



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**CONTROLE QUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO  
MOFO-CINZENTO (*Amphobotrys ricini*) ASSOCIADO AOS  
CARACTERES AGRONÔMICOS DA MAMONEIRA**

**ANGELO GALLOTTI PRAZERES**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
DEZEMBRO - 2011**

Controle químico e caracterização molecular do mofo-cinzeno  
(*Amphobotrys ricini*) associado aos caracteres agronômicos da  
mamoneira

**ANGELO GALLOTTI PRAZERES**

Engenheiro Agrônomo  
Escola da Agronomia da Universidade Federal da Bahia, 1996

Tese submetida ao Colegiado de Curso do  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Agrárias da Universidade Federal do  
Recôncavo da Bahia, como requisito parcial  
para obtenção do Grau de Doutor em Ciências  
Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Alves Silva**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Fermino Soares**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2011

## FICHA CATALOGRÁFICA

P921

Prazeres, Angelo Gallotti.

Controle químico e caracterização molecular do mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) associado aos caracteres agronômicos da mamoneira / Angelo Gallotti Prazeres. – Cruz das Almas, BA, 2011. 115f.; il.

Orientadora: Simone Alves Silva.

Co-orientadores: Ricardo Franco Cunha Moreira.

Ana Cristina Fermino Soares.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Mamona – Melhoramento genético. 2.Mamona – Marcadores moleculares. 3.*Ricinus communis*.  
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

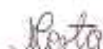
CDD: 633.8

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE  
ANGELO GALLOTTI PRAZERES



Prof. Dr. Simone Alves Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
(Orientadora)



Prof. Dr. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB



Dr. Aristoteles Pires de Matos  
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF



Dr. Vagner Maximino Leite  
Universidade Federal da Bahia - UFBA



Dr. Cláudia Fortes Ferreira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF

Tese homologada pelo colegiado do curso de Doutorado em Ciências Agrárias em .....

Conferindo o grau de Doutor em Ciências Agrárias em.....

À minha família:

- Minha mãe e alma-gêmea (Erminia Gallotti Prazeres): Além de ter me concebido a vida, está sempre presente e iluminando meu caminho;
- Meu pai e ídolo (Aloisio Cardoso Prazeres): Distinto, companheiro e fiel em todos os momentos de minha existência;
- Meus irmãos e super-heróis (Aloisio Cardoso Prazeres Filho e Aldo Gallotti Prazeres): Sempre oportunos, carinhosos e necessários à minha formação;

## Dedico

Quanto mais evoluímos, mais percebemos que o conhecimento é infinito e que o Universo está repleto de situações díspares, as quais, muitas vezes, achamos estranhas por fugirem ao padrão da normalidade, porém traduzem a **diversidade da vida**: caninos ectópicos e terceiros molares impactados *versus* uma perfeita oclusão; cultivares suscetíveis, outrora extintas, *versus* híbridos resistentes e produtivos; microrganismos benéficos *versus* super-raças mutantes e patogênicas. Que bom podermos contemplar e entender o porquê de tanta riqueza!

Angelo Gallotti Prazeres

Ao meu avô

- Júlio César Gallotti (*in memoriam*): Homem íntegro, desbravador e vencedor.

## Ofereço

## AGRADECIMENTOS

À minha estimada família: mãe, pai e irmãos por mais essa nossa vitória;

À minha querida Cássia Maria da Costa “Cassinha”: pela dedicação e amor, tão imprescindíveis à realização dessa conquista;

Ao meu tio e Eng<sup>o</sup> Agrônomo Teófanés Borges Pereira: por estar sempre acompanhando, torcendo e vibrando por cada conquista em minha trajetória acadêmica;

Às Cirurgiãs-Dentistas: Dr<sup>a</sup> Gabriela Botelho Martins e Dr<sup>a</sup> Emilia Rios Azevedo Bacellar, pessoas iluminadas e presentes em momentos importantes de minha caminhada;

A Prof<sup>a</sup> Simone Alves Silva, ao Prof. Ricardo Franco Cunha Moreira e a Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Fermino Soares por toda credibilidade, orientação e ensinamentos no decorrer da pesquisa;

Ao pesquisador Dr. Carlos da Silva Ledo pela atenção, amizade e preciosa contribuição na execução das análises estatísticas;

Aos membros da banca: Prof<sup>a</sup> Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa, Dr. Aristoteles Pires de Matos, Dr. Vagner Maximino Leite e Dr<sup>a</sup>. Claudia Fortes Ferreira pelas sugestões ao referido trabalho;

Aos Professores e pesquisadores: Dr. Antonio Alberto Rocha Oliveira, Dr. José Fernandes de Melo Filho, Dr. Deoclides Ricardo de Souza e Dr<sup>a</sup>. Katia Cristina Leão de Magalhães Abreu, pelos ensinamentos e contribuições concedidas durante meu curso de Doutorado;

Ao Prof. Euclides Palitot pelo exemplo de profissional, amizade e contribuição na confecção dos abstracts;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro ao projeto por meio de edital de fomento;

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, em especial aos laboratórios de Fitopatologia e Biologia Molecular, pelo apoio técnico e estrutural, indispensáveis a realização da Tese;

Ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), pelo apoio na condução e avaliação dos resultados;

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela oportunidade oferecida; à FAPESB, pela concessão da bolsa de estudo e ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pelo acolhimento e auxílio durante a multiplicação dos isolados de *A. ricini*;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por ter cedido material biológico, fundamental para condução do experimento *in vitro*;

Ao pesquisador Prof. Ariosvaldo Novais Santiago, ao colega Vlademir Silva e à Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola - EBDA por ter cedido os genótipos utilizados nos experimentos de telado e campo;

Aos amigos e companheiros de laboratório: Francisco Paulo, Epaminondas do Patrocínio, Raimundo Pereira e Honorato Pereira pela amizade, atenção e auxílios prestados;

Aos meus co-orientados: Ademilde, Roberval e Rangeline, os quais prestaram valorosa colaboração para efetivação desta obra;

Aos colegas: Alberico, Alda, Ademize, Paulo, Maurício, Tibério, Lívia, Helison, Magno, Agenildo e Joelton, pela amizade e contribuição na realização da pesquisa.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRUDUÇÃO.....	01
<b>Capítulo 1</b>	
SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE <i>Amphobotrys ricini</i> A FUNGICIDAS.....	16
<b>Capítulo 2</b>	
SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA A FUNGICIDAS EM TELADO.....	37
<b>Capítulo 3</b>	
ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Amphobotrys ricini</i> UTILIZANDO MARCADORES RAPD.....	59
<b>Capítulo 4</b>	
AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA AO <i>Amphobotrys ricini</i> EM NÍVEL DE CAMPO.....	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104



# CONTROLE QUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO MOFO-CINZENTO (*Amphobotrys ricini*) ASSOCIADO AOS CARACTERES AGRONÔMICOS DA MAMONEIRA

