogyne incognita*, sendo (+) hospedeiro favorável e (-) hospedeiro desfavorável (Taylor & Sasser, 1978).

<i>M. incognita</i>	Fumo	Algodoeiro	Pimenta	Melancia	Amendoim	Tomate
Raça 1	-	-	+	+	-	+
Raça 2	+	-	+	+	-	+
Raça 3	-	+	+	+	-	+
Raça 4	+	+	+	+	-	+

Taylor et al. (1982) informam que, de 662 populações de *Meloidogyne* coletadas em todo o mundo, predominantes nas regiões tropicais e subtropicais, 46,7% foram identificadas como *M. incognita*, sendo que 10,3% e 1,9% pertencendo às raças 3 e 4, respectivamente.

No Brasil, Ruano et al. (1985) verificaram a predominância da raça 3 de *M. incognita* em oito áreas algodoeiras dos estados do Paraná e Goiás. Foi constatada a presença de duas populações da raça 1 de *M. incognita* nas áreas algodoeiras, porém, essa raça é considerada avirulenta ao algodoeiro (KIRKPATRICK & SASSER, 1983; RUANO et al., 1997). Lordello (1976) efetuou um levantamento parcial, em áreas algodoeiras do estado de São Paulo, com o objetivo de verificar a distribuição dos nematóides do gênero *Meloidogyne*, verificando que *M. incognita* raça 3 é a mais disseminada, ocorrendo em 56% das 52 amostras coletadas.

O nematóide *M. incognita* pode sofrer uma interação com a murcha fusariana, e de acordo com Ruano et al. (1984), há necessidade de utilização de cultivares com resistência múltipla para nematóide e *Fusarium*, visto que um determinado material genético pode apresentar resistência isoladamente para as duas doenças, porém, suscetibilidade ao complexo. Lordello (1976) relata que a taxa de incidência da murcha fusariana, uma das mais importantes doenças da cultura, cresce proporcionalmente ao índice de infestação de *Meloidogyne*, uma vez que os traumatismos radiculares (perfurações e rupturas de epiderme) causadas pelo nematóide facilitam a penetração do fungo.

### 2.3 Resistência varietal do algodoeiro aos nematóides de galhas

O uso de cultivares resistentes é o método mais prático, econômico e eficiente para o controle dos nematóides. A maioria dos programas de melhoramento genético do algodoeiro visa obtenção de cultivares resistentes, possuidoras também, de alta produtividade e boas características tecnológicas de fibra que atende aos três setores da cotonicultura atual, produtores, empresas de beneficiamento e indústrias de fiação e tecelagem (GALBIERI, 2007).

O controle genético dos nematóides, assim que outras medidas de controle incluindo as práticas culturais (rotação de culturas, eliminação de hospedeiros secundários) e o controle químico devem fazer parte de um programa de controle integrado com o intuito de se obter sucesso com a lavoura (RITZINGER & FANCELLI, 2006).

A metodologia para obtenção de cultivares resistentes envolve hibridações, seleções individuais com teste de progênies, seleção massal, estabilização dos genótipos e testes finais sob alta pressão do nematóide. Mas a base de todos estes trabalhos é a disponibilidade e identificação de fontes de resistência, seja dentro do banco de germoplasma ou dentro das cultivares atualmente utilizadas.

Tanto no Brasil como nos Estados Unidos, a raça 3 de *M. incognita* é a mais importante para a cotonicultura (LORDELLO et al., 1984; RUANO et al., 1985; CARNEIRO et al., 1990; STARR & SMITH, 1993). É com essa raça que a maioria dos trabalhos foram realizados.

Trabalhos de campo foram realizados nos Estados Unidos, utilizando o índice de galhas para classificar as variedades em relação à resistência ao nematóide das galhas (Caldwell et al., 2004 e Hayes et al., 2005). Mas Shepherd (1979) demonstrou que os resultados obtidos em relação ao número de galhas são muito variáveis e que o índice de galhas é independente da reprodução do nematóide. Para este último autor, a resistência deve ser avaliada em base ao fator de reprodução e não ao índice de galhas porque alguns genótipos apresentam elevada quantidade

de galhas e baixo número de ovos, outros, baixo número de galhas e alto número de ovos. Baseado nesses resultados, Shepherd (1979) desenvolveu uma técnica para selecionar cultivares resistentes ao nematóide das galhas em casa de vegetação, na qual as condições experimentais poderiam ser melhor controladas do que no campo. Com essa técnica, a quantidade de ovos produzidos foi escolhida como o principal critério de resistência em substituição ao índice de galhas.

No Brasil, a seleção de cultivares resistentes utilizou diferentes parâmetros: produtividade, índice de galhas, índice de folhas carijó e resistência múltipla (FERRAZ & LORDELLO, 1961; FUZATTO et al., 1982; LORDELLO et al., 1982; ALMEIDA et al., 1986; GRIDDI PAPP et al., 1994; RUANO & ALMEIDA, 1999 e CIA et al., 2003;), entre outros. Alguns ensaios foram realizados utilizando-se os parâmetros de Shepherd (1979), ou seja, o número total de ovos e fatores de reprodução (LORDELLO et al., 1986; RUANO & ALMEIDA, 1986; RUANO et al., 1992 e LORDELLO et al., 1993). Comparando os resultados obtidos por esses diferentes autores, observa-se que muitas vezes são contraditórios.

Entretanto, os trabalhos mais recentes baseados em resistência múltipla não avaliaram especificamente os fatores de reprodução do nematóide e não recomendaram especificamente cultivares que possam ser utilizadas em áreas infestadas por *M. incognita* raça 3 (GRIDDI PAPP et al., 1994; CIA et al., 2003; RUANO & ALMEIDA, 1999).

Nos Estados Unidos, três cultivares de algodoeiro foram lançadas (Acala NemX, Stoneville LA887 and Paymaster 1560) com nível de resistência à *M. incognita* considerado moderado a alto. Apesar do aumento de produtividade e redução do número de nematóides em áreas infestadas (OGALLO et al., 1997, ZHOU et al., 1998), esses cultivares representam apenas 1% de todo o algodoeiro plantado neste país em 1999 (STARR et al., 2002).

McPherson (1993) e McPherson et al. (2004) relataram que no mínimo dois genes controlam o alto nível de resistência ao nematóide das galhas em M-315 RNR e um gene é responsável pela resistência moderada

em M-78 RNR. McPherson em 1995 relata que dois genes, um dominante e um gene aditivo controlam a resistência ao nematóide das galhas em Auburn 623 RNR e nomeou o gene dominante de *Mi1* e o gene aditivo de *Mi2*. Bezawada et al. (2003) mostraram que um simples gene recessivo controla a resistência ao nematóide na cultivar moderadamente resistente Clevevilt 6-1.

Wang et al., (2006) relataram que um simples gene recessivo chamado de *rkn1* no grupo de ligação A03 foi responsável pela resistência em Acala NemX.

#### **2.4 Marcadores moleculares para *Meloidogyne incognita***

Tradicionalmente, melhoristas têm contado com a avaliação de caracteres visíveis, mensuráveis (tamanho, forma da planta e rendimento) para selecionar genótipos de plantas melhoradas. Esse tipo de seleção fenotípica pode, algumas vezes, tornar-se difícil, pouco confiável, onerosa e ainda demorada. Em oposição aos caracteres visíveis, marcadores moleculares são baseados na seqüência de DNA, ou seja, no patrimônio genético da planta. Sendo assim, a seleção usando estes marcadores poderá ser feita antes que os caracteres visíveis tenham se manifestado e mesmo sem que ele se manifeste (WANG et al., 2006).

Pesquisas sobre a identificação de marcadores moleculares ligados à resistência a algumas das principais doenças do algodoeiro têm sido realizadas em várias partes do mundo. Resultados preliminares incluem a identificação de marcadores genéticos ligados à mancha angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*), ou à murcha de *Verticillium*. Marcadores associados à resistência ao nematóide das galhas têm sido igualmente identificados (WANG et al., 2006).

Bezawada et al., (2003) mostram a associação do gene recessivo de resistência aos nematóides em Clevevilt 6-1 com o marcador microsatelite BNL 1421; contudo, este marcador apresenta distorções de segregação o qual pode indicar uma falsa ligação.

Wang et al., (2006) comprovaram que o marcador microsatelite CIR 316 fica apenas a 2.6 centimorgans do gene recessivo *rkn1*, e o marcador BNL 1231 fica a 18.4 centimorgans. Em adição, tem-se identificado e confirmado dois novos marcadores RAPD que são ligados ao gene *Mi2* identificado por McPherson (1993).

Os marcadores UBC 693-420 e UBC 781-964STS foram identificados com certa ligação com o gene *Mi2*, e diversos marcadores com previsão de serem encontrados para resistência do nematóide das galhas no gene *rkn1* em Acala NemX (WANG et al., 2006). O sucesso do uso do marcador UBC 781-964STS é facilmente visualizado em gel de agarose e pode ser usado em ambas as espécies, *Gossypium hirsutum* e *Gossypium barbadense*.

Em um estudo independente, Shen et al. (2006) confirmaram a ligação de CIR 316 para resistência de nematóide em *G. hirsutum*, usando a cultivar M-120 fonte derivada de Auburn 623 RNR.

Comparado com a avaliação fenotípica, a perspectiva de trabalhar com marcadores moleculares para identificar a presença de resistência a nematóides de galhas em algodoeiro é animadora. Caso obtenha sucesso, estas técnicas poderiam minimizar as infraestruturas pesadas requeridas atualmente para conduzir programas de melhoramento genético para resistência à nematóides (SHEN et al., 2006).

**CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE  
ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) À *Meloidogyne incognita* RAÇA 3.**

## **AValiação DA RESISTÊNCIA DE GENóTIPOS DE ALGODOEIRO**

**(*Gossypium hirsutum* L.) À *Meloidogyne incognita* RAÇA 3.**

**RESUMO** – O nematóide *Meloidogyne incognita* é um dos principais parasitas da cultura do algodoeiro. Atualmente não existem genótipos resistentes ao patógeno e ainda faltam informações precisas sobre os genótipos que estão no mercado. Este trabalho teve como objetivos avaliar a resistência de genótipos de algodão em condições de campo e em casa de vegetação em relação a este nematóide e analisar a confiabilidade dos resultados. Os ensaios de campo foram realizados em Primavera do Leste – MT nas safras 2005/06 e 2006/07, com 5 e 4 ensaios respectivamente, e os ensaios em casa de vegetação foram realizados em Cascavel – PR na safra 2006/07. Os materiais IAC 24 e FiberMax 966 foram utilizados como padrão de resistência e suscetibilidade. As avaliações foram realizadas atribuindo-se notas de 1 a 5 nos ensaios de campo conforme os sintomas visuais de cada parcela. Os ensaios em casa de vegetação, com inoculação de 5.000 ovos de *M. incognita* por tubete, foram avaliados com base em notas atribuídas ao número de galhas e ao fator de reprodução. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com 4 repetições nos ensaios de campo e 10 a 15 nos ensaios de casa de vegetação. A campo, há uma grande variação na população de nematóides ao longo dos 2 anos, e dentro dos ensaios existem vários critérios que podem ser levados em consideração para discriminar os materiais como a Nota Relativa, o Índice Relativo e a Nota do número de Galhas. Evidenciou-se diferença significativa entre os genótipos nas duas safras. Experimentos preliminares permitiram definir melhor o momento da inoculação (10 dias de emergência) e da avaliação (45 dias após inoculação). Estes testes em condições controladas, com inoculação de população pura de *Meloidogyne*, permitem também distinguir os genótipos. Porém, não há correlação entre os resultados obtidos com ambas metodologias, porque em campo existem provavelmente interações com outros microrganismos. Finalmente, comparando-se as duas

metodologias, pode-se concluir que a avaliação em casa de vegetação é mais precisa, mas não permite testar grande quantidade de genótipos; as avaliações de campo não podem ser descartadas pela grande quantidade de genótipos que pode ser testado e o tipo de informação gerada, que leva em consideração uma população de diversas espécies de nematóides.

**Palavras-chave:** Resistência - Nematóides de Galhas - Algodoeiro

**RESISTANCE EVALUATION THE COTTON (*Gossypium hirsutum* L.)  
TO *Meloidogyne incognita* RACE 3.**

**ABSTRACT** - The *Meloidogyne incognita* nematode is one of the principal parasites on the cotton culture. There are no news of resistant genotypes so far, and it is still lacking accurate information about those ones in the market. This research aims to test the persistence of cotton genotypes on field and greenhouse conditions, related to this nematode, as well as analyze the trustworthiness of the results. The field trials were done in Primavera do Leste – MT, which lasted for the 2005/2006 and 2006/2007 crops, with 5 and 4 trials respectively and the ones from the greenhouse, in Cascavel – PR, on the 2006/07 crop. The IAC 24 and Fibermax 966 materials were used as a standard of resistance and susceptibility. Grades from 01 up to 5 were attributed on the field trials, according to the visual symptoms of each fragment. The greenhouse trials, with inoculation of 5000 eggs of *M. incognita* per tube were evaluated based on the grades attributed to root-knot and reproduction factor. Experimental delimitation of blocks at random were used, with 4 repetitions on the field trials and 10 to 15 on the greenhouse trials. On the field, there is a large variety on the population of nematodes along 2 years, and into the trials, there are a lot of criterions which could be taken for granted to discriminate the materials as the Relative Note, Relative Index and Root-knot Note. A significant difference was proved among the genotypes in both crops. Preliminary experiments managed to define clearly the moment of inoculation (10 emergency days) and the evaluation (45 days after the inoculation). These tests on controlled conditions, with pure population inoculation of *Meloidogyne incognita* allow also to distinguish the genotypes. Therefore, there is no correlation between the results obtained from both methodologies, because there are probably more interactions with other Microorganisms. At last, comparing both methodologies, it may be concluded that the ones from the greenhouse are more accurate, but do not permit testing a large amount of genotypes, and the field ones can't be rejected for the great amount of genotypes which can be tested and the type

of information generated, considering a population of several species of nematodes.

**Keywords:** resistance, root-knot nematode, cotton plant.

### 3.1 INTRODUÇÃO

No estado do Mato Grosso, o cultivo do algodoeiro apresenta problemas fitopatológicos crescentes, devido ao aumento significativo da área em um período de tempo relativamente curto. Esses problemas são ainda mais marcantes no que diz respeito ao nematóide das galhas, *M. incognita*.

O uso de variedades resistentes representa uma das ferramentas para o manejo integrado dos nematóides, sendo que o uso de produtos químicos, como nematicidas, aumentaria ainda mais o custo de produção. Além do uso de variedades resistentes podem-se citar algumas alternativas de controle como: rotação de culturas, utilização de gramíneas para diminuir a população deste parasita, utilização de gradagens para revolvimento do solo, inundação, solarização, entre outras.

É muito importante conhecer o nível de resistência de cada variedade comercial a fim de posicionar melhor o material no campo. Um material suscetível, jamais poderá ser indicado para uma área com alta infestação de *M. incognita*.

Para uma empresa de melhoramento genético, o conhecimento das metodologias de avaliação tanto dos materiais comerciais como das linhagens, é uma ferramenta indispensável a fim selecionar materiais resistentes.

Diversas metodologias de campo ou de casa de vegetação são utilizadas para avaliar o nível de resistência dos genótipos aos nematóides.

Vários critérios podem ser utilizados como: notas de parcelas, notas de galhas ou fator de reprodução.

Com base em alguns ensaios realizados em campo e em casa de vegetação, este trabalho teve como objetivo:

- Avaliar o nível de resistência de diversos genótipos de algodoeiro aos nematóides de galhas *Meloidogyne incognita*.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Ensaio de campo**

Os experimentos foram implantados nas safras 2005/06 e 2006/07 na Fazenda Buriti, no município de Primavera do Leste – MT, localizada a 720 metros de altitude. A textura do solo é argilosa, de acordo com classificação de análise de solo. Os níveis de matéria orgânica, Fósforo e Potássio presentes na área do ensaio são de 2,5%, 25,43 ppm e 93,84 ppm respectivamente. Não foi constatada a presença de alumínio tóxico na área.

Os ensaios foram semeados na segunda quinzena de dezembro de cada ano. Utilizou-se 500 Kg de adubação de base. Quinze dias após o plantio, foi realizado o desbaste permanecendo 10 -12 plantas por metro linear.

Na safra 2005/06 foram avaliados 5 ensaios, cada ensaio com 20 tratamentos e 4 repetições, com uma área útil de 5400 metros quadrados.

Na safra 2006/07, foram avaliados 4 ensaios com 20 tratamentos e 4 repetições, com uma área útil de 4320 metros quadrados.

Cada um dos ensaios foram compostos de 20 genótipos, 18 materiais a avaliar e duas testemunhas CD 401 ou FM 966 como padrão de suscetibilidade, e IAC 24 como padrão de resistência. Os 18 genótipos foram compostos de materiais comerciais e linhagens, ainda em fase de teste, desenvolvidas pela Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola - COODETEC.

Todas as sementes foram deslintadas quimicamente e tratadas com fungicida e inseticida.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso sendo cada parcela de 2 linhas de 5 m de comprimento, espaçadas de 0,90 m, intercaladas por uma linha de material suscetível FM 966 visando verificar a presença ou ausência do nematóide no local.

As avaliações foram realizadas com base na escala de notas de Cia et al, (1979) demonstrada na tabela 2.

**TABELA 2.** Escala de severidade para nematóides do algodoeiro.

<b>Nota</b>	<b>Descrição</b>
1	- planta sem sintoma;
2	- planta com uma ou duas folhas tendo manchas cloróticas (carijó), em qualquer posição na planta, menos no ponteiro.
3	- planta com mais de duas folhas com manchas cloróticas, em qualquer posição menos no ponteiro.
4	- planta com folhas de ponteiro apresentando manchas cloróticas, sem redução acentuada do porte.
5	- plantas com folhas de ponteiro com manchas cloróticas e com redução acentuada de porte e da produção.