Autor: Angelo Gallotti Prazeres

Orientadora: Simone Alves Silva

Co-Orientador: Ricardo Franco Cunha Moreira

Co-Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

**RESUMO:** O Brasil é atualmente o terceiro maior produtor mundial de mamona e a região nordeste contribui com 87% da produção nacional. Apesar de sua rusticidade, a mamoneira está sujeita ao mofo-cinzento, doença causada pelo fungo *Amphobotrys ricini*. Este trabalho tem por objetivo definir tratamentos químicos efetivos com reduzido impacto ambiental, avaliar o polimorfismo em isolados do *A. ricini*, utilizando marcadores moleculares RAPD e identificar a sensibilidade de genótipos de mamoneira ao mofo-cinzento em condições de campo e telado. O experimento *in vitro* revela que os fungicidas Azoxistrobina, Procimidone, Iprodiona e Captana apresentam alta fungitoxicidade, em que a ED<sub>50</sub> destes produtos químicos foi  $< 1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Em telado, os fungicidas utilizados reduziram a severidade do *A. ricini* e promoveram acréscimo nos caracteres diâmetro de caule e altura de plantas para os genótipos avaliados. A técnica RAPD permite determinar a variabilidade genética entre os isolados de *A. ricini*, em que a distância entre eles variou de 0,02 a 0,94, com formação de 8 grupos principais. Dentre os genótipos avaliados em campo, o Mirante 10 foi o mais suscetível ao mofo-cinzento; conforme a incidência e severidade nos racemos. A maioria dos componentes de rendimento (NFR, NGR, MRTP, MFP, MR, MGP e PROD) e o caráter adaptativo (EST) apresenta comportamento significativo entre os genótipos com identificação de resistência ao mofo-cinzento.

**Palavras-chave:** *Ricinus communis* L., resistência varietal, fungicidas e *fingerprinting*.

# CHEMICAL CONTROL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GRAY MOLD (*Amphobotrys ricini*) ASSOCIATED WITH AGRONOMIC TRAITS OF THE CASTOR BEAN

Author: Angelo Gallotti Prazeres

Advisor: Simone Alves Silva

Co-advisor: Ricardo Franco Cunha Moreira

Co-advisor: Ana Cristina Fermino Soares

**ABSTRACT:** Brazil is currently the world's third largest producer of castor bean and northeastern region contributes with 87% of the national production. Despite its ruggedness, the castor bean is subject to gray mold, a disease caused by the fungus *Amphobotrys ricini*. This work aims at establishing effective chemical treatments with low environmental impact, evaluate the polymorphism in isolates of *A. ricini* using molecular RAPD markers and to identify the sensitivity of castor bean genotypes to gray mold in greenhouse and field conditions. The *in vitro* experiment shows that the fungicides Azoxystrobin, Procymidone, Iprodione and Captan present high fungitoxicity when the ED<sub>50</sub> of these chemicals was <1 µg.ml<sup>-1</sup>. In greenhouse, the used fungicides reduced the severity of *A. ricini* and promoted an increase in stem diameter and plant height for the evaluated genotypes. The RAPD technique allows to determine the genetic variability among isolates of *A. ricini*, in which the distance between them ranged from 0.02 to 0.94, with the formation of eight main groups. Among the evaluated genotypes in the field, the Mirante 10 was the most susceptible to gray mold; according to the incidence and severity in the racemes. Most components of productivity (NFR, NGR, MRTP, MFP, MR, MGP and PROD) and the adaptive character (EST) present significant behavior among the genotypes resistant to gray mold.

**Key words:** *Ricinus communis* L., varietal resistance, fungicides and fingerprinting.

## INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.), conhecida como carrapateira ou rícino, é uma espécie de origem tropical que vegeta naturalmente desde a latitude 40° Norte até 40° Sul. O óleo extraído de suas sementes é um dos mais versáteis da natureza, apresentando inúmeras aplicações industriais (CHIERICE & CLARO NETO, 2001).

Apesar de possuir muitos problemas fitossanitários, os estudos dessa natureza são ainda incipientes, não condizendo com a importância atual dessa oleaginosa. Mesmo sendo considerada uma planta rústica, apresenta-se bastante susceptível a muitas fitomoléstias, merecendo destaque o mofo-cinzento da mamoneira, provocada pelo fungo *Amphobotrys ricini*, o qual coloniza inflorescências e racemos, reduzindo a produção de óleo pela diminuição dos frutos colhidos.

O mofo-cinzento encontra-se disseminado em praticamente todas as regiões produtoras de mamona no Brasil. O emprego de cultivares resistente é a forma mais viável para controlar esta doença, sendo de fundamental importância o conhecimento de algumas características do patógeno, como variabilidade genética, modo de reprodução e resistência a fungicidas, as quais favorecerão a utilização do controle alternativo desta moléstia, por meio do uso de fungicidas e seu cultivo em locais desfavoráveis a sua incidência.

O melhoramento genético vegetal destina-se à obtenção e seleção de materiais que apresentem características agronômicas superiores às de seus genitores. Dentre essas, merecem destaque o aumento de produtividade, precocidade de desenvolvimento e resistência ao ataque de doenças. Contudo, apesar do melhoramento ser uma tática mais aceitável para o controle do mofo-cinzento, o mesmo necessitará de fatores como: fonte de resistência para a doença e tempo hábil para que os cruzamentos e testes de progênies sejam realizados. Assim, se faz preciso um direcionamento dos trabalhos para o manejo integrado, por meio do controle químico dessa patologia.

Os fungicidas são substâncias utilizadas no controle das doenças de plantas e ainda como fator para aumentar a produtividade agrícola. O crescimento da população e a demanda pela maior produção de alimentos tornaram essencial o uso de fungicidas para aumentar a proteção das culturas em seus vários estágios, como: crescimento, armazenamento e transporte (BHANTI & TANEJA, 2007; MELO et al., 2008).

A pressão de seleção exercida pelos fungicidas específicos contribui para o estabelecimento de raças mais resistentes do patógeno. A mutação e recombinação parassexual, são os principais mecanismos evolutivos responsáveis por tornarem esses microrganismos resistentes aos fungicidas e conseqüentemente, dificultando o manejo fitossanitário das culturas (REIS et al., 2006).

A combinação de diferentes técnicas para o manejo do mofo-cinzento é imprescindível, pois além de reduzir as despesas financeiras e a contaminação do ambiente, evitará a pressão de seleção causada pelos fungicidas específicos, que contribuirá para o estabelecimento de isolados resistentes.

A caracterização morfológica dos isolados, apesar de ser fundamental para identificação inicial do agente etiológico, apresenta limitações em função do número reduzido de caracteres a serem avaliados para identificação da moléstia, da alta instabilidade e dependência da composição do meio de cultura utilizado, das condições de incubação e das variações intrínsecas do patógeno. Por meio do uso de marcadores moleculares, é possível diferenciar as cepas com maior precisão e em menor espaço de tempo.

Dessa forma, o uso de marcadores moleculares vem se tornando uma constante na detecção da variabilidade genética em organismos vivos. Os marcadores RAPD, são dominantes e apropriados para estudos genéticos de fungos haplóides, pois não há perda da informação genética causada pela herança dominante (MOYANO et al., 2003).

### **O Patossistema Mamoneira x *Amphobotrys ricini***

Pertencente à família Euphorbiaceae, a qual engloba grande número de plantas nativas da região tropical, a mamoneira (*R. communis* L.) é uma

planta xerófila e heliófila, provavelmente de origem Africana, com diversas colorações de caule, folhas e racemos (cachos), frutos com ou sem espinhos e sementes apresentando diferentes tamanhos, formatos e grande variabilidade de coloração. No Brasil, sua introdução se deu durante a colonização portuguesa, por ocasião da vinda dos escravos africanos (MAZZANI, 1983).

Apresentando boa capacidade de adaptação, é encontrada em nosso país vegetando desde o Rio Grande do Sul até a Amazônia. Pelo fato de tolerar bastante a seca, ser exigente em calor e luminosidade, a mamoneira difundiu-se por todo Nordeste, sendo a Bahia responsável por mais de 90% da produção nacional (CONAB, 2011).

Dentre seus subprodutos, destacam-se a torta de mamona; a qual é utilizada como fonte de adubo orgânico e nematicida e o óleo de mamona, conhecido como óleo de rícino ou Castor oil, o qual, extraído por meio da prensagem das sementes, vem sendo utilizado, com destaque, na indústria de cosméticos, lubrificantes, combustível e na área médica em próteses ósseas, Mal de Parkinson, artrite e reumatismo, proporcionando ao Brasil importante potencial econômico. Contudo, fatores ambientais, fisiológicos e genéticos podem comprometer o desenvolvimento e produtividade desta cultura, microrganismos fitopatogênicos, tais como fungos, bactérias e vírus, também causam prejuízos bastante consideráveis.

No Brasil, o mofo-cinza, causado pelo fungo *Amphobotrys ricini* (Buchw.) Hennebert, foi evidenciado pela primeira vez no Estado de São Paulo no ano de 1932 (GONÇALVES, 1936). A partir daí, com a exploração da mamoneira em escala comercial, esta doença atingiu grandes proporções e, atualmente, é considerada um dos maiores problemas fitossanitários desta oleaginosa. Além de provocar chochamento e apodrecimento das sementes e frutos, respectivamente, o fungo é altamente resistente às condições adversas do meio, podendo este sobreviver de um ano para o outro na forma de escleródios, conídios e/ ou micélios, em mamoneiras espontâneas e em restos de cultura.

### **O Fungo *Amphobotrys ricini***

As perdas provocadas pelo mofo-cinzento para a mamoneira foram evidenciadas pelos Estados Unidos da América durante a Primeira Guerra Mundial, uma vez que eles necessitavam de óleo de rícino como fonte de lubrificante para seu arsenal bélico. Em função da Índia ter fornecido toda sua produção para a Inglaterra, os EUA tiveram que cultivar a mamona, porém praticamente toda sua produção ficou comprometida, em função de suas condições climáticas serem favoráveis ao estabelecimento do *A. ricini* (GODFREY, 1923)

O mofo-cinzento é considerado uma das principais doenças da mamoneira, provocando grandes perdas em sua produção. Apresenta uma distribuição bastante generalizada, sendo observada em todas as regiões produtoras que apresentem condições climáticas favoráveis (LIMA et al., 2001).

No Brasil, os Estados da Bahia, Paraíba e Pernambuco apresentam condições bastante propícias ao desenvolvimento desta patologia, com distribuição bastante generalizada. Em Surubim, cidade do Agreste pernambucano, constatou-se elevada incidência de plantas doentes, cuja severidade variou de 9,02 a 80,99%, em função da cultivar (LIMA & SOARES, 1990).

O mofo-cinzento tem como agente etiológico o fungo *Botryotinia ricini* (Godfrey) Whetzel (anamorfo: *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.) Hennebert) pertencente à classe dos Ascomycetes, ordem Heliales e família Sclerotiniaceae (LIMA et al., 2001).

Após dispersão anemófila e entomófila, o fungo se dissemina por meio de seus esporos e rapidamente coloniza os frutos da mamoneira, causando inicialmente pequenas manchas de coloração azulada com exudato amarelado. Em seguida, sob alta umidade relativa do ar e temperaturas em torno de 25°C as hifas se desenvolvem rapidamente, com elevada esporulação, conferindo à área afetada um aspecto pulverulento cinza com posterior frutificação do patógeno (KIMATI, 1980).

A ação antrópica contribui de forma significativa para a disseminação do *A. ricini*, por meio de sementes contaminadas, nas principais regiões

produtoras de mamona, a qual será otimizada, caso as condições climáticas sejam favoráveis. Mesmo com a desinfestação das sementes com produtos químicos, verificou-se que a porcentagem deste fungo não foi reduzida, indicando sua presença em nível de endosperma (CARVALHO et al., 2006).

O fungo coloniza preferencialmente racemos e inflorescências, porém pode se desenvolver em outras partes da planta, como caule e folhas, em que as lesões são provenientes da queda do material infectado da inflorescência (BATISTA et al., 1996)

Segundo Kimati (1980) a mamoneira era a única espécie vegetal que albergava o *A. ricini*. Atualmente se conhecem outras plantas que hospedam esse patógeno, a citar: *Caperonia palustris* (WHITNEY & TABER, 1986), *Euphorbia supina* e *E. pulcherrima* (HOLCOMB et al, 1989).

Para Drummond & Coelho (1981), não existem medidas de controle eficientes contra esta enfermidade e as cultivares existentes no Brasil não apresentam resistência a este fungo. Dentre as formas de controle usuais, recomenda-se a utilização de sementes sadias e o tratamento destas com formaldeído 40%.

De acordo com Lima et al. (2001) este fungo foi detectado em 10,5% das sementes da cv. Al Petra. Ainda segundo esses autores, esse patógeno pode ser disseminado pelas sementes. Portanto, o uso de sementes sadias, provenientes de campos isentos de *A. ricini*, é uma das medidas de prevenção.

Rotação de cultura, eliminação de mamoneiras espontâneas e restos de cultura, utilização de maiores espaçamentos (SICHMANN, 1972), emprego de cultivares resistentes (SICHMANN, 1972; KIMATI, 1980; DRUMMOND & COELHO, 1981) e controle químico, são outras maneiras encontradas para reduzir a disseminação deste patógeno.

De acordo com Kimati et al. (1986), o fungicida Iprodione pode ser empregado no controle químico da parte aérea da planta. Além desse, esta patologia foi controlada com Carbendazim (0,5 L/ha) e Tebuconazole (0,25 L/ha) no início do aparecimento dos sintomas. (AZEVEDO & LIMA, 2001).

Segundo Lima & Soares (1990), entre as cultivares avaliadas, as que apresentaram menor susceptibilidade foram: Canela-de-juriti, Sipeal 28, Sipeal 04, Sangue-de-boi, LC 5116 e Sipeal 09. Cultivares que possuem

cápsulas com pouco ou nenhum acúleo apresentam maior resistência ao mofo-cinzento (FERNANDES, 1944; COOK, 1981; LIMA & SOARES, 1990).

A utilização de genótipos resistentes ao mofo-cinzento é a estratégia mais indicada para o controle dessa doença. No entanto, a seleção de genótipos resistentes ou tolerantes é um processo caro, longo e trabalhoso, pois os resultados necessitam ser confirmados por vários ciclos de seleção.

A facilidade de adaptação do patógeno, bem como a presença de novas cepas virulentas, pode tornar a resistência uma solução temporária. Portanto, é importante conhecer a diversidade genética do patógeno, para o desenvolvimento de estratégias de manejo a longo prazo.