Fonte: Cia et al. (1979)

Na safra 2005/06, no ensaio 1, foram realizadas contagem de galhas apenas na primeira repetição, para verificar se existe alguma relação entre galhas, nota e produtividade. Foram coletadas 4 plantas de cada parcela nas 2 linhas centrais, levadas ao laboratório, e quantificado o número de galhas e o peso das nas raízes.

Para cálculo do Índice Relativo foi empregado o método proposto por Gridii Papp et al. (1982), que estabelece escala de 0 a 1, em que 0 corresponde à suscetibilidade máxima e 1 à resistência máxima, segundo o critério de avaliação adotado. No presente caso, os índices foram assim calculados:

$$\left[ \frac{\quad}{\quad} \right]$$

$$IR = 1 - \frac{(nota\ parcela) - 1}{N - 1}$$

Onde, IR = Índice Relativo e N = nota máxima do ensaio.

Uma nota foi também atribuída às linhas intercaladas de FM 966 entre as parcelas. Nova variável foi calculada, chamada de “Nota relativa”, assim calculada:

$$Nota\ relativa = 100^* \left[ \frac{Nota\ parcela}{Nota\ média\ das\ duas\ linhas\ FM\ 966\ da\ parcela} \right]$$

Além da avaliação para nematóides, efetuou-se a colheita do algodão em caroço. Os dados obtidos foram submetidos às mesmas análises e testes estatísticos aplicados às notas. Para verificar possíveis associações entre a produção dos genótipos e a incidência de doenças, foram feitas análises de correlação entre as variáveis que expressavam essa característica. Cada parcela foi colhida e pesada separadamente, sendo que a produtividade apresentada está em kg de algodão em caroço por parcela.

### 3.2.2 Ensaio em casa de vegetação

Os experimentos foram conduzidos na sede da COODETEC de Cascavel – PR durante o ano de 2006 e 2007, em casa de vegetação, com temperatura controlada.

As plantas foram semeadas em tubetes de 100 mm x 200 mm e em vasos com capacidade para 2 litros de solo. O substrato usado foi uma mistura de solo com areia na proporção de 2:1 previamente esterilizado com brometo de metila.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, para evitar a interferência das heterogeneidades dentro da casa de vegetação, sendo que cada planta constituía uma repetição.

Ovos de *M. incognita* raça 3 foram extraídos de raízes de tomate ou de soja previamente infestadas com raça 3 pura. Para a extração foi utilizada a método de Jenkins (1964).

Cada planta em tubete ou vaso recebeu 5.000 ovos de *M. incognita* raça 3, 10 dias após a emergência ou ao estágio de duas folhas verdadeiras. Decorridos 30, 45 ou 60 dias após a inoculação, as plantas foram retiradas dos vasos ou tubetes, suas raízes lavadas e em seguida atribuiu-se notas de galhas e realizada a contagem de ovos para calcular o fator de reprodução. Foi utilizada a metodologia de Coolen & D'Herde e Jenkins, 1964 para a extração e avaliação do fator de reprodução.

As notas de galhas foram estabelecidas conforme a tabela 3:

**TABELA 3.** Escala de avaliação de severidade de galhas de *Meloidogyne incognita* em cultivo de algodoeiro, utilizado nos ensaios em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006.

Nota	Descrição
1	< 10% do sistema radicular com pequenas galhas
2	10-25% do sistema radicular com galhas, e a maioria sendo galhas pequenas
3	26-50% do sistema radicular com galhas, tendo muitas galhas grandes
4	51-90% do sistema radicular com galhas, e a maioria sendo galhas grandes
5	91-100% do sistema radicular com galhas grandes e algumas raízes apodrecidas e o fator de reprodução

Fonte: Uniform Soybean Tests – USDA, 2004

O Ensaio 1 foi realizado para verificar a melhor época de avaliação, tipo e forma de inoculação de *M. incognita* em tubetes. Foram testados quatro genótipos (FM 966, IAC 24, CD 408 e CD 401) com 12 repetições e as avaliações foram realizadas aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação. Neste ensaio, 50% das plântulas foram inoculadas com *M. incognita* quando

apresentavam um par de folhas verdadeiras e 50% com dez dias de emergência. Foram realizadas duas avaliações baseando-se no número de galhas e nota de severidade conforme a tabela 3.

O Ensaio 2 foi realizado em vasos, com 12 repetições, diferindo apenas na data de avaliação, sendo realizada aos 30 dias da inoculação. Os materiais utilizados foram os mesmos do ensaio 1.

Dez genótipos desenvolvidos pela COODETEC e duas testemunhas de suscetibilidade e resistência foram também avaliados em casa de vegetação sendo este o ensaio 3. Foi realizado em tubetes com 16 repetições. Os materiais avaliados foram: CD 00-5234, CD 02-801, CD 02-1637, CD 03-5192, CD 03-5276, CD 04-2893, CD 04-3361, CD 04-3497, CD 04-4134, CD 04-4939, CD 406 e FM 966. Foi avaliado número de galhas e peso de raiz. Este ensaio foi repetido três vezes a fim de avaliar a repetibilidade das avaliações.

**TABELA 4.** Genótipos utilizados nos ensaios 4 e 5 para ajuste de metodologia em casa de vegetação em Cascavel – PR, safra 2006.

<b>ENSAIO 4</b>	<b>ENSAIO 5</b>
IAC 24	IAC 24
CD 02-621	CD 409
CD 02-749	CD 02-1600
CD 03-1902	CD 02-684
CD 03-1932	CD 405
CD 03-1546	CD 02-818
CD 02-804	CD 03-1908
CD 02-920	CD 02-801
CD 03-1435	CD 00-942
CD 408	CD 03-1499
CD 410	CD 03-1853
FM 966	FM 966

Os ensaios 4 e 5 foram realizados com os genótipos da Tabela 4, com 10 repetições. Para estes dois ensaios foram utilizados IAC 24 como testemunha de resistência e FM 966 como testemunha de suscetibilidade. Foi atribuída nota de galha e realizada a contagem de ovos para Fator de Reprodução.

### **3.2.3 Análise estatística**

Em ambos os casos o programa estatístico GENES (CRUZ, 2001) foi utilizado tanto para a análise de variância como análises de comparação de médias ou de correlações. Quando os dados não apresentavam distribuição normal as notas foram transformadas em raiz quadrada de  $(x + 1)$ . A comparação de médias foi realizada pelo teste Tukey a 5% de significância.

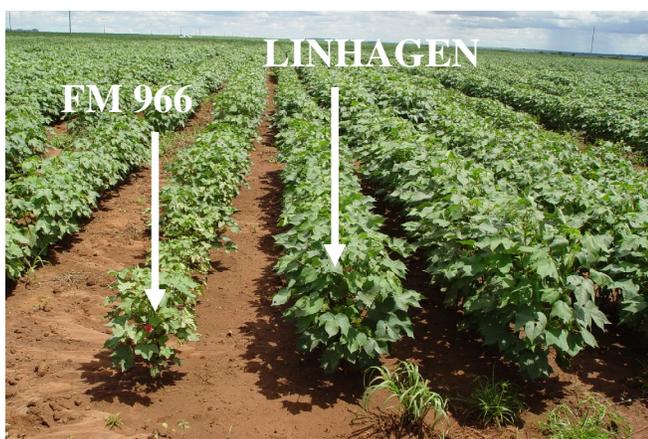
### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Resultados de campo

Nas Tabelas 5 a 13, encontram-se os resultados dos 5 ensaios da safra de 2005/06 e dos 4 ensaios da safra 2006/07.

Nestes ensaios, realizando o teste de normalidade de distribuição dos dados, pode-se observar que em alguns casos se faz necessário a transformação. Na variável Nota Relativa, por exemplo, utilizou-se a transformação dos dados, sendo realizada raiz quadrada de  $x + 1$ .

Na Figura 1, podemos observar uma foto do ensaio 1 conduzido na Fazenda Buriti, na safra 2005/06. Neste ensaio, com uma linha intercalada de material suscetível ao nematóide das galhas, fica nítida a presença de nematóides na área.



**FIGURA 1.** Ensaio 1 de avaliação de resistência a nematóides de 20 genótipos. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.

**TABELA 5.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 1 da safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.		IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.30	bc <sup>(6)</sup>	41.98	6.43 <sup>(3)</sup>	c	0.95	5483.34	ac
ACALA 90	1.00	c	47.73	6.71	c	1.00	5264.42	ac
AGUSA 1	1.55	bc	50.09	7.12	c	0.88	4783.34	ac
BRS CEDRO	1.43	bc	51.32	7.12	c	0.90	6478.20	a
BRS JATOBÁ	1.10	bc	58.00	7.52	ac	1.00	5661.11	ac
BRS PEROBA	1.38	bc	44.51	6.72	c	0.93	5386.11	ac
CD 401	4.13	a	147.57	12.09	a	0.20	3575.00	ce
CD 405	2.20	b	62.14	7.82	ac	0.73	5205.56	ac
CD 406	1.05	bc	60.93	7.74	ac	1.00	5861.11	ab
CD 408	1.90	bc	58.71	7.49	ac	0.78	4277.78	ac
CD 409	1.25	bc	36.51	6.11	c	0.95	5291.67	ac
CD 410	1.35	bc	44.32	6.72	c	0.95	4311.39	ac
DELTAOPAL	1.63	bc	52.63	7.26	bc	0.85	4458.33	ac
DELTAPENTA	2.23	b	61.47	7.65	ac	0.70	4697.22	ac
DESTAKE	2.00	bc	104.35	10.00	ac	0.78	5100.00	ac
IAN 424	2.15	bc	77.92	8.70	ac	0.73	3633.33	bc
IAN 425	1.40	bc	83.59	8.99	ac	0.90	5350.00	ac
IPR 120	1.13	bc	34.15	5.85	c	0.98	4847.22	ac
SG 821	1.48	bc	58.71	7.62	ac	0.88	5769.45	ac
FM 966	4.20	a	151.75	11.94	ab	0.20	4402.99	ac
Média	1.64		66.42	7.88		0.81	4991.88	
C.V (%)	11.79			22.73		20.66	17.30	
Sig.	**			**		n.s		*

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 6.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 1 da safra 2006/07.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.		IR <sup>(4)</sup>		PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.25	cd <sup>(6)</sup>	28.05	5.35 <sup>(3)</sup>	c	0.95	a	4102.08	ac
CD 00-5234	1.43	bd	34.08	5.84	ac	0.90	a	3975.00	ac
CD 02-1621	1.50	ad	32.71	5.76	bc	0.90	a	3725.00	ad
CD 02-1637	1.75	ad	37.22	6.12	ac	0.85	ab	4056.25	ac
CD 02-621	1.63	ad	35.49	5.90	ac	0.85	ab	4120.14	ac
CD 02-801	1.83	ad	40.25	6.36	ac	0.80	ab	4033.34	ac
CD 03-1448	2.25	ad	53.65	7.35	ac	0.73	ab	3270.17	ad
CD 03-1546	1.95	ad	44.72	6.73	ac	0.78	ab	3856.25	ac
CD 03-1932	1.80	ad	39.88	6.36	ac	0.83	ab	3510.42	ad
CD 03-4905	2.68	ad	53.50	7.30	ac	0.58	ab	3661.11	ad
CD 03-4925	3.28	ac	73.65	8.58	ab	0.45	ab	2858.22	cd
CD 03-4928	3.75	ab	79.89	8.70	ab	0.33	b	2933.33	bd
CD 03-4967	1.75	ad	36.67	6.09	ac	0.85	ab	3927.97	ac
CD 03-4970	2.38	ad	51.59	7.10	ac	0.70	ab	3798.61	ac
CD 03-5060	1.75	ad	40.20	6.36	ac	0.85	ab	3905.63	ac
CD 03-5198	2.25	ad	48.56	6.98	ac	0.70	ab	3493.75	ad
CD 03-5246	1.25	cd	25.00	5.08	c	0.95	a	4208.34	ab
CD 03-5253	1.75	ad	40.23	6.29	ac	0.80	ab	4032.25	ac
CD 03-5276	1.13	d	30.78	5.62	bc	0.98	a	4563.89	a
FM 966	3.68	a	81.67	9.00	a	0.35	b	2397.10	d
Média	1.72		45.39	6.64		0.76		3721.44	
C.V (%)	13.16			18.27		27.39		13.66	
Sig.	**			**		*		**	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 7.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 2 da safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.	IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>
IAC 24	1.13	bc <sup>(6)</sup>	55.36	7.44 <sup>(3)</sup>	0.98	4747.64
CD 00-5234	1.00	c	68.18	8.08	1.00	4852.78
CD 00-942	1.45	ac	82.26	9.11	0.90	4608.34
CD 02-1600	1.05	c	71.97	8.38	1.00	6575.00
CD 02-1618	1.45	ac	82.22	9.09	0.90	5997.22
CD 02-1621	1.13	bc	83.06	9.07	0.98	5258.33
CD 02-1623	1.00	c	69.45	8.33	1.00	4866.67
CD 02-1637	1.00	c	81.25	9.01	1.00	5050.00
CD 02-1675	1.18	ac	63.31	7.99	0.98	4775.00
CD 02-621	1.20	ac	67.78	8.19	0.95	4736.11
CD 02-684	1.00	c	90.00	9.53	1.00	4363.89
CD 02-749	1.00	c	83.34	9.14	1.00	4777.78
CD 02-801	1.25	ac	73.21	8.53	0.95	5650.21
CD 02-804	1.08	c	54.82	7.26	0.98	4205.56
CD 02-809	1.08	c	75.56	8.63	0.98	4688.54
CD 02-811	1.00	c	100.00	10.05	1.00	4648.38
CD 02-818	1.83	a	78.32	8.69	0.80	4569.45
CD 02-920	1.75	ab	109.08	10.29	0.80	4663.89
CD 99-1163	1.00	c	100.00	10.05	1.00	4905.56
FM 966	1.08	c	90.00	9.48	1.00	5897.22
Média	1.47		78.96	8.82	0.96	4991.88
C.V (%)	8.19			16.73	10.27	20.02
Sig.	**			n.s	n.s	n.s

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 8.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 2 da safra 2006/07.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.		IR <sup>(4)</sup>		PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.30	b <sup>(6)</sup>	30.24	5.52 <sup>(3)</sup>	ab	0.93	a	3678.47	bd
CD 04-2883	1.13	b	26.08	5.17	b	0.98	a	4499.07	ac
CD 04-2893	1.38	b	29.71	5.47	ab	0.93	a	3553.47	cd
CD 04-2918	2.00	ab	45.25	6.80	ab	0.80	ab	3536.11	cd
CD 04-3033	2.00	ab	42.98	6.48	ab	0.78	ab	4230.56	ad
CD 04-3040	1.55	ab	33.92	5.86	ab	0.88	a	4406.25	ac
CD 04-3095	1.13	b	24.62	5.04	b	0.98	a	4277.78	ad
CD 04-3138	1.50	ab	31.02	5.62	ab	0.90	a	3997.23	ad
CD 04-3181	1.00	b	22.03	4.80	b	1.00	a	4436.81	ac
CD 04-3239	2.25	ab	47.33	6.83	ab	0.70	ab	3661.81	bd
CD 04-3278	1.25	b	27.79	5.31	b	0.95	a	4550.00	ac
CD 04-3361	1.70	ab	36.96	6.11	ab	0.85	ab	4845.14	ab
CD 04-3497	2.50	ab	51.77	7.16	ab	0.65	ab	3945.14	ad
CD 04-3639	1.88	ab	40.93	6.45	ab	0.80	ab	3847.23	ad
CD 04-3915	2.25	ab	48.62	6.85	ab	0.70	ab	4019.45	ad
CD 04-4008	1.68	ab	36.49	5.93	ab	0.85	ab	4477.08	ac
CD 04-4134	1.63	ab	33.06	5.80	ab	0.88	a	4121.53	ad
CD 04-4222	1.63	ab	36.02	6.04	ab	0.88	a	4254.17	ad
CD 04-4480	1.50	ab	36.14	6.00	ab	0.88	a	4929.17	a
FM 966	3.13	a	65.84	8.18	a	0.48	b	3102.78	d
Média	1.63		37.34	6.07		0.84		4118.46	
C.V (%)	11.38			17.04		18.04		11.12	
Sig.	*			**		*		**	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 9.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 3 da safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.		IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.00	c <sup>(6)</sup>	56.95	7.46 <sup>(3)</sup>	bc	1.00	6298.48	ac
CD 02-1722	1.00	c	100.00	10.05	ab	1.00	6525.00	ab
CD 02-1750	1.00	c	88.46	9.44	ac	1.00	7475.00	a
CD 02-1831	1.08	c	107.50	10.40	ab	0.98	6494.45	ac
CD 03-1435	1.58	ab	80.27	8.86	ac	0.88	5564.86	bc
CD 03-1439	1.00	c	67.86	8.22	ac	1.00	7070.24	ab
CD 03-1499	1.00	c	90.00	9.53	ac	1.00	6127.78	ac
CD 03-1504	1.00	c	73.61	8.50	ac	1.00	6458.34	ac
CD 03-1546	1.08	c	107.50	10.40	ab	0.98	6447.22	ac
CD 03-1853	1.13	c	97.61	9.86	ab	0.98	6022.23	ac
CD 03-1874	1.00	c	41.07	6.48	c	1.00	4945.18	c
CD 03-1902	1.63	a	81.17	8.98	ac	0.85	5569.45	bc
CD 03-1908	1.38	ac	107.73	10.33	ab	0.93	6880.56	ab
CD 03-1932	1.00	c	75.87	8.73	ac	1.00	6568.19	ab
CD 03-2011	1.13	c	53.29	7.34	bc	0.98	5638.62	bc
CD 03-2026	1.00	c	68.96	8.36	ac	1.00	5814.49	bc
CD 03-4925	1.00	c	100.00	10.05	ab	1.00	7419.45	a
CD 03-4925	1.00	c	83.28	9.12	ac	1.00	7505.56	a
CD 03-4928	1.25	ac	125.00	11.17	a	0.95	6966.67	ab
FM 966	1.20	bc	96.67	9.83	ab	0.95	5536.11	bc
Média	1.45		85.14	9.15		0.97	6366.39	
C.V (%)	5.97			12.88		6.31	9.32	
Sig.	**			**		n.s	**	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 10.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 3 da safra 2006/07.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>	NR <sup>(2)</sup>	NR transf.	IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.65	36.99	6.12 <sup>(3)</sup>	0.88	4319.45	ac <sup>(6)</sup>
CD 04- 4481	2.75	61.21	7.82	0.58	4212.50	ac
CD 04-4557	1.53	34.04	5.88	0.90	4365.28	ac
CD 04-4769	1.38	35.89	5.98	0.93	3791.67	ac
CD 04-4781	2.00	45.03	6.54	0.78	4359.72	ac
CD 04-4939	1.38	33.19	5.78	0.93	4771.53	ab
CD 04-5189	1.25	27.82	5.30	0.95	4879.86	ab
CD 04-5265	1.50	35.00	5.89	0.88	4819.45	ab
CD 04-5268	1.00	24.51	5.05	1.00	5040.55	a
CD 04-5281	1.45	34.96	5.92	0.90	4465.28	ac
CD 04-5293	1.25	29.17	5.44	0.95	4830.56	ab
CD 05-1333	2.08	47.46	6.87	0.75	4143.75	ac
CD 05-374	2.00	42.62	6.58	0.78	4586.24	ac
CD 05-472	2.25	55.32	7.45	0.70	3566.67	bc
CD 05-536	3.25	70.28	8.28	0.48	4025.70	ac
CD 05-657	3.00	67.08	7.82	0.50	3639.59	ac
CD 05-729	2.18	49.48	7.00	0.70	4652.09	ac
CD 05-7962	1.13	26.39	5.22	0.98	4825.00	ab
CD 05-7988	2.33	51.18	7.10	0.65	3884.58	ac
FM 966	3.40	72.05	8.32	0.40	3298.42	c
Média	1.69	43.98	6.52	0.78	4323.89	
C.V (%)	15.26		20.84	30.28	12.81	
Sig.	n.s		n.s	n.s	**	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 11.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 4 da safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>	NR <sup>(2)</sup>	NR transf.	IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	1.13	91.13	9.56 <sup>(3)</sup>	0.98	6730.56	ab <sup>(6)</sup>
CD 03-4934	1.70	91.83	9.50	0.83	5713.89	ab
CD 03-4948	1.00	71.75	8.36	1.00	6955.56	ab
CD 03-4967	1.00	78.46	8.92	1.00	6800.00	ab
CD 03-4970	1.20	78.73	8.77	0.95	6785.80	ab
CD 03-4977	1.25	71.67	8.44	0.95	5869.45	ab
CD 03-4983	1.28	76.00	8.67	0.93	6760.35	ab
CD 03-4991	1.18	89.47	9.51	0.98	6516.34	ab
CD 03-5011	1.13	70.83	8.28	0.98	6701.39	ab
CD 03-5018	1.03	73.22	8.55	1.00	6070.05	ab
CD 03-5060	1.00	75.36	8.68	1.00	6936.11	ab
CD 03-5097	1.00	56.93	7.59	1.00	6533.34	ab
CD 03-5144	1.18	50.76	6.97	0.95	7024.87	ab
CD 03-5164	1.73	82.53	8.90	0.83	5638.89	ab
CD 03-5196	1.53	107.86	10.32	0.88	5750.00	ab
CD 03-5198	1.50	74.27	8.53	0.90	6901.64	ab
CD 03-5234	1.00	90.00	9.53	1.00	6927.78	ab
CD 03-5236	1.00	80.36	8.99	1.00	7586.11	a
CD 03-5245	1.00	82.04	9.09	1.00	7286.11	ab
FM 966	1.00	93.81	9.73	1.00	5427.78	b
Média	1.47	79.35	8.84	0.96	6545.80	
C.V (%)	8.87		16.31	10.76	11.50	
Sig.	n.s		n.s	n.s	*	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 12.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 4 da safra 2006/07.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>	NR <sup>(2)</sup>	NR transf.	IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>	
IAC 24	3.20	72.75	8.32 <sup>(3)</sup>	0.48	4330.56	ab <sup>(6)</sup>
CD 05-8097	2.78	61.89	7.61	0.58	4857.64	ab
CD 05-8082	2.38	48.95	6.72	0.65	4500.69	ab
CD 05-8220	3.00	60.00	7.32	0.50	5427.78	a
CD 05-8221	2.80	68.11	7.90	0.55	5071.53	a
CD 05-8276	3.25	74.31	8.40	0.45	4854.17	ab
CD 05-8286	3.20	71.11	8.21	0.48	4294.44	ab
CD 05-8530	2.75	57.76	7.03	0.55	5011.11	ab
CD 05-8585	3.13	69.68	8.23	0.50	5102.09	a
CD 05-8656	3.00	61.87	7.44	0.50	4784.03	ab
CD 05-8693	2.88	63.30	7.51	0.53	5296.63	a
CD 05-8726	3.25	70.26	8.16	0.43	4629.17	ab
CD 05-8828	3.60	75.78	8.69	0.38	4633.33	ab
CD 05-8885	3.03	68.76	8.13	0.50	4411.11	ab
CD 05-8998	3.33	80.37	8.91	0.43	4537.50	ab
CD 05-9002	3.63	79.17	8.86	0.35	4279.86	ab
CD 05-9115	2.75	60.12	7.40	0.55	4434.72	ab
CD 05-9169	2.75	62.13	7.53	0.58	4475.00	ab
CD 05-9209	2.75	60.34	7.43	0.58	4769.44	ab
FM 966	4.50	97.22	9.91	0.13	3122.22	b
Média	1.98	68.19	7.98	0.48	4578.65	
C.V (%)	13.33		18.42	50.55	15.98	
Sig.	n.s		n.s	n.s	*	

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 13.** Avaliação da resistência ao nematóide de galha (*Meloidogyne incognita*) e da produtividade de 20 genótipos de algodão em Primavera do Leste – MT. Ensaio 5 da safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA <sup>(1)</sup>		NR <sup>(2)</sup>	NR transf.	IR <sup>(4)</sup>	PRODUT <sup>(5)</sup>
IAC 24	1.28	b <sup>(6)</sup>	127.50	11.25 <sup>(3)</sup>	0.93	6840.83
CD 03- 5276	1.00	b	59.95	7.75	1.00	7383.06
CD 03-5253	1.15	b	81.09	8.87	0.98	6629.94
CD 03-5516	1.00	b	72.72	8.54	1.00	6930.56
CD 04-2893	2.98	a	96.85	9.86	0.50	5469.53
CD 04-2936	1.00	b	86.67	9.33	1.00	7022.22
CD 04-3033	1.00	b	83.16	9.11	1.00	7530.76
CD 04-3061	1.00	b	73.87	8.60	1.00	7513.89
CD 04-3168	1.00	b	80.70	9.02	1.00	6280.56
CD 04-3262	1.18	b	90.21	9.19	0.95	6656.25
CD 04-3361	1.00	b	82.91	9.13	1.00	6525.00
CD 04-3432	1.20	b	81.47	8.85	0.95	6997.22
CD 04-3497	1.55	b	76.23	8.61	0.88	6577.78
CD 04-3652	1.13	b	80.66	8.87	0.98	6188.89
CD 04-3836	1.00	b	71.74	8.43	1.00	6585.18
CD 04-3892	1.05	b	89.05	9.48	1.00	6811.91
CD 04-4134	1.00	b	57.21	7.46	1.00	5777.78
CD 04-4287	1.25	b	83.04	9.01	0.93	6677.78
CD 04-4586	1.00	b	82.64	9.12	1.00	6996.15
FM 966	1.08	b	81.82	9.07	1.00	5586.11
Média	1.47		81.97	8.98	0.95	6649.07
C.V (%)	8.80			17.86	11.55	12.58
Sig.	*			n.s	n.s	n.s

<sup>(1)</sup> Notas de 1 a 5 com sintomas crescentes de nematóides; <sup>(2)</sup> Nota Relativa a testemunha da parcela FM 966; <sup>(3)</sup> Nota Relativa transformada raiz quadrada de  $x + 1$ ; <sup>(4)</sup> Índice Relativo de cada parcela; <sup>(5)</sup> Produtividade de algodão em caroço (Kg/ha); <sup>(6)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

A tabela 14 foi estabelecida com base as notas das testemunhas de resistência e de sensibilidade, IAC 24 e FM 966. Notou-se que a incidência de nematóides era maior no início do local de plantio, tendo um gradiente de diminuição ao longo dos ensaios que foram plantados em seqüência. Por isso os primeiros ensaios plantados ficaram com notas mais elevadas principalmente para FM 966, e com poder de discriminação melhor entre os genótipos (análise de variância significativa). A heterogeneidade da distribuição espacial das populações de nematóides também é muito grande dentro de cada ensaio.

**TABELA 14.** Notas de avaliação de severidade das testemunhas suscetíveis (FM 966) e resistentes (IAC 24) para o nematóide das galhas. Ensaios das safras 2005/06 e 2006/07. Primavera do Leste - MT.

Safra	Testemunha	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5
2005/06	IAC24	1.30 b*	1.13	1.00	1.13	1.08
	FM966	4.20 a	1.08	1.20	1.00	1.28
2006/07	IAC24	1.25 b	1.30 b	1.65	3.20	-
	FM966	3.68 a	3.13 a	3.40	4.50	-

\* Letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey 5%.

Os dados da testemunha suscetível apresentados na Tabela 14 mostraram também que a incidência de nematóides aumenta de um ano para outro. Este fato provavelmente deve-se ao poder de multiplicação dos nematóides na cultivar FM 966, favorecendo a disseminação do patógeno por toda a área. Isso evidencia a importância de repetir estes ensaios vários anos nas mesmas parcelas, com presença de genótipos suscetíveis, a fim de aumentar a quantidade de inóculo e a homogeneidade de sua distribuição.

Os resultados dos ensaios 4 e 5 de 2005/06, mostraram a baixa incidência de nematóides nestas áreas. No ensaio 4, a testemunha de resistência (IAC 24) apresentou nota mais elevada que a testemunha de sensibilidade (FM 966), respectivamente 1.13 e 1.00. A explicação vêm provavelmente da presença de alguma reboleira de nematóides dentro das parcelas do IAC 24, enquanto nas parcelas de FM 966 não havia presença de nematóides.

Nestes resultados de campo, é importante observar que no caso de não existir diferenças significativas entre as duas testemunhas de resistência e suscetibilidade, estes devem ser considerados pouco confiáveis e os resultados analisados com muita cautela. Isso ocorreu nos resultados dos ensaios 2 a 5 de 2005/06 e no ensaio 4 de 2006/07. Nestes ensaios, a presença e a avaliação das linhas intercaladas de FM 966 foram muito importantes para o aproveitamento dos ensaios. Por exemplo, no ensaio 3

de 2005/06, não existia diferença entre testemunha de resistência e testemunha de suscetibilidade tanto para a nota de parcela como para o Índice Relativo. Porém, a nota relativa (NR), que leva em consideração a incidência dos nematóides em cada parcela, foi capaz de fazer uma discriminação estatisticamente significativa entre as variedades testadas.

Comparando os resultados de análises de variância e das classificações dos genótipos em função das variáveis Notas e Índice Relativo, notou-se que o Índice Relativo não foi capaz de discriminar os genótipos em teste. Então, aparentemente a elaboração deste IR não acrescenta maiores informações em relação à análise da Nota.

Analisando os resultados dos ensaios de 2005/06 apresentados nas Tabelas 5 a 9, confirmou-se que a classificação dos genótipos segundo o critério de Nota e de Índice Relativo não difere muito. A nota relativa (NR) permite, neste caso, acertar algumas anomalias encontradas com Notas e IR. Por exemplo, no ensaio 1, os genótipos CD 406 e Acala 90 foram classificados como dos resistentes aos nematóides com critério de notas. Sabemos que isso não é verdade, em base a dados de pesquisa e de comportamento destas variedades em condição de cultivo comercial. Usando o critério de NR, a classificação destes dois materiais é mais compatível com a informação que temos deles.

O IR usado neste trabalho é um índice elaborado pelo Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, que seleciona áreas com alta infestação de nematóides, inclusive favorecendo o aumento da população com plantio de culturas hospedeiras. As avaliações do IAC são realizadas ao nível de plantas ou de parcelas, atribuindo-se notas de 1 a 5, crescentes com os sintomas morfológicos das plantas. Tendo como referência os genótipos de melhor comportamento ou testemunhas tradicionais, as notas médias são transformadas em índices relativos específicos para cada doença. A partir dos índices específicos, e tomando-se a média geométrica deles, calcula-se para cada genótipo o Índice de Resistência Múltipla, e mediante multiplicação deste pelo menor índice específico, obtém-se o Índice de Segurança. Finalmente, para ajudar a classificar os genótipos, são

estabelecidas classes conceituais de resistência (Resistente/ Moderadamente Resistente, Moderadamente Suscetível e Suscetível/ Altamente Suscetível) nas quais foram enquadrados os genótipos (CIA et al., 2008). O IR é um índice que permite relativizar os dados de ensaios de campo com níveis de infestação muito diferente, possibilitando o agrupamento dos mesmos.

Segue na Tabela 15, uma comparação dos resultados obtidos neste trabalho com aqueles obtidos pelo IAC (LUDERS & CIA, 2007).

**TABELA 15.** Comparação de resultados obtidos no Instituto Agronômico de Campinas e na Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola- Coodetec para variedades comerciais. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/6.

LUDERS & CIA, 2007		Ensaio1 2005/06	
<b>Variedade</b>	<b>IR<sup>(1)</sup></b>	<b>Variedade</b>	<b>NR<sup>(2)</sup></b>
IAC 24	1.00	IAC24	41.98
DELTAOPAL	0.86	DELTAOPAL	52.63
DELTAPENTA	0.76	CD 408	58.71
CD 408	0.68	DELTAPENTA	61.47
CD 401	0.68	CD 401	147.57
LUDERS & CIA, 2007		Ensaio1 2005/06	
<b>Variedade</b>	<b>IR<sup>(1)</sup></b>	<b>Variedade</b>	<b>NR<sup>(2)</sup></b>
IAC 24	1.00	CD 409	36.51
CD 409	0.80	IAC 24	41.98
CD 410	0.70	CD 410	44.32
DELTAOPAL	0.68	DELTAOPAL	52.63
DELTAPENTA	0.56	DELTAPENTA	61.47
DESTAK	0.38	DESTAK	104.35
FM 966	0.34	FM 966	151.75

(1) IR = Índice Relativo

(2) NR = Nota Reativa

Na comparação dos resultados obtidos neste ensaio 1 de 2005/06 com os resultados obtidos por Luders e Cia em 2007, observou-se que a classificação obtida com NR em um só ensaio, foi semelhante a classificação obtida num conjunto de ensaios conduzidos em diversos locais do Brasil, em condição de campo. Nos trabalhos multilocais de campo, sempre são evidenciadas grandes interações entre genótipos e nematóides, de um ano para outro, e em locais diferentes. Eles apresentam, às vezes materiais com notas altas em ensaios com baixo nível de infestação, fato

que pode não ter a sua origem na susceptibilidade do material, mas sim na alta população do nematóide nas parcelas do ensaios.

Galbieri (2007) em estudos realizados no Instituto Agronômico de Campinas, também observou variações de notas e de índices relativos, sendo que o local, a infestação, a distribuição espacial, as condições climáticas e os hospedeiros são variáveis importantes que condicionam as avaliações dos nematóides.

Assim, a relação entre os resultados de Nota Relativa neste trabalho e o Índice Relativo estabelecido sobre vários ensaios da rede de avaliação do IAC confirma mais uma vez o interesse deste critério de Nota Relativa para a avaliação dos ensaios de nematóides em campo.

Na Tabela 16 são apresentados os resultados da avaliação do ensaio 1 de 2005/06 utilizando-se outro critério, o número de galhas por raízes.

Nos Estados Unidos, alguns estados como a Louisiana conduzem ensaios regionais em campo para determinar o nível de resistência dos genótipos. Neste caso, Hayes et al. 2005, realizaram avaliações de quinze plantas por parcela, e utilizaram uma escala de nota para galhas, que varia de 0 (sem galhas) a 5 (ataque severo de galhas). As plantas são arrancadas cuidadosamente e, no mesmo momento são atribuídas estas notas. Outro trabalho de Caldwell et al. 2004 conduzido no Agricultural Center também relata avaliações utilizando esta escala, aparentemente os resultados são compatíveis com aqueles em que se utilizam as metodologias habituais, discriminando significativamente os diversos genótipos

Em nosso caso, também este critério de número de galhas é discriminante, com genótipos não apresentando galha (IPR 120) até genótipos com número elevado de galhas (FM 966). A classificação dos genótipos é alterada significativamente quando comparado com Nota Relativa. É o caso da Acala 90, que apesar de ter nota baixa (1) e NR média (47.73), apresenta muitas galhas nas raízes (41.25). Os dois genótipos mais sensíveis, FM 966 e CD 401, apresentam número de galhas muito diferente (79 e 13.5).

**TABELA 16.** Notas, Nota Relativa, Número de Galhas, Peso de raiz, e Produtividade no ensaio 1 de avaliação de genótipos para *Meloidogyne incognita*. Primavera do Leste – MT, safra 2005/06.