As pesquisas a respeito do mofo-cinzento da mamoneira são bastante incipientes, havendo necessidade de muitas informações acerca da resistência de genótipos a campo e sob condições controladas; bem como no uso criterioso de fungicidas.

### **Mecanismo de variabilidade genética em fungos**

A interação patógeno-hospedeiro é uma dinâmica que ocorre em todos os ecossistemas terrestres, onde o patógeno utiliza suas armas químicas para atacar o hospedeiro, enquanto este último, por meio de mecanismos estruturais e/ou bioquímicos, procura se defender (PASCHOLATI et al., 1998).

A existência de uma relação gene-a-gene em sistemas hospedeiro-patógeno foi demonstrada por FLOR (1942) no patossistema *Linum usitatissimum-Melampsora lini*. Essa relação estabelece que para cada gene de resistência no hospedeiro existe um gene correspondente de virulência no patógeno.

Segundo Camargo (1995), essas interações são marcadas por íntimas relações geneticamente controladas denominadas de coevolução, em que ocorrem simultâneas modificações genéticas nos organismos, favorecendo a sobrevivência de ambos.

Dentre os mecanismos mais utilizados pelos fungos fitopatogênicos para superar a resistência do hospedeiro, destaca-se as mutações (CASELA & GUIMARÃES, 1996). Elas são classificadas em gênicas ou



cromossômicas, ocorrendo devido a erros na duplicação cromossômica, causadas por substituição, deleção, adição de um ou mais nucleotídeos e inversão de um ou mais segmentos de DNA. (CAMARGO, 1995).

A Recombinação parassexual ou parassexualismo é também muito utilizada para a evolução dos fungos imperfeitos que não possuem o ciclo sexuado, consistindo na formação de um núcleo diplóide pela fusão ao acaso de dois núcleos haplóides, seguido de *crossing over* mitótico (CASELA & GUIMARÃES, 1996).

### **Resistência de fungos a fungicidas**

Os fungicidas são substâncias químicas ministradas para controlar várias fitomoléstias, com a finalidade de maximizar os rendimentos de muitas oleaginosas. Em função do rápido crescimento populacional e da maior demanda de seus produtos e subprodutos, se faz necessário o uso de fungicidas para favorecer sua proteção (EL-SAYED et al., 2007; MELO et al., 2008).

Em função de fatores como: uso indiscriminado, elevada toxicidade, desrespeito ao período de carência do produto e precariedade da vigilância, a utilização de fungicidas no Brasil tem gerado sérios problemas, tanto para o ambiente como para a saúde dos seres vivos. (PERES et al., 2005).

Alguns produtos químicos agem controlando a incidência de várias moléstias fúngicas, apresentando dessa maneira modo de ação não específico. Já os de ação específica, possuem espectro limitado de atividade contra grupos específicos de microrganismos. A especificidade dos fungicidas sistêmicos aumenta o risco de resistência adquirida pelo patógeno (RODRIGUES et al., 2007; ZAMBOLIM et al., 2007).

A resistência a fungicidas é um marcador fenotípico que tem sido avaliado em estudos genéticos e concomitantemente com marcadores moleculares para diversos fins; dentre os quais, a identificação de genes envolvidos na resistência à fungicidas (COOKE et al., 2004; JUDELSON & SENTHIL, 2006)

Segundo Paplomatas et al. (2004) foi possível avaliar, por meio da técnica de RAPD, a diversidade genética entre isolados de *Botrytis cinerea*

e também caracterizar sua resistência a determinados fungicidas. Alguns trabalhos reportam a aquisição de resistência de isolados de *B. cinerea* a fungicidas; em função da constante utilização do mesmo princípio ativo (LEROUX et al., 2002).

Pelo fato de não existir medidas curativas que venham a controlar satisfatoriamente o mofo-cinzeno da mamoneira, principalmente em função de ainda não existem fungicidas registrados no Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA, 2011), o uso de estratégias preventivas, baseadas no manejo integrado é a alternativa mais adequada para controle do *A. ricini*. Dessa forma, é importante avaliar a sensibilidade dos isolados do patógeno aos fungicidas, bem como entender a relação existente entre os genótipos de mamoneira avaliados e a diversidade de isolados encontrada na área experimental.

### **Marcadores moleculares**

As tecnologias de análise molecular da variabilidade do DNA, que possibilitam determinar pontos de referência nos cromossomos, são tecnicamente descritos como marcadores moleculares. Marcador molecular é todo fenótipo molecular obtido de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA correspondente a regiões expressas ou não do genoma (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998)

A técnica do RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) consiste na amplificação *in vitro* de regiões de DNA flanqueadas por iniciadores (*primers*) arbitrários (WILLIAMS et al., 1990; CAETANO-ANOLLÉS et al., 1991). É uma técnica que se baseia na reação de PCR (Polymerase Chain Reaction) descrita por SAIKI et al., (1988), que envolve a desnaturação (94°C por 60 segundos), ligação do iniciador ao DNA alvo (36°C por 60 segundos) e extensão (72°C por 60 segundos) *in vitro* de determinadas seqüências de DNA utilizando nucleotídeos específicos ou arbitrários, em que os produtos amplificados são separados por eletroforese (LEAL-BERTIOLI, 1998).

Os Marcadores RAPD comportam-se como dominantes, assim nas análises dos perfis eletroforéticos, quando a banda está presente não é

possível saber se o segmento teve origem em uma ou duas cópias da seqüência amplificada, ou seja, se o loco é homozigoto (AA) ou heterozigoto (Aa) (WILLIAMS et al., 1990).

Os Marcadores RAPD apresentam diversas vantagens, que favorecem seu uso, a citar: dispensam uso de sequenciamento, relativamente de custo baixo, pode ser feita com um grande número de iniciadores, rapidez na obtenção dos mapas genéticos, simplicidade e de fácil execução (WILLIAMS et al., 1990; CAETANO-ANOLLÉS et al., 1991).

A técnica de RAPD tem demonstrado ser uma ferramenta bastante poderosa nas análises de genomas, sendo aplicada a uma variedade de organismos. Nesse contexto, ela vem sendo muito empregada em estudo de caracterização de fungos fitopatogênicos, a exemplo do *Botrytis cinerea*, onde foi possível a identificação de isolados geneticamente diferentes (VAN DER VLUGT-BERGMANS et al., 1993) e ainda para fazer análise de diversidade genética em isolados de outras espécies (HENSEN et al., 2005; SILVA, 2009; SILVA et al., 2010; BENTES & COSTA NETO, 2011).

Assim, essa pesquisa objetivou avaliar a diversidade genética em isolados de *A. ricini*, utilizando marcadores moleculares, investigar quais tratamentos químicos são mais eficientes no controle *in vitro* e *ex situ* do mofo-cinzento da mamoneira, associados à seleção de genótipos resistentes a essa doença. Tais resultados possibilitarão gerar informações relevantes ao programa de melhoramento genético da mamoneira nas condições do Recôncavo baiano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, D. M. P. de.; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 350p.

BATISTA, F. A. S.; LIMA, E. F.; SOARES, J. J.; AZEVEDO, D. M. P. de. **Doenças e pragas da mamoneira (*Ricinus communis* L.) e seu controle.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 1996. 53p. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 21)

BENTES, J. L. da S.; COSTA NETO, P.Q. Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônica** v. 41(2), p.251-256. 2011.

BHANTI, M.; TANEJA, A. Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorus pesticides and related health risk assessment in northern India. **Chemosphere**, 69. p. 63-68. 2007.

CAMARGO, L. E. A. Mecanismos de variabilidade genética de agentes fitopatogênicos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.455-469.

CARVALHO, S. V. A.; OLIVEIRA, A. S.; BOARI, A. J.; SILVA-MANN, R. Ocorrência de fungos fitopatogênicos em sementes asselvajadas de mamona (*Ricinus communis* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2., 2006, Aracajú. **Anais...Aracajú**, 2006. CD-ROM.

CASELA, C. R.; GUIMARÃES, F. B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.75-93, 1996.

CAETANO-ANOLLÉS, G.; BASSAM, B. J.; GRESSHOFF, P. M. High resolution DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. **Biotechnology**, New York, v.9, n.6, p.553-557, 1991.

CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Aplicação Industrial do óleo. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.89-120.

CONAB. **Mamona – Brasil: série histórica de área plantada das safras de 1976/77 a 2010/11 em mil hectares**. Disponível em <<http://www.Conab.gov.br/download/safra/mamonaseriehist.xls>>. Acesso em 20/12/2011.

COOK, A. A. **Diseases of tropical and subtropical field, fiber and oil plants**. New York: Macmillan, 1981. 450 p.

COOKE, D. E. L.; LEES, A. K. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. **Plant Pathology**, v.53, p.692-704. 2004

DRUMMOND, O. A.; COELHO, S. J. Doenças da mamoneira. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 7, n. 82, p. 38-42, 1981.

EL-SAYED, Y. S.; SAAD, T. T.; EL-BAHR, S.M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 24. p. 212-217. 2007.

FERNANDES, G. R. **Investigações básicas para o melhoramento da mamoneira**. Rio de Janeiro. Inst. De Ecologia e Experimentação Agrícola, 1944. 24p. (Boletim, 6).

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**, Brasília: Embrapa. 220p. 1998.

FLOR, H. H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. **Phytopathology**, Minnesota, v.32, p.653-668, 1942.

GODFREY, G. H. Gray mold of castor bean. **Journal of Agricultural Research**, v.23, n.9, p. 679-716, 1923.

GONÇALVES, R. D. O. Mofo cinzento da mamoneira. **O Biológico**, v.11, p.232-235, 1936.

HENSEN, I.; OBERPRIELER, C.; WESCHE, K. Genetic structure, population size, and seed production of *Pulsatilla vulgaris* Mill. (Ranunculaceae) in Central Germany. **Flora**, Jena, v.200, n.1, p.3-14, 2005.

HOLCOMB, G. E.; JONES, J. P.; WELLS D. W. Blight of prostrate spurge and cultivated poinsettia caused by *Amphobotrys ricini*. **Plant Disease**, v. 73, p. 74-75, 1989.

JUDELSON, H. S.; SENTHIL, G. A. investigating the role of ABC transporters in multifungicide insensitivity in *Phytophthora infestans*. **Molecular Plant Pathology**, v.7, p.17-19, 2006

KIMATI, H. Doenças da mamoneira - *Ricinus communis* L. In: GALLI, F. (coord.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 347-351.

KIMATI, H.; SOAVE, J.; ESKES, A. B.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; FERNANDES, N. G. **Guia de fungicidas agrícolas**. Piracicaba, São Paulo: Livrocere, 1986. 281p.

LEAL-BERTIOLI, S. C. de M. O enfoque molecular na sistemática de fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.6, p.197-230, 1998.

LEROUX, P.; FRITZ, R.; DEBIEU, D.; ALBERTINI, C.; LANEN, C.; BACH, J.; GREDT, M.; CHAPELAND, F. Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. **Pesticide Management Sciences**. v.58, p.876-888, 2002

LIMA, E. F.; SOARES, J. J. Resistência de cultivares de mamoneira ao mofo cinzento causado por *Botrytis ricini*, **Fitopatologia Brasileira**, v.15, n.1, p.96-97, 1990.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. D. Doenças e seu controle. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.

MAPA. **AGROFIT** – sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011. Disponível em: < [Http:// extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 07 de outubro. 2011.

MAZZANI, B. Euforbiáceas oleaginosas Taitago. In: MAZZANI, B. **Cultivo y mejoramiento de plantas oleaginosas**. Caracas, Venezuela: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuárias, 1983. p.277-360.

MELO, G. C.; DONATTI, L.; RUDNIKI, C. A. M.; FANTA, E. Hepatic alterations in the fish *Rhamdia quelen* contaminated with Folidol 600®. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 71. p. 821-829. 2008.

MOYANO, C.; ALFONSO, C.; GALLEGRO, J.; RAPOSO, R. E.; MELGAREJO, P. Comparison of RAPD and AFLP marker analysis an means to study the genetic structure of *Botrytis cinerea* populatios, **European Journal of Plant Pathology**, v.109, p.515-522. 2003.

PAPLOMATAS, E. J.; PAPPAS, A. C.; ANTONIADIS, D. A relationship among fungicid-resistant phenotypes of *Botrytes cinerea* based on RAPD analysis. **Journal of Pathology**, v. 152, p.503-508, 2004

PASCHOLATI, S. F.; STANGARLIN, J. R.; LEITE, B. et al. Mecanismos de patogenicidade em fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.6, p.1-47, 1998.

PERES, F.; SILVA, J. J .O.; DELLA-ROSA, H. V.; LUCCA, S. R. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, 10(Sup). p. 27-37. 2005.

REIS, A.; RIBEIRO, F. F. S.; MIZUBITI, E. S. G. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p. 270-276, 2006.

RODRIGUES, M. B. C.; ANDREOTE, F. D.; SPÓSITO, M. B.; AGUILLAR-VILDOSO, C. I.; ARAÚJO, W. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.3, p.323-327, 2007.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFELL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; TORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic application of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, Washington, v.239, n.4.839, p.487-491, 1988.

SICHMANN, W. **A cultura da mamoneira**. Correio Agrícola, v.1, p.11-15, 1972.

SILVA, D. de S. **Diversidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* em helicônia utilizando ARDRA e RAPD**. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2009.

SILVA, C. M. da.; HINZ, R. H.; STADNIC, M. J.; PEREIRA, A.; TCACENCO, F. A. Diversidade genética por marcadores moleculares em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no Estado de Santa Catarina. **Ciência Rural**, v.40, n.12, p.2480-2485, 2010.

VAN DER VLUGT-BERGMANS, C. J. B.; BRANDWAGT, B. F.; WAGEMAKERS, C. A. M.; VAN'T KLOOSTER, J. W.; VAN KAN, J. A. L. Genetic variation and segregation of DNA polymorphisms in *Botrytis cinerea*. **Mycological Research**, v.97, p. 1193-1200. 1993.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. V.; RAFALSKI, J. A. TINGEY, S. V. DNA Polymorphic amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.