GENÓTIPO	NOTA		NR		NGALHAS	PESO RAIZ	PRODUT.	
IAC 24	1.30	b <sup>(1)</sup>	41.98	b	2.50	33.40	5483.34	ac
ACALA 90	1.00	b	47.73	b	41.25	35.95	5264.42	ac
AGUSA 1	1.55	b	50.09	b	25.25	38.18	4783.34	ac
BRS CEDRO	1.43	b	51.32	b	12.00	59.87	6478.20	a
BRS JATOBÁ	1.10	b	58.00	b	12.00	42.00	5661.11	ac
BRS PEROBA	1.38	b	44.51	b	21.75	41.92	5386.11	ac
CD 401	4.13	a	147.57	b	13.50	15.89	3575.00	ce
CD 405	2.20	ab	62.14	b	7.25	33.17	5205.56	ac
CD 406	1.05	b	60.93	b	39.25	26.65	5861.11	ab
CD 408	1.90	b	58.71	b	22.75	31.13	4277.78	ac
CD 409	1.25	b	36.51	b	4.00	44.18	5291.67	ac
CD 410	1.35	b	44.32	b	10.25	19.43	4311.39	ac
DELTAOPAL	1.63	b	52.63	b	33.75	20.63	4458.33	ac
DELTAPENTA	2.23	ab	61.47	b	28.75	41.36	4697.22	ac
DESTAKE	2.00	b	104.35	ab	14.50	32.66	5100.00	ac
IAN 424	2.15	ab	77.92	ab	29.75	23.51	3633.33	bc
IAN 425	1.40	b	83.59	ab	31.75	22.09	5350.00	ac
IPR 120	1.13	b	34.15	b	0.00	51.22	4847.22	ac
SG 821	1.48	b	58.71	b	22.00	49.20	5769.45	ac
FM 966	4.20	a	151.75	a	79.00	36.69	4402.99	ac
Média	1.64		66.42		22.56	34.95	4991.88	
C.V (%)	11.79		48.97		-	-	17.30	
Sig.	*		*		-	-	**	

<sup>(1)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

Embora discriminante, o número de galhas nas raízes foi um critério contestado por Shepherd (1979) porque não refletia a multiplicação dos nematóides pela planta. Ele mostrou que alguns genótipos, apesar de formar número significativamente mais elevado de galhas nas raízes, tem fatores de reprodução inferior a 1. É possível que neste caso, as fêmeas, além de se introduzir e se alimentar nas raízes, não consigam produzir muitos ovos viáveis.

Finalmente, para Shepherd, o número de galhas nas raízes não seria um critério confiável para avaliar a resistência de genótipos à *Meloidogyne incognita*.

A produtividade do algodoeiro deve ser considerada um critério secundário na análise destes ensaios de campo, porque os genótipos avaliados apresentam inicialmente potenciais produtivos muito diferentes. A produtividade pode ser avaliada para confirmar uma eventual tolerância aos nematóides. No ensaio 1 de 2005/06, as cultivares CD 401 e FM 966 apresentam notas de severidade elevadas em decorrência da presença do nematóide, mas a produtividade de algodão em caroço da CD 401 parece mais afetada por este patógeno, do que o material FM 966. A priori poderia-se supor que o material FM 966 é mais tolerante que a CD 401 aos nematóides, no entanto sabemos que a FM 966 apresenta um potencial produtivo muito superior à CD 401 nos cerrados, o que invalida esta conclusão. Portanto, exige-se conhecimento e cautela nas conclusões, pois podem ser errôneas com análises simplificadas.

Uma das maneiras de avaliar as perdas de produção de cada material devido à presença de nematóides seria trabalhar com uma parte das repetições com proteção em relação aos nematóides, utilizando-se nematicidas. Assim, o diferencial de produção com e sem os nematóides seria realmente um critério confiável de tolerância.

Neste mesmo ensaio 1 de 2005/06, foram realizadas análises de correlações entre todas as variáveis. Esta análise foi realizada com os dados obtidos da primeira repetição e a matriz de correlação é apresentada na Tabela 17.

**TABELA 17.** Matriz de correlação de Pearson para as variáveis Altura, Nota, Nota Relativa, Número de Galhas, Peso de Raiz, Número de Galhas/ Peso Raiz e Produtividade no ensaio 1. Primavera do Leste – MT. Safra 2005/06.

	Alt	Prod	Nota	NR	Galha	Raiz	G/R
Altura	-	<b>0.686**</b>	-0.664**	-0.539*	-0.420	0.451*	-0.453*
Produção		-	-0.367	-0.215	-0.116	<b>0.480*</b>	-0.215
Nota			-	0.808**	0.285	-0.306	0.258
NR				-	<b>0.637**</b>	-0.284	0.564*
Galha					-	-0.112	0.839**
Raiz						-	-0.489*
G/R							-

\*\* , \* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

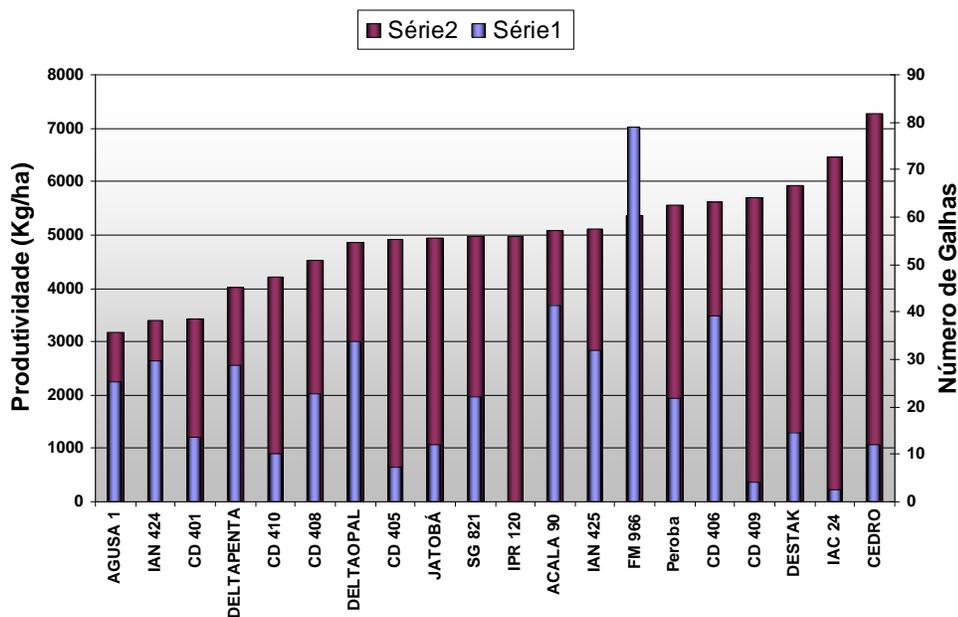
Não existem correlações significativas entre a nota da parcela e o número de galhas nas raízes. Mas a correlação é positiva entre a Nota Relativa e o Número de galhas (altamente significativo) e entre a Nota Relativa e o Número de galhas por grama de raízes (significativo), demonstrando mais uma vez o interesse de usar esta variável “Nota Relativa”.

Por outro lado, não existe nenhuma correlação significativa entre a produtividade e as variáveis: Nota, Nota Relativa, Galhas e Galhas por grama de raiz, confirmando o comportamento de tolerância de alguns materiais que permitem a formação de galhas nas raízes (e conseqüentemente o aparecimento de sintomas foliares), sem interferir na produtividade.

Porém, em condições de solos infestados por nematóides, as variedades produtivas têm tendência a crescer mais e produzir uma quantidade maior de raízes, sendo que nem sempre os materiais que apresentam Notas Relativas elevadas e sintomas foliares de nematóides agressivos, perdem em produtividade.

A Figura 2 apresenta os resultados do número de galhas e produtividade de algodão em caroço de 20 genótipos de algodão na 1ª repetição do ensaio 1 de 2005/06. Os genótipos FM 966, CD 406, Acala 90 apresentaram um número de galhas elevado, com produtividades médias. Ao contrário, IAN 424, Agusa 1 e CD 401 apresentam número de galhas menor, mais baixíssimas produtividades. Não foram identificadas relações significativas entre número de galhas e a produtividade, o que tende a confirmar a posição do Shepherd (1979).

Existem vários fatores que interferem no número de galhas e também no peso de raiz. Uma linhagem de porte mais elevado, na maioria dos casos terá um peso de raiz maior, proporcionalmente ao seu tamanho. Com base nestes dados, pode-se confirmar que existem genótipos que mesmo apresentando um número elevado de galhas, conseguiram produzir mais do que aqueles que têm um número de galha menor, demonstrando tolerância. Nem sempre o material que apresenta a maior quantidade de galhas é o mais sensível.



**FIGURA 2.** Número de galhas de *M. incognita* e produtividade de algodão em caroço (Kg/ha) de 20 genótipos de algodoeiro. Primavera do Leste – MT, safra 2005/06.

Com base nos resultados obtidos através das Notas Relativas das Tabelas 5 a 13, as linhagens da Coodetec que se destacam são as seguintes:

Nos ensaios “discriminantes” (ensaio 3 de 2005/06 e ensaios 1 e 2 de 2006/07), se destacam as linhas:

“Tolerantes”: CD 03-5246, CD 04-3181; CD 03-1874 e em menor grau, as linhas CD 03-5276, CD 02-1621; CD 04-2883; CD 04-3095; CD 04-3278 e CD 03-2011.

“Sensíveis”: CD 03-4925; CD 04-3497; CD 03-4928 e em menor grau CD 03-4928; CD 04-3239; CD 04-3915; CD 03-1908; CD 03-1546 e CD 02-1831.

Nos ensaios pouco discriminantes (ensaios 2, 4 e 5 de 2005/06, e ensaios 3, 4 de 2006/07), se destacam as linhas seguintes, sabendo que estes resultados são de menor confiabilidade que os anteriores:

“Tolerantes”: CD 00-5234; CD 04-5268; CD 03-5144; CD 05-8082; CD 04-4134 e em menor grau CD 02-1675; CD 02- 621; CD 02-804; CD 04-5189; CD 04-5293; CD 04-7962; CD 05-8530 e CD 03- 5276.

“Sensíveis”: CD 02-920; CD 05-536; CD 03-5196; CD 05-8998; CD 04-2893 e em menor grau CD 99-1163 e CD 02-811.

Globalmente, em dois anos foram testadas em campo 144 linhas da Coodetec, podendo caracterizar 38 linhas, representando aproximadamente 25% delas, como sensíveis ou “tolerantes”.

Apesar das limitações encontradas na condução desses experimentos e na interpretação dos resultados, estes ensaios são importantes, primeiro porque permitiram avaliar um grande número de genótipos e segundo por verificarem a interação destes genótipos com outras formas de vida que habitam o solo, sejam outros nematóides, além do gênero *Meloidogyne*, ou sejam outros microrganismos do solo.

### **3.3.2 Resultados em casa de vegetação**

Os primeiros ensaios foram conduzidos para ajustar as metodologias de trabalho em casa de vegetação, com inoculação artificial do nematóide.

O ensaio 1 foi realizado para determinar a idade ideal da planta para a inoculação com *M. incognita* (10 dias após a emergência, ou 1 par de folhas verdadeiras), e também para determinar as melhores épocas de avaliação do sistema radicular, ou seja aos 30, 45 ou 60 dias após a inoculação. Os resultados são apresentados nas 3 tabelas 18, 19 e 20, cada uma sendo o resultado de uma data de avaliação.

Foram utilizados genótipos comerciais cujo comportamento em relação à *Meloidogyne incognita* raça 3 é conhecido, sendo IAC 24 resistente, CD 401 e FM 966 muito sensíveis e CD 408 intermediário.

**TABELA 18.** Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 30 dias após a inoculação com *Meloidogyne incognita*. Cascavel – PR. 2006.

Material	Data da inoculação							
	10 dias				1 par folhas			
	Galhas		Nota <sup>(1)</sup>		Galhas		Nota	
FM 966	3.40	a <sup>(2)</sup>	1.87	a	2.49	a	1.68	a
IAC 24	1.73	b	1.41	b	1.28	b	1.16	b
CD 408	3.18	a	1.82	a	1.64	b	1.41	ab
CD 401	2.86	a	1.84	a	1.57	b	1.43	ab
Média	2.79		1.73		1.74		1.42	
CV (5%)	23.37		12.43		29.02		21.43	
Sig.	**		*		*		*	

<sup>(1)</sup> Nota atribuída ao sistema radicular, de 1 a 5; <sup>(2)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

**TABELA 19.** Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 45 dias após a inoculação com *Meloidogyne incognita*. Cascavel – PR. 2006.

Material	Data da inoculação							
	10 dias				1 par folhas			
	Galhas		Nota <sup>(1)</sup>		Galhas		Nota	
FM 966	4.34	a <sup>(2)</sup>	2.00	a	2.73	a	1.72	a
IAC 24	1.76	c	1.51	c	1.34	b	1.27	b
CD 408	2.99	b	1.77	b	2.47	a	1.68	a
CD 401	3.13	b	1.82	b	1.47	b	1.32	b
Média	3.06		1.77		2.00		1.50	
CV (5%)	22.55		7.44		24.40		14.36	
Sig.	**		*		*		*	

<sup>(1)</sup> Nota atribuída ao sistema radicular, de 1 a 5; <sup>(2)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

Os resultados mostram que as inoculações realizadas aos 10 dias de emergência do algodoeiro foram mais eficientes do que aquelas feitas quando as plantas estavam com o primeiro par de folhas verdadeiras: número e notas de galhas discriminam melhor as variedades quando a inoculação foi realizada aos 10 dias.

**TABELA 20.** Resultados do ensaio 1 em casa de vegetação. Algodoeiro semeado em tubetes e avaliado aos 60 dias após a inoculação com *Meloidogyne incognita*. Cascavel – PR. 2006.

Material	Data da inoculação			
	10 dias		1 par folhas	
	Galhas	Nota <sup>(1)</sup>	Galhas	Nota
FM 966	3.13	1.79	3.26	1.84
IAC 24	2.40	1.67	3.11	1.76
CD 408	2.76	1.74	2.75	1.75
CD 401	3.13	1.82	2.47	1.70
Média	2.85	1.76	2.90	1.76
CV (5%)	31.90	10.59	33.53	11.83
Sig.	n.s	n.s	n.s	n.s

<sup>(1)</sup> Nota atribuída ao sistema radicular, de 1 a 5; <sup>(2)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

Os testes em casa de vegetação para serem usados como “screening” numa grande quantidade de variedades, precisam dispor de avaliações rápidas e confiáveis. Por estes motivos foram testadas as duas avaliações seguintes: contagem de galhas e nota de galhas. Foi dada uma nota visual na raiz, levando em consideração o número e o tamanho de galhas.

Dos experimentos realizados, a contagem de galhas comparando-se com o método de notas é o método mais eficiente e preciso para se avaliar as plântulas de algodoeiro inoculadas. Porém, a variável “Nota”, apesar de menos precisa, ainda permite discriminar as variedades com diferenças estatisticamente significativas, o que mostra que no caso de ter que realizar screening de um grande número de materiais, o sistema de Nota pode ser usado.

As avaliações realizadas aos 30, 45 ou 60 dias conseguiram discriminar os genótipos de algodoeiro quanto ao número de galhas de *M. incognita*, sendo que aos 60 dias os genótipos apresentaram um número mais elevado de galhas. Na Figura 3, a disposição dos vasos em casa de vegetação.

A disposição dos vasos na casa de vegetação está apresentada na Figura 3.



**FIGURA 3.** Disposição dos vasos no ensaio de variedades de algodoeiro inoculadas artificialmente com *Meloidogyne incognita* raça 3 em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006.

No ensaio 2, realizado em vasos, a avaliação do número de galhas foi feita apenas aos 30 dias após a inoculação (Tabela 21).

**TABELA 21.** Ensaio 2: avaliação do algodoeiro semeado em vasos, 30 dias após a inoculação com *Meloidogyne incognita* em casa de vegetação. Cascavel – PR. 2006.

Material	Data de inoculação							
	10 dias				1 par folhas			
	Galhas		Nota <sup>(1)</sup>		Galhas		Nota	
FM 966	3.71	bc <sup>(2)</sup>	1.89	ab	4.49	a	1.96	a
IAC 24	2.43	c	1.63	b	2.11	b	1.58	b
CD 408	5.32	ab	2.00	ab	4.30	a	2.02	a
CD 401	5.90	a	2.10	ab	4.22	a	2.02	a
Média	4.34		1.91		3.78		1.89	
CV (5%)	36.60		12.91		26.40		10.60	
Sig.	*		*		*		*	

<sup>(1)</sup> Nota atribuída ao sistema radicular, de 1 a 5; <sup>(2)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

Comparando estes resultados com aqueles da Tabela 18, a quantidade de galhas encontradas nos sistemas radiculares das plantas em vasos é superior as plantas em tubetes, o que pode ser explicado pelo maior desenvolvimento das raízes nos vasos. Os resultados obtidos com inoculação das plantas aos 10 dias de emergidas parecem levemente discrepantes, com coeficiente de variação muito elevado (36,6%). Neste sistema com vaso, a inoculação das plantas com 1 par de folhas verdadeiras foi melhor que aos 10 dias de emergidas.

Assim, o sistema de teste em casa de vegetação com vaso, apresenta resultados tão bons ou melhores do que aqueles com tubetes, mas comparando os dois sistemas de mesma duração do plantio até a avaliação, o sistema de tubete permite testar um número maior de materiais no mesmo espaço físico. Na Tabela 22 estão apresentados os resultados do ensaio 3, onde foi utilizado 12 materiais de algodoeiro.

**TABELA 22.** Ensaio 3: avaliação do número de galhas, peso de raiz e galhas/peso raiz de variedades de algodoeiro inoculadas com *M. incognita* em tubetes, em casa de vegetação. Cascavel – PR. Safra 2006/07.