WHITNEY, N. G. TABER, R. A. 1 st Report of Amphobotys ricini infecting *Caperonia palustris* in the United-States. **Plant Disease**, v.70, p.892, 1986.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, S.V.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da Resistência de Fungos a Fungicidas**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 2007, 168p.

# CAPÍTULO 1

## **SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Amphobotrys ricini* A FUNGICIDAS<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## **SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Amphobotrys ricini* A FUNGICIDAS**

**RESUMO:** A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta de origem tropical, possivelmente da Etiópia, heliófila requerendo pelo menos 500 mm de chuva e temperatura do ar entre 20 e 30°C para seu crescimento e desenvolvimento. Contudo, microrganismos fitopatogênicos, tais como fungos, bactérias e vírus, causam prejuízos bastante consideráveis. No Brasil, o mofo-cinza, causado pelo fungo *A. ricini* é considerado um dos maiores problemas fitossanitários dessa oleaginosa. O melhoramento genético é uma excelente alternativa para o controle desta enfermidade, porém requer tempo para obtenção de genótipos resistentes. Sendo assim, o controle baseado em métodos químicos consiste na alternativa viável a curto prazo. O objetivo deste trabalho foi testar *in vitro*, a sensibilidade micelial do *A. ricini* a diferentes fungicidas, na cultura da mamoneira. Para analisar a sensibilidade do *A. ricini* a tratamentos químicos, foram testados 10 fungicidas no controle de 1 isolado do fungo, onde se determinou o crescimento micelial em meio BDA acrescido dos fungicidas nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Apresentam alta fungitoxicidade os princípios ativos Azoxistrobina, Procimidone, Iprodiona e Captana, em que a  $\text{ED}_{50}$  destes produtos químicos foi  $< 1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  e os fungicidas Tebuconazol, Propiconazol, Difenconazol e Tiofanato metílico conferem maior controle sobre o isolado testado, mesmo não tendo suas  $\text{ED}_{50}$  determinadas.

**Palavras-chave:** Fitossanidade, controle químico, mamoneira.

## ***IN VITRO* SENSITIVITY OF *Amphobotrys ricini* TO FUNGICIDES**

**ABSTRACT:** The castor bean (*Ricinus communis* L.) is a plant of tropical origin, possibly from Ethiopia, heliophyte requiring at least 500 mm of rainfall and air temperature between 20 and 30°C for their growth and development. However, pathogenic microorganisms such as fungi, bacteria and viruses, cause quite considerable damage. In Brazil, the gray mold, caused by the fungus *A. ricini* is considered one of the biggest phytosanitary problems of this plant. Genetic improvement is an excellent alternative for controlling this disease, but requires time to obtain resistant genotypes. Thus, the control based on chemical methods is a viable alternative in the short term. The objective of this study was to test *in vitro* the mycelial sensitivity of *A. ricini* to different fungicides in castor bean crops. To analyze the sensitivity of *A. ricini* to chemical treatments 10 fungicides were used to control an isolate of the fungus, which determined the mycelial growth in PDA medium with fungicides at concentrations of 1, 10, 100 and 1000 µg.ml<sup>-1</sup>. The active ingredients Azoxystrobin, Procymidone, Captan and Iprodione show high fungitoxicity when the ED<sub>50</sub> of these chemicals was <1 µg.ml<sup>-1</sup> and the fungicides Tebuconazole, Propiconazole, Difenoconazole and Thiophanate methyl provide greater control over the tested isolate, although their ED<sub>50</sub> weren't determined.

**Key words:** Phytosanitary, chemical control, castor bean.

## INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L.) também conhecida como carrapateira ou rícino, é uma espécie de origem tropical, pertencente à família das euforbiáceas, que vegeta naturalmente desde a latitude 40° Norte até 40° Sul, sendo cultivada em mais de 15 países no mundo devido à importância comercial do seu óleo, com inúmeras aplicações industriais (CHIERICE & CLARO NETO, 2001).

A Índia, a China e o Brasil, representam os três maiores produtores de grãos dessa oleaginosa. A produção no Brasil, na safra de 2010/2011 foi de 209.067 t. Desse total, o Nordeste brasileiro contribuiu com 192.298 t, o que representa 91,98% da produção nacional (IBGE, 2012).

O cultivo comercial da mamoneira se verifica na maioria dos estados da região nordeste, com exceção do Maranhão e Sergipe, onde não há relatos de área cultivada com essa oleaginosa (AMORIM NETO et al., 2001), em que a Bahia se destaca como maior produtor nacional. No semi-árido baiano, a mamoneira é bastante cultivada, destacando-se como maiores produtores os municípios de Cafarnaum e Ouarolândia (SEAGRI, 2009). Pelo fato de ser uma cultura explorada por pequenos produtores, ela representa uma importante fonte de renda, favorecendo a melhoria na qualidade de vida e garantindo o sustento de muitas famílias de baixa renda.

Existem vários produtos explorados com esta oleaginosa, como a torta de mamona, utilizada como fonte de adubo orgânico e nematicida, o óleo de rícino, o qual é extraído por meio da prensagem dos grãos, é bastante utilizado em diversos setores da indústria, principalmente no setor de cosméticos e bioenergia, conferindo à espécie uma capacidade de desempenhar importante papel socioeconômico. O cultivo da mamoneira sempre foi uma prática voltada para a agricultura familiar; no entanto, com essas potencialidades, a produção de mamona em escala comercial aumentou, passando a ser uma cultura também explorada em grandes áreas.

O aumento de produtividade é um objetivo comum para todas as regiões produtoras de mamona do País. Para Nóbrega et al. (2001), a produtividade de grãos é classificada como baixa quando atinge menos de

1.500 kg.ha<sup>-1</sup>, média, quando está entre 1.500 a 2.000 kg.ha<sup>-1</sup>, alta quando for de 2.001 a 3.000 kg.ha<sup>-1</sup> e muito alta quando estiver acima de 3.000 kg.ha<sup>-1</sup>

Para a região do semi-árido, as cultivares mais produtivas tem um potencial produtivo de 1.500 kg.ha<sup>-1</sup> de sementes em regime de sequeiro e superior a 5.000 kg.ha<sup>-1</sup> com irrigação (BELTRÃO et al., 2003).

Na Bahia, houve um decréscimo no rendimento médio da mamona em bagas entre os anos de 2010/2011, finalizando com 644 kg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2012). Isso pode ser explicado em função do baixo nível tecnológico empregado pela maioria dos produtores rurais e pela reduzida oferta de cultivares e híbridos selecionados para alta produtividade de grãos, para colheita mecânica (porte) e para resistência a doenças.

A mamoneira em condições favoráveis apresenta a incidência de algumas fitomoléstias, provocadas por microrganismos fitopatogênicos que contribui para um baixo rendimento. Dentre elas merece maior atenção o mofo-cinzento, considerada a principal doença desta cultura. Ela é causada por *Botryotinia ricini* (Godfrey) Whetzel (anamorfo: *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.) Hennebert) pertencente à classe dos Ascomycetes, ordem Heliales e família Sclerotiniaceae (LIMA et al., 2001).