Genótipos	1° ensaio		2° Ensaio			3° Ensaio			
	Galhas		Galhas	Galhas	Galhas	Peso Raiz	Galhas/Raiz		
CD 00-5234	22.92	ab	17.75	ac	29.83	ac <sup>(1)</sup>	1.38	28.55	a
CD 02-801	21.08	ac	22.92	ab	40.67	ab	1.78	22.31	a
CD 02-1637	27.42	a	22.25	ab	18.08	bc	1.89	9.70	ab
CD 03-5192	24.33	ab	19.33	ab	28.58	ac	1.86	22.28	ab
CD 03-5276	25.50	ab	14.25	ac	33.75	ac	1.41	25.50	a
CD 04-2893	24.25	ab	15.75	ac	33.08	ac	1.73	20.30	a
CD 04-3361	17.42	ac	14.92	ac	19.17	ac	1.46	14.55	ab
CD 04-3497	25.75	a	16.00	ac	29.08	ac	1.45	21.76	a
CD 04-4134	14.33	bc	8.92	c	46.08	a	2.08	19.27	ab
CD 04-4939	12.50	c	13.25	bc	18.08	c	2.21	8.56	b
CD 406	19.50	ac	24.25	a	26.50	ac	2.19	11.92	ab
FM 966	23.17	ab	22.83	ab	37.92	ac	1.67	20.50	ab
Média	21.51		17.70		30.07		1.76	18.77	
CV (%)	20.41		24.57		29.29		11.77	30.68	
Sig.	*		*		**		n.s		*

<sup>(1)</sup> Letras distintas indicam grupos estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey a 5%.

O experimento em casa de vegetação foi inoculado em tubetes com *M. incognita*, sendo repetido três vezes a fim de verificar a repetibilidade do teste, sendo que na última vez foram acrescentadas duas variáveis, peso de raiz e número de galhas dividido pelo peso do sistema radicular.

A terceira repetição do ensaio foi a que obteve o maior número de galhas e a segunda repetição, o menor número de galhas. Existem diferenças significativas entre os tratamentos para cada avaliação. Mas comparando em detalhes as 3 repetições, alguns materiais como CD 04-4939 apresentam comportamento idêntico. Outros não, como é o caso da CD 02-1637 com muitas galhas nas duas primeiras repetições, e poucas galhas na terceira, ou ao contrário, a CD 04-4134 com poucas galhas nas duas primeiras e muitas galhas na terceira. Esta falta de repetibilidade dos resultados é problemática e chama a atenção sobre a necessidade de definir estritamente às condições de realização destes ensaios, tanto para a pureza do inóculo utilizado, como das condições físicas de realização dos testes, em particular a temperatura, que poderá ter efeito sobre o desenvolvimento das raízes e as interações entre as raízes e os nematóides.

Tentamos relativizar o número de galhas nas raízes com o peso do sistema radicular. Esta nova variável terá que ser mais testada para avaliar a sua utilidade.

Os resultados dos ensaios 4 e 5 são apresentados na Tabela 23. Referem-se à classificação de genótipos de algodoeiro, em ensaio conduzido em casa de vegetação em tubetes, avaliando nota de galhas e fator de reprodução.

As testemunhas são as mesmas nos dois ensaios, IAC 24 para resistência e FM 966 para suscetibilidade a *M. incognita*. Existem diferenças entre a classificação dos materiais segundo a capacidade de formar galhas e a capacidade de reprodução dos nematóides nas raízes, mas em nenhum dos casos estas diferenças foram estatisticamente significativas. Pode-se dizer que a Nota de número de galha traduziu a capacidade da raiz de ser infestada, e a planta ser prejudicada pelos nematóides. O fator de reprodução traduz a capacidade da planta em limitar ou não a multiplicação

dos nematóides, o que é uma informação importante para a dinâmica futura da população.

**TABELA 23.** Resultados dos ensaios 4 e 5: Classificação de genótipos de algodoeiro avaliados em casa de vegetação em tubetes, inoculados com *M. incognita* raça 3. Cascavel – PR. Safra 2005/06.

Ensaio 4			Ensaio 5		
GENÓTIPOS	NOTA	FR	GENÓTIPOS	NOTA	FR
IAC 24	1.22	0.53	IAC 24	1.35	0.77
CD 02-621	1.65	1.39	CD 409	1.90	0.67
CD 02-749	1.72	0.86	CD 02-1600	1.94	0.58
CD 03-1902	1.75	1.63	CD 02-684	1.95	0.19
CD 410	2.05	2.88	CD 405	2.00	0.38
CD 03-1932	2.10	2.28	CD 02-818	2.05	0.21
CD 03-1546	2.11	2.03	CD 03-1908	2.20	0.29
CD 02-804	2.19	1.92	CD 02-801	2.22	0.43
CD 02-920	2.22	1.07	CD 00-942	2.25	0.24
CD 03-1435	2.56	2.40	CD 03-1499	2.25	0.58
CD 408	2.61	2.11	CD 03-1853	2.65	0.86
FM 966	2.94	1.68	FM 966	2.65	2.30

Os resultados apresentados na Tabela 23 mostraram a variabilidade do fator de reprodução entre os genótipos, sendo o material IAC 24 de 0.53 e 0.77, e o FM 966 de 1.68 e 2.30. Como esperado, o material resistente IAC 24 apresenta fator de reprodução claramente inferior a 1, enquanto o fator de reprodução do material sensível é superior a 1,5.

Dos materiais comerciais testados, se confirma que CD 405 e CD 409 são resistentes, principalmente CD 405, mas com formação de galhas superior ao que acontece no material IAC 24. As variedades CD 408 e CD 410 mostram-se sensíveis. No caso de CD 410 é interessante detalhar, sendo um material com fator de multiplicação muito elevado (2,88) mas com pouca formação de galhas nas raízes. Sendo as raízes pouco atingidas, este material apresenta índices mais baixos de visualização dos sintomas foliares, o que é confirmado em campo (Tabelas 15 e 16) onde ele foi classificado como material relativamente “resistente”.

Nas linhas testadas, encontram-se os diversos casos:

Linhas resistentes (fator de reprodução significativamente inferior a 1) com pouca formação de galhas: CD 02-749; CD 02-1600; CD 02-684.

Linhas resistentes (fator de reprodução significativamente inferior a 1) formando galhas nas raízes: CD 02-818; CD 03-1908; CD 02-801; CD 00-942; CD 03-1499 e CD 03-1853.

Linhas sensíveis (fator de reprodução superior a 1,5) formando poucas galhas: CD 03-1902.

Linhas sensíveis (fator de reprodução superior a 1,5) formando muitas galhas: CD 03-1932; CD 03-1546; CD 02-804; CD 03-1435.

O caso das duas linhas CD 02-920 e CD03-1908 merece atenção especial, porque nos ensaios de campo do Mato Grosso (Tabelas 7 e 9), ambos materiais apresentaram Notas Relativas muito elevadas, então comportamento de genótipos “sensíveis”, enquanto na realidade estes materiais, apesar de ser muito danificados em presença de nematóides e formando muitas galhas, não multiplicam as populações de nematóides.

### 3.4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados dos ensaios obtidos em campo e casa de vegetação conclui-se que:

As avaliações de genótipos a campo, em solos naturalmente infestados de nematóides, podem discriminar significativamente os materiais. O uso do critério de Nota Relativa, estabelecido em relação à avaliação de linhas de materiais sensíveis intercaladas entre cada parcela do ensaio permite melhorar significativamente a “potência” destes ensaios de campo, quer dizer, a capacidade de discriminação dos tratamentos. Porém, as caracterizações a campo dos genótipos são de “tolerância”, quer dizer da capacidade da variedade de ser pouco atacada e não apresentar formação de galhas e sintomas morfológicos na parte aérea. As linhagens mais “tolerantes” identificados foram CD 03-5246, CD 04-3181; CD 03-1874; CD 00-5234; CD 04-5268; CD 03-5144; CD 05-8082 e CD 04-4134.

Em casa de vegetação, o sistema com tubete mostrou-se interessante para discriminar grande número de genótipos, apesar de requerer condições de casa de vegetação muito estáveis para que os resultados sejam reprodutíveis. A determinação do fator de Reprodução é o único critério permitindo de determinar a “resistência” dos materiais, seja a capacidade dele de não multiplicar os nematóides. O critério de formação de galhas nas raízes permite ter a informação sobre a “tolerância” do material, informação gerada em ensaios a campo. Linhas com alta “resistência” foram identificadas como CD 02-684, CD 02-818 e CD 00-942, sendo que o material resistente CD 00-942, que não multiplica os nematóides, pode parecer sensível a campo porque permite a formação de galhas nas raízes.

A informação sobre a “tolerância” gerada a campo e em casa de vegetação não é estritamente a mesma, sendo que a campo, trata-se de populações de nematóides complexas, com diversas espécies e raças, em interação com outros organismos.

**CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO  
COM MARCADOR MOLECULAR ASSOCIADO À RESISTÊNCIA AO  
NEMATÓIDE DAS GALHAS (*Meloidogyne incognita*) RAÇA 3.**

## CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO COM MARCADOR MOLECULAR ASSOCIADO À RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DAS GALHAS (*Meloidogyne incognita*) RAÇA 3.

**RESUMO** - A seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) tem fornecido potencial para o desenvolvimento eficiente de plantas resistentes a doenças, sendo que o sucesso para o programa de resistência à nematóides depende amplamente da identificação efetiva dos genes de resistência. O objetivo do trabalho foi verificar a possibilidade da utilização dos marcadores moleculares previamente identificados como ligados à resistência *Meloidogyne incognita* em 8m genótipos de algodoeiro do Brasil. Foram utilizados sete primers BNL 3644, CIR 316, CIR 196, BNL 3661, CIR 069, CIR 320 e BNL 3545. A análise dos dados consistiu na observação dos alelos obtidos com cada primer e seus respectivos tamanhos para cada genótipo avaliado. Estes resultados foram comparados com dados de fenotipagem. Dos sete primers testados, os primers CIR 069, CIR 320 e BNL 3545 não apresentaram diferença, ou seja, não apresentaram polimorfismo e não podem ser usados para eventual identificação de genes de resistência. Quatro marcadores apresentaram polimorfismo entre os genótipos analisados, sendo eles BNL 3644, CIR 316, CIR 196 e BNL 3661. Porém, nenhum deles apresenta correlação com comportamento de resistência ao nematóide que permite sua utilização em rotina para identificar genótipos resistentes. Isto indica que há grandes probabilidades de que a resistência do algodoeiro ao nematóide das galhas depende de vários genes e que no germoplasma brasileiro, outros genes ou alelos estão envolvidos na resistência a este nematóide que aqueles marcados por estes primers.

**Palavras-chave:** marcador molecular – algodoeiro – resistência - *Meloidogyne incognita*

## **MOLECULAR CHARACTERIZATION OF COTTON GENOTYPES TO THE ROOT-KNOT NEMATODE RESISTANCE (*Meloidogyne incognita*).**

**ABSTRACT** - The selection observed by molecular markers (MAS) has supplied potential to the efficient development of plants resistant to diseases, so that, the success to the program of resistance to nematodes depends broadly of the effective identification of genes of resistance. The aim of this research was to verify the possibility of the use of molecular markers previously identified as connected to *Meloidogyne incognita* resistance in 8m genotypes of cotton from Brazil. It were used seven primers BNL 3644, CIR 316, CIR 196, BNL 3661, CIR 069, CIR 320 and BNL 3545. The analyses of the data consisted on the observation of the alleles obtained with each primer and its respectives sizes to each genotype evaluated. These results were compared to the data of phenotyping The CIR 069, CIR 320 and BNL 3545 primers, out of seven tested primers, haven't shown any difference, so, they haven't shown polymorphism and can't be used for eventual identification of genes of resistance. Four markers have showed polymorphism among the genotypes analysed, being them, BNL 3644, CIR 316, CIR 196 and BNL 3661. However, unfortunately, none of them demonstrate correlation in behaviour of resistance to nematodes which permits its use in routine to identify resistant genotypes. It points out great probabilities that the cotton resistance to nematode from root-knot depend on several genes and that in the brazilian germplasm, other genes or alleles are involved on the resistance to this nematode to those marked by these primers.

**Keywords:** molecular markers, cotton plant, resistance – *Meloidogyne incognita*.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A identificação de marcadores moleculares ligados a genes de resistência é um passo essencial para desenvolver estratégias de seleção assistida por marcadores (SAM) em programas de melhoramento genético. Uma vez identificados os marcadores, os mesmos precisam ser validados em diferentes “backgrounds” genéticos, antes de serem efetivamente utilizados nas rotinas dos programas de melhoramento genético. A SAM tem fornecido potencial para desenvolvimento eficiente de plantas resistentes a doenças para diversas espécies. O sucesso para o programa de resistência à nematóides no algodoeiro depende amplamente da identificação efetiva dos genes de resistência e de marcadores ligados a eles. Diversos trabalhos têm sido publicados nesta área.

McPherson (1993) e Zhou (1998) trabalhando com duas linhas diferentes derivadas de Auburn 623, algodão de tipo “Upland”, sugeriram que o alto nível de tolerância a *Meloidogyne incognita* foi controlado por somente dois genes principais, identificados como  $Mi_1$  e  $Mi_2$  (MCPHERSON, et al., 2004). Em outro estudo, Bezawada et al. (2003), trabalhando numa população derivada de um cruzamento entre Clewilt 6-1 e Stoneville 213, concluíram que a resistência é governada por apenas um gene recessivo.

No algodão de tipo “Acala”, Acala NemX foi o primeiro genótipo comercial com resistência ao nematóide das galhas *M. incognita*, liberado

para uso comercial na Califórnia em 1995 (OGALLO et al. 1997). Zhou et al. (1998) identificaram que um simples gene controla a resistência ao nematóide das galhas em Acala NemX e dependendo como a classe de resistência é definida, os dados não se enquadram em nenhum modelo de gene recessivo ou aditivo. Estes resultados evidenciam a premissa de um simples gene comprovar a hereditariedade da resistência ao nematóide das galhas.

O principal gene (*rkn1*) em Acala NemX foi identificado primeiramente como determinante para resistência, baseado na análise genética do cruzamento intraespecífico entre Acala NemX x Acala SJ-2, (WANG et al., 2006; WANG e ROBERTS, 2006), embora as relações genéticas da resistência ao nematóide das galhas sejam diferentes nas linhas de germoplasma do algodão.

Bezawada et al. (2003) relataram dois marcadores microssatélites que poderiam explicar menos que 10% de variação para resistência ao nematóide das galhas de uma população F2, vinda de um cruzamento entre Clewewilt 6 e ST 213, mas o relacionamento entre os marcadores microssatélites e os traços da resistência não foram confirmados (ZHANG et al., 2004). Estes mesmos autores apresentaram dados sobre o marcador BNL1421 que mostra distorções de segregação indicando que pode ter causado uma falsa ligação.

Dois marcadores microssatélites, BNL1231 e CIR316, e um marcador CAPS (GHACC1) convertido em marcador AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism ou Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados) foram encontrados fortemente ligados ao gene de resistência *rkn1* em Acala NemX (WANG et al., 2006; WANG e ROBERTS, 2006). O marcador ligado a este gene fornece a oportunidade de investigar o relacionamento de *rkn1* em Auburn e outras fontes de resistência para este nematóide.

O principal gene (*rkn1*) em Acala NemX foi identificado primeiramente como determinante para resistência, e foi mapeado com o marcador microssatélite pertencendo ao grupo de ligação A03. O marcador

microsatélite CIR 316 foi encontrado ligado fortemente a *rkn1* (WANG et al. 2006).

A associação entre os marcadores BNL1231 e CIR316 no braço do Cromossomo 11 e a resistência ao nematóide das galhas em populações segregantes envolvendo linhas resistentes derivadas de Auburn 623 tem sido confirmada recentemente por Shen et al. (2006) e Ynturi et al. (2006). O marcador CIR 316 se encontra mais próximo do gene *rkn1*, a uma distância de 2.6 cM, seguido por BNL1231, a 18.4 cM. Ynturi et al. (2006) demonstraram também, utilizando os marcadores BNL3661-186 e BNL545-118, que uma região do cromossomo 14 é significativamente associada com a resistência a este parasita. Shen et al. (2006) detectaram um marcador de um QTL de resistência no cromossomo 7 afetando a resistência ao nematóide de galhas em algodoeiro.

Portanto, parece haver vários genes envolvidos na resistência ao nematóide de galha, localizados em vários cromossomos.

O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização molecular de 80 genótipos de algodão do Brasil com alguns marcadores ligados à resistência aos nematóides de galha em germoplasmas específicos, a fim de saber se podem ser usados em rotina nos programas de melhoramento locais.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Material vegetal

Foram utilizados 80 genótipos de algodoeiro para a caracterização molecular da resistência ao nematóide da galha raça 3. Os genótipos, a genealogia e o fenótipo relacionado à resistência de cada um, estão apresentados nas Tabelas 24.

**Tabela 24.** Genótipos e genealogia de linhagens/variedades de algodoeiro utilizadas para a caracterização molecular com marcadores ligados a genes de resistência ao nematóide de galhas. Cascavel – PR. Safra 2007.

AM.	GENÓTIPO	GENEALOGIA	COMENTÁRIO COMPLEMENTAR
1	AS 190	Texas	Colheita IBPGR/ IPGRI "Moco" da Guadalupe
2	AUBURN 56-1	Res AUBURN56	
3	AUBURN 56-24	Res AUBURN56	
4	AUBURN 56	Res AUBURN56	
5	AUBURN 566 RNR		
6	AUBURN 612 RNR		
7	AUBURN BR-2		
8	BRS Araça	Recorrente SRI5M	Base ampla Programa EMBRAPA
9	BRS Peroba	ITA90 x DeltaOpal	Programa EMBRAPA
10	CD02-1637	OC92-165 x Sicala 3-2	(P288/ DP41) / desconhecido
11	CD02-621	OC92-165 x SP 8324	(P288/ DP41)/ Fundo US
12	CD03-5198	SP8334 x Ston BR110	Fundo Argentino
13	CD04-2990	CD98-578 x CD98-378	(Yuc/TniHoa/Au56)/ HR102/ DPAc90/Au56
14	CD04-3040	CD98-578 x CD98-378	(Yuc/TniHoa/Au56)/ HR102/ DPAc90/Au56
15	CD04-3278	CD98-39 x CD98-578	P288/DP41/(Yuc/TniHoa/Au56)/ HR102

Continua...

Tabela 24 – Continuação...

Am.	GENÓTIPO	GENEALOGIA	COMENTÁRIO COMPLEMENTAR
16	CD04-3361	CD98-213 x CD98-420	92-165xSicala32/ HAR/ IAC20
17	CD04-3816	CD98-991 x CD97-122	SP8334xDPAc90/ IRCT223 x P288
18	CD04-4721	CD98-218 x CD405	92-165xSicalaV1 / (CNPA86-387 x P288)xPR3060/87
19	CD04-4939	CD98-218 x OC94-434	92-165xSicalaV1/ HAR/IAC20
20	CD04-5081	CD98-361 x CD 401	Sealand542xIAC20Reba/ CD401
21	CD04-5281	CD98-450 x OC94-434	Sealand542xIAC20Reba / HAR/IAC20
22	CD05-1039	M315 RNK x OC96-276(CD404)	Auburn634/DetaPine61/ SP8334/DPAc90
23	CD05-1087	M155 RKN x CD 401	Auburn634/ Coker310 / CD 401
24	CD05-1170	M155 RKN x CD 401	Auburn634/ Coker310 / CD 401
25	CD05-1222	M155 RKN x CD 405	Au634/ Coker310/ N'Kourala/ (Allenx HAR)/ Au56
26	CD05-1323	M155 RKN x OC94-434	Auburn634/ Coker310/ HAR/ IAC20
27	CD05-206	CD98-39 x CD98-378	92-165xSicala32/DPAc90/Au56
28	CD05-243	CD98-39 x CD98-378	92-165xSicala32/DPAc90/Au56
29	CD05-419	CD991 x CD97-545	SP8334xDPAc90/Sealand542xIAC20
30	CD05-485	CD97-122 x CD96-252	(IRCT223xP288)2
31	CD05-700	N320-2-9 x CD405	
32	CD05-862	N419-1-191 x CD401	
33	CD05-945	N315 RNR x CD401	
34	CD401	SP86 x ISA205	(Ston 2 e Ston 5= Lone Star65) x (Allen e HAR)
35	CD405	(CNPA86-387 x P288)xPR3060/87	N'Kourala/ (Allenx HAR)/ Auburn56
36	CD406	OC165 x Sicala V1	(P288/ DP41) / desconhecido
37	CD408	OC165 x Sicala V1	(P288/ DP41) / desconhecido
38	CD409	OC92-165 x Sicala 3-2	(P288/ DP41) / desconhecido
39	CD410	DPAc90 x P288	desconhecido/ (Allenx HAR)
40	CNPA BA 2033		Programa EMBRAPA
41	CNPA GO 02-9278		Programa EMBRAPA
42	CNPA GO 2043		Programa EMBRAPA
43	DeltaOpal		Material Monsanto / DeltaPine
44	ELS 28	Tanguis x PIMA USA- Barbadosense	Origem Peru- Fibra Extra Larga
45	ELS 34	Tanguis x PIMA USA- Barbadosense	Origem Peru- Fibra Extra Larga
46	ELS 59	Tanguis x PIMA USA- Barbadosense	Origem Peru- Fibra Extra Larga
47	ELS 9	Tanguis x PIMA USA- Barbadosense	Origem Peru- Fibra Extra Larga
48	Epamig 99-364		Programa EPAMIG
49	FM966	(=Sicala 40)	Fundo genético Australiano
50	FM993		Fundo genético Australiano
51	FMT501		Programa Fundação Mato Grosso
52	FMT701	Opal x IAC22	Programa Fundação Mato Grosso

Continua...

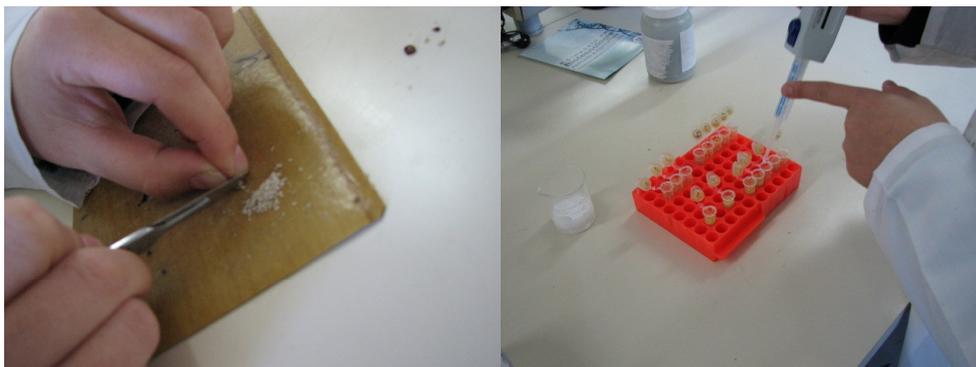
Tabela 24 – Continuação...

Am.	GENÓTIPO	GENEALOGIA	COMENTÁRIO COMPLEMENTAR
53	FMT702		Programa Fundação Mato Grosso
54	Hazera1952	Híbrido Hirs x barbadense	Material Israelense
55	IAC 03-2281/ IAC25	Cruzamento com Auburn 56	
56	IAC 17	IAC-RM3	Auburn56/obtido por seleção massal
57	IAC RM 4	Auburn 56	Auburn56/obtido por seleção massal
58	IAC RM2 -21-60	Rex Cotton	Empire/Ston2B
59	IAC RM3	Auburn 56	Auburn56/obtido por seleção massal
60	IAC RM4 SM5	Auburn 56	(seleção masal)
61	IAC22	IAC20 x GH-11-9-75	
62	IAC24	Res IAC20-RR-740	
63	IAPAR 01-36		Programa IAPAR
64	IAPAR 02-307		Programa IAPAR
65	IPR120		Fonte "IAC20"?
66	LD CV2		Fundo genético Australiano
67	LD Frego		Fundo genético Australiano
68	LS 17	Tanguis x PIMA USA- Barbadense	Origem Peru- Fibra Larga Tipo tanguis
69	LS 57	Tanguis x PIMA USA- Barbadense	Origem Peru- Fibra Larga Tipo tanguis
70	M 120 RNR**	Auburn634 x BC(Coker201)	
71	M 125 RNR**	Auburn634 x BC( ?)	
72	M 240 RNR**	Auburn634 x BC(DP61)	
73	M 272 RNR	Auburn634 x BC(Ston213)	
74	M 331 RNR	Auburn634 x BC(Auburn56)	
75	M 92 RNR**	Auburn634 x BC(Ston 213)	
76	M 155 RNR	Auburn634 x BC(Coker310)	
77	M 249 RNR	Auburn634 x BC(Ston213)	
78	M 315 RNR	Auburn634 x BC(DetaPine61)	
79	Ston 8M		
80	Sucupira		Programa EMBRAPA

Parte da fenotipagem em casa de vegetação destes 80 genótipos foi realizada por PIRES et al. (2007), e os resultados encontram-se nas tabelas em anexo. Estas informações foram completadas por resultados de avaliação em campo, da Fazenda Mourão no município de Campo Verde e resultados publicados na literatura.

#### 4.2.2 Extração e quantificação do DNA

O DNA foi extraído das sementes de cada genótipo. O protocolo utilizado foi o proposto por McDonald et al. (1994), com algumas modificações. Foram utilizadas 50 mg de sementes cortadas finas, e em cada amostra foi adicionado 300  $\mu\text{L}$  de tampão de extração (200 mM de Tris-HCl pH 7,5; 288 mM de NaCl; 25 mM de EDTA e 0,5% de SDS) (Figura 4). As amostras foram agitadas vigorosamente em um agitador de tubos tipo vortex por um minuto. Em seguida mais 500  $\mu\text{L}$  de tampão de extração foram adicionados nas amostras e as mesmas agitadas em vortex novamente por um minuto. As amostras foram centrifugadas por dez minutos a 13.200 rpm em centrífuga modelo 5810R marca Eppendorf. O sobrenadante de cada amostra foi recolhido em outro tubo, sendo adicionados 10  $\mu\text{L}$  de proteinase K (10 mg/mL). As amostras foram colocadas em banho-maria a 37° C por 30 minutos. Após este período, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de isopropanol gelado em cada amostra, as quais foram deixadas em repouso por dois minutos. As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 13.200 rpm. O sobrenadante foi descartado e o pellet secado por 15 minutos a temperatura ambiente. Após a secagem, os pellets foram ressuspensos em 300  $\mu\text{L}$  de TE (Tris HCl 1M e EDTA 0,5 M) contendo 40  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  de RNase.



**FIGURA 4.** Sementes de algodoeiro sendo cortadas para o processo de extração de DNA e adição de solução para o preparo das amostras no Laboratório de Biotecnologia da COODETEC. Cascavel – PR. 2008.

As amostras foram colocadas em banho-maria a 37° C por 30 minutos. Foram adicionados 500µL de isopropanol gelado em cada amostra e estas deixadas em repouso por dois minutos.

A quantificação da concentração de DNA obtido de cada amostra foi realizada em gel de agarose 0,8%. O DNA concentrado foi diluído com TE para uma concentração final de 6 ng/µL.

#### 4.2.3 Reação de PCR e eletroforese

As reações de PCR foram preparadas para um volume final de 20 µL, sendo constituída por 2 mM de MgCl<sub>2</sub>; 20 mM de Tris-HCl pH 8,0; 50 mM de KCl; 0,25 mM de dNTP; 0,2 µM dos primers “Foward” (F) e “Reverse” (R); 2,5 unidades de Taq DNA polimerase e 30 ng de DNA. Foram utilizados os primers BNL3644, BNL3661, BNL3545, CIR069, CIR316, CIR320 e CIR196 (Tabela 25).

**TABELA 25.** Sequências dos primers de microssatélite utilizados na avaliação de 80 genótipos de algodoeiro caracterizados quanto a resistência ao nematóide das galhas. Cascavel - PR, 2008.

PRIMER	SEQUÊNCIAS
BNL 3644 F	GTGCTGTTTGGGCCTTACAT
BNL 3644 R	TAAGCGCATTGACACACACA
BNL 3661 F	AGGACAGCGATGTGTTGTTG
BNL 3661 R	ATGGAATGAATAAAATAAGAACAACG
BNL 3545 F	AGTCAGTTTTTTGTTAGCAATATGC
BNL 3545 R	AACCATTAATTCCCTATTTAACCG
CIR 069 F	GTCAGTCTATACTTTCCAT
CIR 069 R	AGTATTGGGCTTTGATTTGA
CIR 316 F	CCGTCCTTACAGGCACTACCACC
CDI 316 R	TTCTGGCGACTTCACCACATT
CIR 320 F	CCTCCATAAACCTCTT
CIR 320 R	TCACATACGAAGACAACC
CIR 196 F	CGATTGGTGAAGGGAGGAAAG
CIR 196 R	GACAGAGGGAATGCTCAA

As condições de amplificação foram: 94° C por três minutos; 35 ciclos de 94° C por 30 segundos, 55° C por 30 segundos, 72° C por 45 segundos, e uma extensão final de 72° C por 20 minutos. As amplificações foram realizadas em termociclador MJ96, Marca Biocycler (Figura 5). Após a amplificação os fragmentos foram separados em géis desnaturantes de poliacrilamida 6%, os quais foram fixados em solução aquosa de ácido acético 10%, corados em solução aquosa de nitrato de prata 1% e formaldeído 1,5% e revelados em solução aquosa de carbonato de sódio 3%, (Promega, 2002).



**FIGURA 5.** Termociclador utilizado para realização da reação de PCR para os 80 genótipos de algodoeiro. Laboratório de Biotecnologia da COODETEC. Cascavel – PR. 2008.

#### **4.2.4 Análise dos dados**

A análise dos dados consistiu na observação dos alelos obtidos com cada primer e seus respectivos tamanhos para cada genótipo avaliado. Esta informação foi comparada com os dados de resistência ao nematóide de galha raça 3 com o intuito de estabelecer uma relação entre a presença de alelos e o fenótipo de resistência.

### **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Dos sete primers testados, quatro apresentaram polimorfismo entre os genótipos analisados, sendo eles BNL 3644, CIR 316, CIR 196 e BNL 3661. Os primers CIR 069, CIR 320 e BNL 3545 não apresentaram diferença, ou seja, não apresentaram polimorfismo e não podem ser usados para eventual identificação de genes de resistência.

No Quadro 1 estão apresentados os perfis alélicos obtidos com os sete primers utilizados.

**QUADRO 1.** Perfis alélicos dos 80 genótipos de algodoeiro avaliados, obtidos com sete primers microssatélites ligados à genes de resistência ao nematóide de galhas em algodoeiro.

Nome	Fenotipagem				c14		c11			c11		C14			CIR069	CIR320	BNL3545
	Literatura	Faz. Mourão	Pires, 2007		BNL 3644		CIR 316			CIR 196		BNL 3661					
			FR	Galhas	190pb	200pb	190pb	195pb	200pb	290pb	300pb	180pb	200pb	205pb			
AS 190	R				*			*			*	*	*		*	*	*
AUBURN 56-1					*			*			*		*		*	*	*
AUBURN 56-24					*			*			*		*		*	*	*
AUBURN 56					*			*			*		*		*	*	*
AUBURN566RNR						*		*			*		*		*	*	*
AUBURN612RNR	R				*	*			*		*		*		*	*	*
AUBURN BR-2					*	*			*		*		*		*	*	*
BRS Araça	MS				*			*			*		*		*	*	*
BRS Peroba	MS				*			*			*		*		*	*	*
CD02-1637	S		MS	MS		*		*			*		*		*	*	*
CD02-621	S		MR	MR		*		*			*		*		*	*	*
CD03-5198	S		S	S	*			*			*		*		*	*	*
CD04-2990		MR			*			*			*		*		*	*	*
CD04-3040		MR	S	MR	*			*			*		*		*	*	*
CD04-3278		MR	S	MR	*			*			*		*		*	*	*
CD04-3361			S	MR		*		*			*		*		*	*	*

Continua...

**QUADRO 1.** Continuação...

Nome	Fenotipagem				c14		c11			c11		C14			CIR069	CIR320	BNL3545
	Literatura	Faz. Mourão	Pires, 2007		BNL 3644		CIR 316			CIR 196		BNL 3661					
			FR	Galhas	190pb	200pb	190pb	195pb	200pb	290pb	300pb	180pb	200pb	205pb			
CD04-3816		MR	MR	MR	*				*		*			*	*	*	*
CD04-4721		MR	S	MR		*			*		*			*	*	*	*
CD04-4939			S	MR	*				*		*			*	*	*	*
CD04-5081		MR	MR	MR	*				*		*			*	*	*	*
CD04-5281		MR	MR	MR	*				*		*			*	*	*	*
CD05-1039			MS	MS		*			*		*				*	*	*
CD05-1087			R	R		*			*		*		*		*	*	*
CD05-1170			R	R		*		*			*			*	*	*	*
CD05-1222			R	MR	*				*		*			*	*	*	*
CD05-1323			R	MR	*	*		*			*		*		*	*	*
CD05-206			MS	S	*	*		*			*			*	*	*	*
CD05-243			S	R		*			*		*			*	*	*	*
CD05-419			R	R	*				*		*			*	*	*	*
CD05-485			R	MR	*	*			*		*			*	*	*	*
CD05-700			MS	MR		*		*			*			*	*	*	*
CD05-862			MS	S		*			*		*			*	*	*	*
CD05-945			R	R		*			*		*			*	*	*	*

Continua...

**QUADRO 1.** Continuação...

Nome	Fenotipagem				c14		c11			c11		C14			CIR069	CIR320	BNL3545
	Literatura	Faz. Mourão	Pires, 2007		BNL 3644		CIR 316			CIR 196		BNL 3661					
			FR	Galhas	190pb	200pb	190pb	195pb	200pb	290pb	300pb	180pb	200pb	205pb			
CD401	S					*		*			*			*	*	*	*
CD405	R					*			*		*			*	*	*	*
CD406	MR		MS	S		*		*			*			*	*	*	*
CD408	S		S	MS		*		*			*			*	*	*	*
CD409	R		S	MR	*			*			*			*	*	*	*
CD410	S		S	MS		*		*			*			*	*	*	*
CNPA BA 2033						*		*			*			*	*	*	*
CNPAGO02-9278						*		*			*	*		*	*	*	*
CNPA GO 2043						*		*			*	*		*	*	*	*
DeltaOpal	MR					*		*		*				*	*	*	*
ELS 28					*		*			*		*	*		*	*	*
ELS 34					*		*			*		*	*		*	*	*
ELS 59					*		*			*		*	*		*	*	*
ELS 9					*					*		*	*		*	*	*
Epamig 99-364					*			*			*			*	*	*	*
FM966	S		S	S		*		*			*			*	*	*	*
FM993	MR					*		*			*			*	*	*	*

Continua...

**QUADRO 1.** Continuação...

	Fenotipagem				c14		c11			c11		c14					
		Faz. Mourão	Pires, 2007		BNL 3644		CIR 316			CIR 196		BNL 3661			CIR069	CIR320	BNL3545
Nome	Literatura		FR	Galhas	190pb	200pb	190pb	195pb	200pb	290pb	300pb	180pb	200pb	205pb	260pb	240pb	90pb
FMT501						*		*			*			*	*	*	*
FMT701	MR		MR	MS		*		*	*					*	*	*	*
FMT702					*	*		*	*					*	*	*	*
Hazera1952						*		*			*	*	*		*	*	*
IAC 03-2281/IAC25	R					*			*		*			*	*	*	*
IAC 17	MR				*	*		*			*			*	*	*	*
IAC RM 4	MR				*	*			*		*			*	*	*	*
IAC RM2 -21-60					*			*			*			*	*	*	*
IAC RM3	MR					*			*		*		*		*	*	*
IAC RM4 SM5	MR					*			*		*			*	*	*	*
IAC22	R				*				*		*			*	*	*	*
IAC24	R		R	MR													
IAPAR 01-36	MR				*			*			*			*	*	*	*
IAPAR 02-307	MR					*		*			*			*	*	*	*
IPR120	R					*			*		*			*	*	*	*
LD CV2					*			*			*			*	*	*	*
LD Frego						*		*			*			*	*	*	*

Continua...