Este fungo foi identificado pela primeira vez no Estado de São Paulo em 1932 (GONÇALVES, 1936) e vem causando grandes prejuízos à produção, destruindo inflorescências e racemos, e assim reduzindo a produção de óleo pela diminuição de frutos colhidos (LIMA et al. , 2001)

Com a produção intensiva da mamona, a doença também proliferou, comprometendo o rendimento da cultura, apresentando maior importância fitossanitária. O fungo é disseminado por meio de seus esporos que afeta a planta em qualquer estágio de seu desenvolvimento, causando, no início, pequenas manchas de coloração azulada sobre as quais surge uma exsudação amarelada (KIMATI, 1995).

A forma principal para disseminação do *A. ricini* é por meio de esporos carregados pelo vento e por sementes (NEERGAARD, 1979). No entanto, alguns insetos, atraídos pela grande exsudação do néctar nas flores, também desempenham papel na disseminação do fungo (KIMATI, 1980; MASSOLA

JR. & BEDENDO, 2005).

O melhoramento genético vegetal é um mecanismo que busca a obtenção de materiais que possuam características agronômicas superiores a de seus genitores, destacando-se: aumento de produtividade, precocidade de desenvolvimento e resistência às doenças, as quais se conseguem por meio da seleção de genótipos superiores.

Apesar do melhoramento genético mostrar-se como fundamental no controle do mofo-cinza, o mesmo vai requerer fontes de resistência para doença e tempo necessário para condução de populações e seleção. Sendo assim, se faz necessários trabalhos de pesquisa que viabilizem o controle químico dessa fitomoléstia.

De acordo com Kimati (1995), o *A. ricini* desenvolve-se muito bem em alta umidade relativa, e em temperatura em torno de 25°C. Segundo Drummond & Coelho (1981), não existem medidas de controle químico registradas para controlar essa doença na cultura da mamoneira.

Uma alternativa, em curto prazo, para o controle do mofo-cinza de algumas fruteiras é a utilização de fungicidas. Existem várias opções de produtos químicos para o controle dessa doença, como por exemplo, fungicidas do grupo dos benzimidazóis, triazóis, estrobilurina entre outros.

Porém, não se tem uma recomendação efetiva para o combate do mofo-cinza da mamoneira por meio de tratamento químico, registrado no Ministério da Agricultura (COMPÊNDIO, 1999), onde se utiliza recomendações para outras culturas com características botânicas semelhantes.

Brent & Hollomon (1998) afirmam que os fungicidas são importantes ferramentas para o controle das principais doenças das plantas em sistemas intensivos de produção de culturas. Porém, Kimati (1995) alerta que, quanto ao uso indiscriminado de fungicidas, o mesmo poderá causar seleção de cepas resistentes dos fungos, diminuindo a eficiência dos fungicidas.

O surgimento de fungos resistentes a fungicidas, que anteriormente eram eficazes no controle de algumas fitomoléstias, vem se tornando um sério problema para a agricultura. Segundo Bergamin Filho et al., (1995), até 1970, os casos de resistência a fungicidas inespecíficos, em condições de

campo, eram menos de 10 gêneros de fungos. No entanto, a partir de 1980, com o uso mais freqüente dos fungicidas sistêmicos, esse número aumentou para aproximadamente 35 gêneros (DELP, 1980).

A resistência de fungos aos benzimidazóis já foi constatada para algumas espécies fúngicas e é resultante da mutação do gene da  $\beta$  tubulina causando alteração na seqüência de aminoácidos que determina ou não a resistência ao fungicida (McKAY & COOK, 1997; McKAY et al., 1998). Essas mutações têm sido observadas na região do códon 198 ou códon 200 (YARDEN & KATAN, 1993), embora muitos outros sítios mutáveis têm sido detectados em laboratório (KOENRAADT et al., 1992).

A causa da resistência dos fungos aos benzimidazóis é decorrente do uso intensivo dos produtos, devido ao fato deles agirem em um sítio específico do metabolismo do patógeno, isto é, atuam somente em um sítio do metabolismo dos microrganismos, por isso não é necessário mutações em vários pontos para que ocorra resistência em indivíduos na população (AZEVEDO, 2006; DELP, 1980)

Alguns patógenos, como *Erysiphe graminis hordei* e *E. graminis tritici* já desenvolveram, de forma gradual, resistência os fungicidas do grupo dos triazóis (BUTTERS et al., 1984; WAARD et al., 1986).

Os triazóis são fungicidas orgânicos e inibidores da síntese de esterol, representando um marco no desenvolvimento dos defensivos agrícolas. Essa importância se deve ao mesmo possuir características especiais, como: elevada ação inibitória sobre a formação de componentes da membrana celular, rápida absorção e translocação pela planta, eficiência em doses pequenas, efeito residual prolongado, ação protetora e curativa sobre o vegetal e moderado risco de resistência, o que favorece seu uso no controle de fungos pertencentes ao grupo dos ascomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos (FORCELINI, 1994; GASSEN, 2011).

As estrobilurinas apresentam um maior risco de resistência pelos patógenos, quando comparados aos triazóis. Provavelmente, isso se deve à sua ação ainda na fase de germinação dos esporos do patógeno, causando interferência na produção de energia celular, bloqueando a transferência de elétrons, impedindo dessa maneira a formação de ATP (SARTORI; VINCELLI, 2007). Sendo assim, devem-se adotar medidas para preservar os



benefícios que eles oferecem por um maior tempo possível, como: utilizar fungicidas com diferentes princípios ativos e sempre associar o controle químico ao cultural (uso de sementes saudáveis, eliminação de restos culturais e plantios em áreas indenizadas) biológico (por meio de microrganismos antagonistas, como o *Trichoderma* spp) e utilização de cultivares resistentes.

Alguns patógenos de grande importância para a agricultura já desenvolveram resistência a diferentes princípios ativos de fungicidas, dentre os quais: *Botrytis cinerea*, *Erysiphe graminis*, *Mycosphaerella fijiensis*, *M. musicola*, *Phytophthora infestans*, *Plasmopara viticola*, *Venturia inaequalis*, *V. nashicola*, *M. fructicola* e *Colletotrichum lindemuthianum* (BERMEJO et al., 2000; ISHII, 2004).

A fungitoxicidade é fator inerente a uma determinada substância química, o qual promove toxicidade aos fungos em baixas concentrações (REIS et al., 2007). Já a toxicidade é a capacidade da substância química em causar um efeito nocivo sobre um determinado organismo, alterando funções ou o levando à morte, em função de seu grau de exposição (OGA et al., 2008).

Existem algumas metodologias descritas na literatura para avaliar a fungitoxicidade de uma substância química (GEORGOPOULOS, 1982; RUSSEL, 2004; EDGINGTON, 1971), as quais, por meio de ensaios *in vitro* ou *in vivo*, objetivam o estudo da sensibilidade de um patógeno frente a um fungicida ou à aquisição de resistência (RUSSEL, 2004).

A prática pelo controle do mofo-cinza, utilizando fungicidas, provavelmente poderá diminuir a incidência dessa moléstia, contribuindo para o aumento da produtividade da mamoneira. Assim, o objetivo deste trabalho foi testar diferentes fungicidas *in vitro*, avaliando a sensibilidade micelial do *A. ricini*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O isolado de *A. ricini* (CMM-1214), utilizado no trabalho foi concedido pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, localizada em Recife – Pernambuco. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia

da Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), localizada em Cruz das Almas – Bahia.