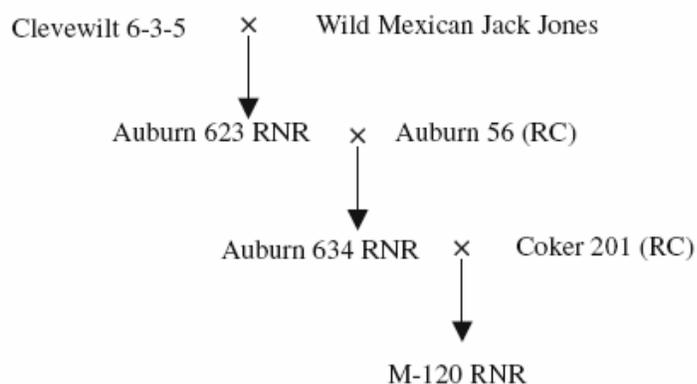
**QUADRO 1.** Continuação...

Nome	Fenotipagem				c14		c11			c11		c14			CIR069	CIR320	BNL3545
	Literatura	Faz. Mourão	Pires, 2007		BNL 3644		CIR 316			CIR 196		BNL 3661					
			FR	Galhas	190pb	200pb	190pb	195pb	200pb	290pb	300pb	180pb	200pb	205pb			
LS 17					*		*			*				*	*	*	*
LS 57					*		*			*			*		*	*	*
M 120 RNR**	R					*		*			*			*	*	*	*
M 125 RNR**	R					*			*		*		*		*	*	*
M 240 RNR**	R				*				*		*			*	*	*	*
M 272 RNR	R				*			*			*			*	*	*	*
M 331 RNR	R					*			*		*		*		*	*	*
M 92 RNR**	R				*			*			*			*	*	*	*
M 155 RNR	R					*			*		*		*		*	*	*
M 249 RNR	R				*				*		*			*	*	*	*
M 315 RNR	R					*			*		*		*		*	*	*
Ston 8M					*			*			*			*	*	*	*
Sucupira	MR					*		*			*			*	*	*	*

Os sete primers utilizados estão localizados em três diferentes cromossomos do algodoeiro, sendo que o esquema abaixo indica em que cromossomo está localizado cada primer.

CIR 316, CIR069 e CIR 196 estão ligados - Cr 11  
 BNL3644, BNL3661 e BNL3545 estão ligados - Cr 14  
 CIR 320 - Cr 7

Os primers CIR 316, CIR 069 e CIR 196 estão ligados ao gene de resistência *RKN1* proveniente de Auburn 623 e Auburn 634. Os autores acreditam que provavelmente ambos receberam o gene de Clevevilt 6 (Figura 6) e que Acala Nem X também tem o mesmo gene.



**FIGURA 6.** Diagrama de pedigree do germoplasma de resistência ao nematóide, M-120 RNR. (ROBINSON et al. 2001).

No entanto, no estudo de Robinson et al. (2001) não foi avaliada a variedade Auburn 56, tanto para resistência aos nematóides de galhas quanto para a presença do marcador CIR 316. No Brasil, várias variedades e linhagens de algodão com resistência a nematóides de galhas derivam diretamente da Auburn 56 (CIA, 2008 comunicação pessoal), como IAC-RM3, IAC-RM4, IAC-RM4-SM5, IAC-RM5, IAC 17, IAC 20, IAC 23 e IAC 24, ou através de cruzamentos com ela, como IAC 22 e IAC 25. Calhoun et al. (1994) acreditam que a Auburn 56 deriva do fundo

genético deCook 307-6, obtida do cruzamento das variedades Coker 100 e Coker 100 Wilt, e, provavelmente, Coker 100 Wilt seja derivada de Coker 100 e da Clevevilt.

Se o gene *rkn1* provêm do fundo genético da Clevevilt 6-3-5, é possível que a Auburn 56 tenha herdado também este gene ou outro alelo deste fundo genético antigo Clevevilt.

Geralmente, os trabalhos realizados com marcadores moleculares, para verificar a herança de resistência em genótipos de algodoeiro, não são conduzidos de forma padronizada no que diz respeito às avaliações de fenotipagem. Alguns autores utilizam número de ovos para inoculação em condições controladas maiores ou menores que 5000; outros possuem escalas de avaliação diferenciadas, com base o número de galhas ou o fator de reprodução; tempo de permanência dos materiais em vaso e ou tubete. Portanto, a interpretação dos dados torna-se difícil, pois os parâmetros de comparação são diferentes. Os mecanismos biológicos envolvidos na formação de galhas são provavelmente diferentes do fator de reprodução, com determinismos genéticos diferentes.

Neste estudo, das 80 amostras que foram avaliadas com marcadores, 63 tem informação sobre a resistência aos nematóides. Destas, apenas 7 são suscetíveis. Todas elas apresentam o alelo de 200pb no BNL 3644, o alelo de 195pb no CIR 316, o alelo de 300pb no CIR 196 e o alelo de 205pb no BNL 3661.

Entre as linhagens/variedades resistentes, observa-se o seguinte, para cada primer avaliado:

#### Primer BNL 3644

Dentre os materiais testados, 20 possuem alelo de 190pb e 19 tem alelo de 200pb. Mesmo entre as amostras que possuem Auburn 634 ou Auburn 56 na genealogia e são tolerantes (resistentes), 11 tem alelo de 190pb e 15 tem alelo de 200pb. Pode-se concluir que este primer não discrimina os materiais.

Os resultados são diferentes do esperado. Por exemplo, a variedade Auburn 56 possui o alelo de 190pb neste loco, e a variedade IAC RM3 que é

descendente de Auburn e também é resistente ao nematóide de galhas, possui um alelo diferente (200pb). Caso o marcador fosse eficiente na seleção do gene de resistência, ambos deveriam ter o mesmo alelo, a não ser que herança não seja devida a um gene somente, e sim mais de um.

#### Primer CIR 316

Este primer, muito citado na literatura por estar proximamente ligado ao gene *rkn1*, é aquele que discrimina melhor os materiais, mas mesmo assim a eficiência de seleção é baixa. Quatorze amostras apresentam alelo de 195pb, 24 amostras têm o alelo de 200pb. Das amostras que possuem Auburn 634 ou Auburn 56 na genealogia e são tolerantes (resistentes), 15 tem alelo de 195 ou 200pb.

O primer CIR 316, segundo Wang et al., 2006 é aquele que fica mais próximo do gene de resistência *rkn1* que foi encontrado em Acala NemX, apenas 2.6 cM de distância. O segundo mais próximo seria BNL 1231 a 18.4 cM, mas este primer não foi utilizado em nosso trabalho.

Deste modo, a presença de um ou outro dos alelos deste marcador não aparece ligado, no germoplasma avaliado, a qualquer fator de resistência ao nematóide de galha.

#### Primer CIR 196

Apenas uma amostra tem alelo de 290pb e 37 amostras tem alelo de 300pb. Mas as sete amostras suscetíveis também têm o alelo de 300pb. Seria necessário avaliar mais plantas suscetíveis para uma melhor conclusão.

#### Primer BNL 3661

Quatro amostras resistentes apresentaram o alelo de 180 ou 200pb, e 34 tem o alelo de 205pb. Mas toda a amostra suscetível também tem o alelo de 205pb. É o mesmo caso de CIR196.

#### 4.4 CONCLUSÃO

Com base nestes resultados pode-se concluir que provavelmente a resistência ao nematóide de galha no germoplasma brasileiro não está ligada a apenas um gene de resistência. A maioria dos materiais que possuem em sua genealogia Aurburn 56, que conferem resistência à *Meloidogyne incognita* do algodoeiro, não foi discriminada através dos alelos dos primers utilizados.

Então não é possível ainda usar estes marcadores moleculares para fazer screening em rotina no germoplasma brasileiro, antes de realizar estudos mais aprofundados, primeiro de metodologias e depois de herança genética.

Esta falta de associação entre os marcadores e a resistência no germoplasma avaliado pode ser devido a padronização das metodologias de avaliação em casa de vegetação, uma vez que cada autor trabalha com a que mais lhe parece correta. Certas características avaliadas, como o número de galhas, podem estar ligadas a mecanismos biológicos diferentes daqueles envolvidos no fator de reprodução.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

No Capítulo I, observou-se que as avaliações de genótipos a campo, em solos naturalmente infestados de nematóides, podem discriminar significativamente os materiais. O uso do critério de Nota Relativa, estabelecido em relação à avaliação de linhas de materiais sensíveis intercaladas entre cada parcela do ensaio permite melhorar significativamente os resultados. Porém, as caracterizações a campo dos genótipos são de “tolerância”, quer dizer da capacidade da variedade de ser pouco atacada e não apresentar formação de galhas e sintomas morfológicos na parte aérea. As linhagens mais “tolerantes” identificadas foram CD 03-5246, CD 04-3181; CD 03-1874; CD 00-5234; CD 04-5268; CD 03-5144; CD 05-8082 e CD 04-4134. Estes ensaios são necessários porque permitem testar uma grande quantidade de genótipos, e ainda, verificar as possíveis interações com outros microrganismos que não estão presentes nos ensaios controlados, mas as condições de uniformidade de inóculo devem ser observadas.

Em casa de vegetação, o sistema com tubete mostrou-se interessante para discriminar grande número de genótipos, apesar de requerer condições de casa de vegetação muito estáveis para que os resultados sejam reprodutíveis. Os testes em tubetes permitem maximizar o espaço físico, diminuir custos com esterilização de solo e concentrar os nematóides nas raízes, o que facilita as avaliações. A determinação do fator de Reprodução é o único critério que permite determinar a “resistência” dos materiais, ou seja, a capacidade do material de não multiplicar os nematóides. O critério de formação de galhas nas

raízes permite ter a informação sobre a “tolerância” do material, informação gerada em ensaios de campo. Linhas com alta “resistência” foram identificadas como CD 02-684, CD 02-818 e CD 00-942. A informação sobre a “tolerância” gerada a campo e em casa de vegetação não é a mesma, sendo que a campo, trata-se de populações de nematóides complexas, com diversas espécies e raças, em interação com outros organismos.

No Capítulo II, sobre a caracterização molecular, observou-se que provavelmente a resistência ao nematóide de galha no germoplasma brasileiro não está ligada a apenas um gene de resistência. A maioria dos materiais que possuem em sua genealogia Aurburn 56, que conferem resistência deste nematóide ao algodoeiro, não foi discriminada através dos alelos dos primers utilizados;

Então não é possível ainda usar estes marcadores moleculares para fazer screening em rotina no germoplasma brasileiro, antes de realizar estudos mais aprofundados, primeiro de metodologias e depois de herança genética.

Esta falta de associação entre os marcadores e a resistência no germoplasma avaliado pode ser devido a padronização das metodologias de avaliação em casa de vegetação, uma vez que cada autor trabalha com a que mais lhe parece correta. Certas características avaliadas, como o número de galhas, podem estar ligadas a mecanismos biológicos diferentes daqueles envolvidos no fator de reprodução.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, M.M.; MAZZAFERA, P. **Alterações fisiológicas no algodoeiro causado por *Meloidogyne incognita* raça 3: influência do nitrogênio.** Nematologia Brasileira, v. 22, n. 2, p. 66 –79, 1998.

ALGODÃO Brasileiro. Local, 2008. Disponível em: [http://www.algodao.agr.br/cms/index.php?option=com\\_content&task=view&id=744](http://www.algodao.agr.br/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=744)>. Acesso em: 05 fevereiro 2008.

ALMEIDA W.P.; J.R. PIRES; R.S. YAMAOKA; et al. 1986. **Comportamento de variedades e genótipos de algodoeiro na presença de nematóides no Estado do Paraná.** IN: Reunião Nacional do Algodoeiro, Belém, PA, EMBRAPA/Algodão, 4:21. Resumo.

BEZAWADA, C., SAHA, S. , JEANKINS, J.N. et al. 2003. [Online] SSR Marker(s) associated with root-knot nematode resistance gene(s) in cotton. J. **Cotton Sci.** 7:179-184.

BRIDGE J. Nematodes. In: HILLOCKS, R.J.(Ed). **Cotton diseases.** Eerley Gate: Univesity of Reading, CAB International 1992 p. 331-354.

CALDWELL, W. D., HAYES, J. A. end COLYER, P. D. Evaluation of regional cotton breeders strains grown in root-knot infested soils. **Beltwide Cotton Conference.** San Antonio, Texas. p. 1120-1121, January, 2004.

CALHOUN, D. S., BOWMAN, D. T. end MAY, O. L. **Pedigrees of Upland and Pima Cotton cultivars released between 1970 and 1990.** Mississipi Agrucultural and Forestry Experimentation. Bulletin 1017, Agust 1994. 42pp.

CARNEIRO, R. G.; H. ANTONIO; J.A. BRITO et al. 1990. **Identificação de espécies e raças fisiológicas de *Meloidogyne* na região noroeste do estado do Paraná: resultados preliminares.** Congresso Brasileiro de Nematologia, 14:4. Resumo.

CIA, E.; M.G FUZATTO; J.I KONDO; et al. 2003. **Desenvolvimento de resistência múltipla a doenças em genótipos avançadas de algodoeiro.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, 28(4):420-423.

COLUMELLO, E.; ASMUS, G. L. **Ocorrência de nematóides fitoparasitos em lavouras de algodoeiro no Estado de Mato Grosso do Sul, ano agrícola de 2001/2002.** www.cpa0.embrapa.com.br acesso em 14/06/03

CONAB. Local, 2007. Disponível em:

[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo\\_safra.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf) Acesso em: 12 dezembro 2007.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística.** Viçosa: UFV, 2001. 648 p.

EISENBACK, J. D. 1983. Loss of resistance in tobacco cultivar 'NC 95' by infection of *Meloidogyne arenaria* or *M. hapla*. **Journal of Nematology**. v. 14, p. 339 – 343, 1983.

FERRAZ, C.A.M. & L.G.E. LORDELLO. 1961. **Interferência de nematóides em culturas de algodoeiro.** Revista de Agricultura, 36(3):131-138.

FREIRE, E. C. **Algodão no Cerrado do Brasil.** Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, 2007. 919 p.

FRYXELL, P. A. Stages in the evolution of *Gossypium*. **Advanced Frontiers Plant Science**, v. 10, p.31-56, 1965.

FUZATTO, M.G.; E. CIA & I.L. GRIDI-PAPP. 1982. **Um método para avaliar a incidência de nematóides no algodoeiro em condições de campo.** Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 15, 1982, São Paulo. Fitopatologia Brasileira, Brasília,7:569. Resumos.

GALBIERI, R. **Comportamento de genótipos de algodoeiro na presença de patógenos e nematóides.** 2007. 80f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção) – Instituto Agrônomo do IAC, Campinas – SP, 2007.

GOULART, A.M.C. **Reprodução e danos causados por (Nemata: *Pratylenchidae*) em cultivares de algodoeiro.** Piracicaba, 1997. 56p. Tese (Mestrado). ESALQ/USP.

GRIDI-PAPP, I.L.; E. CIA; M.G. FUZATTO; et al. 1994. **Melhoramento do algodoeiro para resistência múltipla a doenças, nematóides e broca da raiz, em condições de campo.** Bragantia, Campinas, 53(1):33-45.

HAYES, J. A., CITY, B., CALDWELL, W. D. et al. Evolution of regional cotton breeders strains grown in root-knot infested soils. **Beltwide Cotton Conferences.** New Orleans, Louisiana. p. 942-943, January, 2005.

INOMOTO, M.M.; GOULART, A. M.C.; MACHADO, A.C.Z.; et al. **Effect of population densities of *Pratylenchus brachyurus* on growth of cotton plants.** Fitopatologia Brasileira. v.26, n.2, p. 192-196, 2001.

KIRKPATRICK, T. L.; SASSER, J.N. **Parasitic variability of *Meloidogyne incognita* populations on susceptible and resistance cotton.** Journal of Nematology, v.15, n.2 p. 302 – 307, 1983.

LEE, J. A. Cotton as a world crop. In: RHOEL, R. J.; LEWIS, C. F. (eds). Cotton. **American Society of Agronomy**, p.1-16, 1984.

LORDELLO, L.G.E. **Perdas causadas por nematóides.** Revista Agricultura. Piracicaba. v 51, n. (3-4), 1976 p. 222.

LORDELLO, R.R.A.; A.I.L. LORDELLO; E. CIA, et al. 1982. **Relação entre o algodoeiro e *Meloidogyne incognita* raça 3.** Reunião Nacional de Algodoeiro, 2, 1982, Salvador. EMBRAPA/Algodoeiro, Campina Grande, p.24. Resumo.

LORDELLO, R.R.A; A.I.L. LORDELLO; E. CIA & M. G. FUZATTO. 1984. **Avaliação da resistência de algodoeiro a nematóides de galhas.** Congresso Paulista de Fitopatologia, Botucatu. Summa Phytopathologica, Botucatu, 10(1,2):19, (Resumo).

LORDELLO, R.R.A.; A.I.L LORDELLO; E. CIA, et al. 1986. **Reprodução de *Meloidogyne incognita* em variedades de algodoeiro.** Nematologia Brasileira, 10:19-20. Resumo.

LORDELLO, A.I.L.; R.R.A. LORDELLO; E. CIA, et al. 1993. **Resistência a *Meloidogyne incognita* em genótipos de algodoeiro.** Nematologia Brasileira, 17(1):10-11. Resumo.

LUDERS, R. R., e CIA, E. **Controle de doenças por meio de cultivares resistentes.** In: VI Congresso Brasileiro de Algodão. 2007.

MacDONALD, M. B.; ELLIOT, L. J.; SWEENEY, P. M. DNA extraction from dry seeds for RAPD analyses in varietal identification studies. **Seeds Science & Technology**, v.22, p. 171-176, 1994.

MECPHERSON, G.R. 1993. **Inheritance of root-knot nematode resistance in cotton as determined by combining ability, generation mean, and Mendelian analysis.** Ph.D. diss. Mississippi State Univ., Starkville, MS (DAI-B54/08).

MECPHERSON, G.R., J.N. Jenkins, C.E Watson, and J.C. MacCarty, Jr. 2004. **Inheritance of root-knot nematode resistance in M315 RNR and M78-RNR cotton.** J. Cotton Sci. 8:154-161.

MONTEIRO, A.R.; FERRAZ, L.C.C.B. **Reação de quinze variedades de arroz a *Rotylenchulus reniformis***. Nematologia Brasileira, v. 11, p. 48 – 54, 1987.

NIU, C.; HINCHLIFFE, D.; CANTRELL, R. G.; et al. **Identification of molecular markers associated with Root-Knot nematode Resistance in upland cotton**. Published in Crop Sci. 47:951-960 (2007). Crop Science Society of América. Madison, USA.

OGALLO, J. L.; P.B. GOODELL; J.ECKERT & P.A. ROBERTS. 1997. Evaluation of Nem X, a new upland cotton cultivar with high resistance to *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, 29:531-537.

PHILLIPS, L. L. The cytogenetics of gossypium and the origin of new world cottons. **Evolution**, v. 17, P.460-469, 1963.

PIRES, E. **Levantamento de *Meloidogyne incognita* em lavouras de algodão no noroeste do Paraná e seleção de genótipos de algodoeiro com resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3**. UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon – PR. Agosto, 2007.

PONTE, J.J.; FILHO, J.S.; LORDELLO, R.R.A.; et al. Sinopse da literatura brasileira sobre *Meloidogyne* em algodoeiro. **Summa Phytothologica** v. 24, n. 2, p. 101-104, 1998.

RITZINGER, C. H. S. P. e FANCELLI, M. Manejo Integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 28, n. 2. p. 331-338, Agosto 2006.

ROBINSON, A. F., BOWMAN, D. T., COOK, C. G. et al. (2001) Nematode Resistance in: Kirkpatrick, T. L. Rothrock C.S. (ed.) **Compendium of cotton diseases**. The American Phytopathological Society, St. Paul, pp 68-72.

RUANO, O.; CHAVES, G.M.; FERRAZ, S. ZAMBOLIM, L. **Reação de algodoeiros a *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e a associação desses organismos**. In: Reunião Nacional de Algodoeiro, 3., Recife. Resumos. Campina Grande: EMBRAPA – CNPA, p. 66, 1984.

RUANO, O.; CHAVES, G.M.; FERRAZ, S. ZAMBOLIM, L. **Distribuição de raças de *Meloidogyne incognita* em áreas algodoeiras nos estados do Paraná e Goiás**. Fitopatologia Brasileira. Brasília, v. 10, n. 3, p. 667 – 670, 1985.

RUANO, O. & W. P. ALMEIDA. 1986. **Fontes de resistência em germoplasma de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* - raça 3**. IN: Reunião Nacional do Algodoeiro, 4, 1986, Belém, PA. EMBRAPA/Algodoeiro, Campina Grande, p.22. Resumo.

- RUANO, O.; R.G. CARNEIRO; J.A. BRITO & J.F.V. SILVA.1992. **Nematóides na cultura do algodoeiro**. Informe Agropecuário, 172:48-57.
- RUANO, O.; CARNEIRO, R.G.;BRITO, J.A.; SILVA, J.F.V.;JULIATTI, F.C. **Doenças causadas por nematóide**. In: **controle de doenças de plantas**. Viçosa – Minas Gerais, eds: Francisco Xavier Ribeiro do Vale & Laércio Zambolim, 1997. cap. 12.
- RUANO, O. & W.P. ALMEIDA. 1999. **Sistema para avaliação de resistência múltipla em genótipos de algodoeiro a nematóides e doenças foliares, em casa de vegetação**. Do Congresso Brasileiro de Algodoeiro,2 . Anais, Ribeirão Preto. EMBRAPA/Algodoeiro, Campina Grande, p. 488-491.
- SAUNDERS, J. H. **The wild species of *Gossypium* and their evolutionary history**. 1961.
- SEGUY, L. BOUZINAC, S.; BELOT, J. L. et al. Sistema de Produção sustentável de algodão para os cerrados úmidos do Brasil Central: In: ZAMBOLIN, L. SILVA, A. A.; AGNES, E. L. **Integração agricultura-pecuária**. Viçosa, p. 385-397, 2004.
- SHEN, X.; BECELAERE, G. V.; KUMAR, P. et al. **QTL mapping for resistance to root-knot nematodes in the M-120 RNR Upland cotton line (*Gossypium hirsutum* L.) of the Auburn 623 RNR source**. Springer Berlin. Volume 113. Number 8, 1539-1549. November, 2006.
- SHEPHERD, R.L. 1979. **A quantitative technique for evaluating cotton for root-knot nematode resistance**. Phytopathology, 69:427-430.
- SILVA, R.A.; SERRANO, M.A.S.; GOMES, A.S.; et al. **Nematóides associados ao algodoeiro no estado do Mato Grosso (Resumo)**. In: Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia, v. 24 Petrolina, PE, p. 150. Sociedade Brasileira de Nematologia, 2003.
- STARR, J.L. & C.W. SMITH. 1993. Root-knot nematodes and fusarium wilt: resistance to both pathogens . In D.J. Herber and D. A. Richter (ed.). Proc. **Beltwide Cotton Production Research** Con., New Orleans, LA. 10-14 Jan. 1993. Natl. Cotton Council Am., Memphis, TN., p. 178-180.
- STARR, J.L. PAGE, L.J. **Nematode parasites of cotton and other tropical fibre crops**. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, 1993. cap. 17, p. 539-556.

STARR, J.L.; J. BRIDGE e R. COOK. 2002. **Resistance to plant parasitic nematodes: history, current use and future potential.** In: Starr, J.L., R. Cook & J. Bridge (ed.). *Plant Parasitic Nematodes*. CABI, Egham, UK, p. 1-22.

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology identification and control of root-knot nematodes** (*Meloidogyne* species). Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978. 111p.

TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N.; NELSON, L.A. 1982. **Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of *Meloidogyne* species in agricultural soils.** Cooperative Pub.Univ. North Carolina & USAID, Raleigh, North Carolina, USA, 65p.

WANG, C. e ROBERTS, P. A. 2006. **Development of AFLP and derived CAPS markers for root-knot nematode resistance in cotton.** Springer Netherlands. Volume 152, Number 2, 185-196.

WANG, C., M. ULLOA, e P.A. ROBERTS. 2006. **Identification and mapping of microsatellite markers linked to a root-knot nematode resistance gene (*rkn1*) in Acala NemX cotton (*Gossypium hirsutum* L.)** Theor. Appl. Genet. 112:770-777.

WYSE-PESTER, D.Y.; L.J. WILES e P. WESTRA. 2002. The potential for mapping nematode distribution for sitespecific management. **Journal of Nematology** 34:80-87.

YNTURI, P., JENKINS, J. C. MACCARTY, Jr. ET AL. 2006. **Association of root-knot nematode resistance genes whit simple sequence repeat markers on two chromosomes in cotton.** Crop Sci. 46:2670-2674.

ZAMBIASI, T. C., BELOT, J. L. **Manual de Identificação das doenças do algodoeiro.** Cascavel – PR. COODETEC, 2005.

ZHANG, J. F. HINCHLIFFE, D. J., POTENZA, Y. C. et al. 2004. **Root-knot nematode resistance in Auburn 634RNR: Segregation and molecular mapping.** p. 1122-1124. *In Proc. Beltwide Cotton Counc. Am., Memphis, TN.*

ZHOU, E; J.L. STARR e T.A. WHEELER. 1998. **Survey of *Meloidogyne incognita* populations from Texas for aggressiveness on resistant cotton genotypes.** In: Proceedings of the Beltwide Cotton Conference. Volume 1. Memphis, TN: National Cotton Council, p. 172.

**TABELA 26.** Média do número de galhas e fator de reprodução de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3, isolado de Moreira Sales, avaliado aos 70 e 120 dai.

Genótipos	Números de galhas*		Fator de reprodução*		Classificação	
	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)
FMT 701	224	171	0.43	0.48	R	R
CD 406	383	386	2.45	1.87	MS	MR
CD 408	637	500	2.45	1.63	MS	MR
CD 409	290	310	1.15	0.96	MR	R
CD 410	186	180	1.73	1.48	MR	MR
CD02-621	261	302	1.15	1.05	MR	MR
CD02-1637	187	182	1.49	1.34	MR	MR
CD03-5198	310	266	2.98	2.54	MS	MS
CD04-4939	260	376	1.58	1.15	MR	MR
CD04-3361	270	268	2.98	2.30	MS	MS
CD04-3040	145	95	0.91	0.67	R	R
CD04-3278	357	325	2.78	1.20	MS	MR
CD04-3816	428	213	1.15	1.0	MR	R
CD04-4721	346	303	0.77	0.81	R	R
CD045081	301	104	0.96	0.24	R	R
CD04-5281	467	397	2.11	1.15	MS	MR
CD04-2990	427	395	1.20	2.10	MR	MS
CD05-206	372	368	3.07	2.0	S	MS
CD05-243	503	836	6.22	3.81	S	S
CD05-419	204	282	0.38	0.33	R	R
CD05-485	220	138	1.44	0.96	MR	R
CD05-700	549	426	2.40	2.25	MS	MS
CD05-865	345	681	3.31	1.05	S	MR
CD05-945	71	238	0.24	0.19	A	R
CD05-1039	318	314	3.26	1.29	S	MR
CD05-1087	62	33	0.10	0.14	A	R
CD05-1170	83	58	0.19	0.0	R	R
CD05-1222	262	226	0.10	0.28	R	R
CD05-1323	268	367	0.5	0.19	R	R
Test (S)	310	834	1.68	9.60	MR	S
Tes (R)	329	206	0.91	0.43	R	R
Média	302.4	302.8	1.68	1.41	-	-

Dados não transformados;

**TABELA 27.** Média do número de galhas e fator de reprodução de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3, isolado de Iporã, avaliado aos 70 e 120 dai.

Genótipos	Números de galhas*		Fator de reprodução*		Classificação	
	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)
FMT 701	459	449	0.33	0.04	R	R
CD 406	465	650	1.48	1.63	MR	MR
CD 408	425	771	0.91	1.39	R	MR
CD 409	222	235	1.10	1.24	MR	MR
CD 410	583	436	0.76	1.44	R	MR
CD02-621	243	621	1.15	0.96	MR	R
CD02-1637	250	205	1.39	1.20	MR	MR
CD03-5198	191	248	6.48	4.60	S	S
CD04-4939	106	553	1.0	1.92	R	MR
CD04-3361	205	334	3.93	1.05	S	MR
CD04-3040	285	325	0.86	0.91	R	R
CD04-3278	222	225	0.33	0.90	R	R
CD04-3816	161	265	0.48	0.09	R	R
CD04-4721	169	304	0.43	0.86	R	R
CD045081	145	508	1.10	1.30	MR	MR
CD04-5281	344	284	0.86	0.67	R	R
CD04-2990	420	427	1.15	1.70	MR	MR
CD05-206	252	248	1.70	1.20	MR	MR
CD05-243	399	375	2.0	1.89	MS	MR
CD05-419	112	324	0.91	0.19	R	R
CD05-485	136	264	0.48	0.24	R	R
CD05-700	241	576	0.67	0.76	R	R
CD05-862	214	269	0.19	0.67	R	R
CD05-945	79	397	0.52	0.67	R	R
CD05-1039	392	327	1.39	1.68	MR	MR
CD05-1087	123	81	0.04	0.04	R	R
CD05-1170	272	78	0.67	0.04	R	R
CD05-1222	232	170	0.09	0.24	R	R
CD05-1323	441	248	0.33	0.28	R	R
Test (S)	451	556	3.21	1.82	S	MR
Tes (R)	236	125	0.67	0.09	R	R
Médias	273.4	350.9	1.18	1.02	-	-

\*Dados não transformados

**TABELA 28.** Média do Número de Galhas e Fator de Reprodução de genótipos de algodoeiro a *M. incognita* raça 3, isolado de Umuarama, avaliado aos 70 e 120 dai.

Genótipos	Galhas*		FR*		Classificação	
	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)	70 (dai)	120 (dai)
FMT 701	356	333	2.35	1.82	MS	MR
CD 406	292	187	3.07	2.30	S	MS
CD 408	497	478	5.66	6.38	S	S
CD 409	471	407	3.79	3.50	S	S
CD 410	536	517	3.79	4.70	S	S
CD02-621	330	326	1.20	1.34	MR	MR
CD02-1637	388	318	1.48	2.06	MR	MS
CD03-5198	425	362	4.46	3.64	S	S
CD04-4939	289	277	6.0	7.72	S	S
CD04-3361	388	400	1.92	3.50	MR	S
CD04-3040	289	205	3.40	4.75	S	S
CD04-3278	291	228	2.92	4.65	MS	S
CD04-3816	356	388	1.58	1.87	MR	MR
CD04-4721	345	273	3.12	5.52	S	S
CD045081	199	171	0.95	0.54	R	R
CD04-5281	217	199	1.58	1.77	MR	MR
CD04-2990	457	482	2.00	2.2	MS	MS
CD05-206	492	500	2.73	2.30	MS	MS
CD05-243	471	386	4.17	5.28	S	S
CD05-419	137	100	0.33	0.76	R	R
CD05-485	180	132	0.38	0.43	R	R
CD05-700	200	281	0.48	0.76	R	R
CD05-865	286	235	1.63	2.25	MR	MS
CD05-945	183	119	1.15	1.63	MR	MR
CD05-1039	299	334	3.55	2.16	S	MS
CD05-1087	223	213	0.67	0.72	R	R
CD05-1170	270	114	0.72	0.67	R	R
CD05-1222	156	120	0.86	0.28	R	R
CD05-1323	149	343	0.19	0.76	R	R
Test (S)	415	475	2.44	5.14	MS	S
Tes (R)	541	156	2.30	1.2	MS	MR
Médias	326.7	292.2	2.28	2.66	-	-

\*Dados não transformados;

**TABELA 29.** Avaliação de genótipos de algodoeiro com relação à média do número de galhas por planta aos 120 dai

Genótipos	M. Sales	Genótipos	Iporã	Genótipos	Umuarama
CD05-1087 (R)*	1.46 a **	CD05-1170 (R)	1.85 a	CD05- 945 (MR)	1.96 a
CD05-1170 (R)	1.69 b	CD051087 (R)	1.88 a	CD05-419 (R)	1.99 a
CD04-3040 (R)	1.92 c	TES (R) (R)	2.07 b	CD05-1222 (R)	2.01 a
CD045081 (R)	2.01 c	CD05-1222 (R)	2.18 c	CD05-1170 (R)	2.03 a
CD05-485 (R)	2.10 c	CD02-1637 (MR)	2.27 c	CD05-485 (R)	2.07 a
FMT 701 (R)	2.18 d	CD04-3278 (R)	2.30 c	TES (R) (MR)	2.12 a
CD 410 (MR)	2.22 d	CD05-1323 (R)	2.33 c	CD04-5081 (R)	2.19 b
CD02-1637 (MR)	2.24 d	CD 409 (MR)	2.34 c	CD 406 (MS)	2.25 b
TEST (R) (R)	2.27 d	CD03-5198 (S)	2.37 c	CD04-5281 (MR)	2.27 b
CD04-3816 (R)	2.30 d	CD05-485 (R)	2.37 c	CD04-3040 (S)	2.28 b
CD05-1222 (R)	2.32 d	CD05-206 (MR)	2.38 c	CD05-1087 (R)	2.30 b
CD05-945 (R)	2.36 d	CD04-4939 (MR)	2.41 c	CD04-3278 (S)	2.32 b
CD03-5198 (MS)	2.41 e	CD05-865 (R)	2.41 c	CD04-4721 (S)	2.33 b
CD04-3361 (MS)	2.42 e	CD05-1039 (MR)	2.41 c	CD05-865 (MS)	2.33 b
CD05-419 (R)	2.44 e	CD04-3816 (R)	2.41 c	CD05-700 (R)	2.39 c
CD05-1039 (MR)	2.45 e	CD04-4721 (R)	2.42 c	CD04-4939 (S)	2.41 c
CD04-4721 (R)	2.45 e	CD04-5281 (R)	2.42 c	CD02-1637 (MS)	2.48 c
CD 409 (R)	2.46 e	CD05-945 (R)	2.43 c	CD02-621 (MR)	2.50 c
CD02-621 (MR)	2.47 e	CD05-419 (R)	2.44 c	CD05-1323 (R)	2.51 c
CD04-3278 (MR)	2.47 e	CD04-3040 (R)	2.46 c	CD 409 (S)	2.51 c
CD 406 (MR)	2.52 e	CD04-3361 (MR)	2.51 d	CD05-1039 (MS)	2.51 c
CD05-1323 (R)	2.52 e	CD05-243 (MR)	2.54 d	FMT 701 (MR)	2.51 c
CD04-4939 (MR)	2.53 e	CD 410 (MR)	2.63 d	CD03-5198 (S)	2.54 c
CD05-865 (MR)	2.53 e	CD04-5081 (MR)	2.65 d	CD05-243 (S)	2.55 c
CD05-206 (MS)	2.54 e	FMT 701 (R)	2.65 d	CD04-3816 (MR)	2.56 c
CD04-5281 (MR)	2.56 e	CD05-700 (R)	2.70 e	CD04-3361 (S)	2.56 c
CD05-700 (MS)	2.61 e	FM 966 (MR)	2.72 e	FM 9666 (S)	2.65 d
CD 408 (MR)	2.66 e	CD02-621 (R)	2.74 e	CD 408 (S)	2.67 d
CD05-243 (S)	2.79 f	CD 406 (MR)	2.78 e	CD05-206 (MS)	2.68 d
FM 966 (S)	2.91 f	CD 408 (MR)	2.82 e	CD 410 (S)	2.67 d

\* Classificação de resistência baseada no FR.

\*\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade; Dados convertidos para log X+1.



This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)