Os fungicidas utilizados nos experimentos e suas respectivas características são listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Fungicidas testados quanto à eficiência *in vitro* para o controle de *Amphobotrys ricini*. Cruz das Almas, 2009.

Ingrediente Ativo (I.a.)	Grupo Químico	Classe	Formulação*	Concentração (I.a.)
Azoxistrobina	Estrobilurina	Sistêmico	WG	500 g/kg
Procimidone	Dicarboximida	Sistêmico	WP	500 g/kg
Tiofanato metílico	Benzimidazol	Sistêmico	WP	700 g/kg
Tebuconazol	Triazol	Sistêmico	CE	200 g/l
Difenoconazol	Triazol	Sistêmico	CE	250 g/l
Propiconazol	Triazol	Sistêmico	CE	250 g/l
Folpet	Dicarboximida	Contato	WP	500 g/kg
Iprodiona	Dicarboximida	Contato	WP	500 g/kg
Captana	Dicarboximida	Contato	SC	500 g/kg
Dimetomorfe	Morfilina	Contato	WP	500 g/kg

\* WG = Granulado dispersível em água; WP = Pó molhável; CE = Concentrado emulsionável; SC = Suspensão concentrada.

Para avaliar a sensibilidade micelial de *A. ricini* a fungicidas, incorporaram-se os mesmos no meio BDA (batata-dextrose-ágar) fundente, conforme metodologia descrita por Caldari Júnior (1998). Após a multiplicação do fungo durante 15 dias, foram transferidos discos de micélio do isolado, com 0,7 cm de diâmetro, para o centro das placas de Petri com meio BDA acrescido dos fungicidas nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . As testemunhas consistiram de discos de micélio colocados em meio BDA sem fungicidas. A incubação ocorreu em BOD, sob condições controladas, temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas (Figura 1).



**Figura 1.** Vista geral das condições de incubação do *Amphobotrys ricini* em BOD, com controle de temperatura (25°C) e fotoperíodo de (12h claro e 12h escuro).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial de 10 fungicidas x 4 concentrações + testemunha e 5 repetições. Utilizou-se todos os fungicidas em 4 concentrações (1, 10, 100 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

A avaliação foi realizada diariamente e terminou quando a colonização das placas testemunhas atingiu o diâmetro total das placas (9,7 cm). Por meio de uma régua, mediram-se, em dois sentidos perpendiculares, os diâmetros (cm) da colônia para cada tratamento com fungicida, comparando-os ao crescimento médio das testemunhas. Assim, calculou-se o valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (MENTEN et al., 1976).

$$\text{PIC} = \frac{\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento tratamento}}{\text{Crescimento da testemunha}} \times 100$$

Para a análise estatística utilizou-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2001), em que as medias dos fungicidas foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott em 5% de probabilidade. Os dados obtidos,

expressos em termos percentuais foram transformados em  $\arcsin \sqrt{x/100}$  e posteriormente submetidos a uma análise de regressão, onde se correlacionou a porcentagem de inibição com o logaritmo da concentração de cada fungicida, obtendo-se o valor aproximado da dose efetiva mediana ( $ED_{50}$ ) (concentração do ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do isolado). O termo  $ED_{50}$  corresponde à dose efetiva ou eficaz que promove um efeito desejado (ou grau de resposta) em 50% dos microrganismos submetidos ao ensaio experimental (SILVA, 2006; OGA et al., 2008).

Os fungicidas foram classificados em quatro categorias de eficiência de acordo com a escala de Edgington et al. (1971) adaptada, em que:

- i)  $ED_{50} < 1 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ : alta fungitoxicidade (AE) e alta sensibilidade (AS)
- ii)  $ED_{50} 1 - 10 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ : moderada fungitoxicidade (ME) e moderada sensibilidade (MS)
- iii)  $ED_{50} 10 - 50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ : baixa fungitoxicidade (BE) e baixa sensibilidade (BS)
- iv)  $ED_{50} > 50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ : não fungitóxico (I) e insensibilidade (IS).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da sensibilidade micelial de *A. ricini* a fungicidas encontram-se na Tabela 2. O isolado apresentou alta sensibilidade aos princípios ativos: Azoxistrobina, Procimidone, Iprodiona e Captana, com ED<sub>50</sub> (concentração suficiente para inibir 50% do crescimento micelial) menor que 1 µg.ml<sup>-1</sup>.

Resultados semelhantes foram encontrados por Kimura (2001) com os fungicidas Tebuconazole, Propiconazole e Imibendazole, com ED<sub>50</sub> menor que 1 µg.ml<sup>-1</sup>.

**TABELA 2.** Equações de regressão, valores médio de ED<sub>50</sub> (concentração suficiente para inibir 50% do crescimento micelial), eficiência e sensibilidade de *Amphobotrys ricini* a fungicidas. Cruz das Almas, 2009.

Fungicidas	Equações da Regressão	R <sup>2</sup>	ED <sub>50</sub>	Eficiência <sup>1)</sup>	Sensibilidade <sup>2)</sup>	CMI <sup>3)</sup>
Azoxistrobina	Y = 61,946 + 3,30324 log (x)	97,81%	< 1	AE	AS	<1
Procimidone	Y = 79,644 + 3,51735 log (x)	84,76%	< 1	AE	AS	<1
Tiofanato metílico	Y = 100	-	-	-	-	<1
Tebuconazol	Y = 100	-	-	-	-	<1
Difenoconazol	Y = 100	-	-	-	-	<1
Propiconazol	Y = 100	-	-	-	-	<1
Folpet	Y = 39,215 + 6,43190 log (x)	93,28%	47,51	BE	BS	1 - 10
Iprodiona	Y = 51,003 + 8,44833 log (x)	85,28%	< 1	AE	AS	1 - 10
Captana	Y = 82,235 + 3,20726 log (x)	70,65%	< 1	AE	AS	<1
Dimetomorfe	Y = 29,923 + 7,48420 log (x)	91,38%	481,49	I	IS	10 - 100

1) AE (alta fungitoxicidade), BE (baixa fungitoxicidade), I (não fungitóxico)

2) AS (alta sensibilidade), BS (baixa sensibilidade), IS (insensibilidade)

3) Intervalo da concentração mínima inibitória

Concordando com os resultados, Silva & Coelho (2003), avaliando o efeito dos fungicidas, Procimidone e Thiabendazole sobre o crescimento micelial de dois isolados de *Botrytis cinerea*, causador do tombamento de mudas de *Eucalyptus* sp, observaram que dois isolados, em todas as doses testadas (meia dose, dose inteira e dose dupla), tiveram seu crescimento micelial controlado, não apresentando resistência.

Para Ishii (2004), o fungicida Azoxistrobina é altamente eficaz contra uma gama de patógenos fúngicos em várias culturas. Eles inibem o transporte de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1 na cadeia respiratória mitocondrial, influenciando na produção de ATP. Esta forma de ação pode prevenir ou retardar o desenvolvimento de microrganismos patogênicos

resistentes a outros fungicidas (BUBICI et al., 2006).

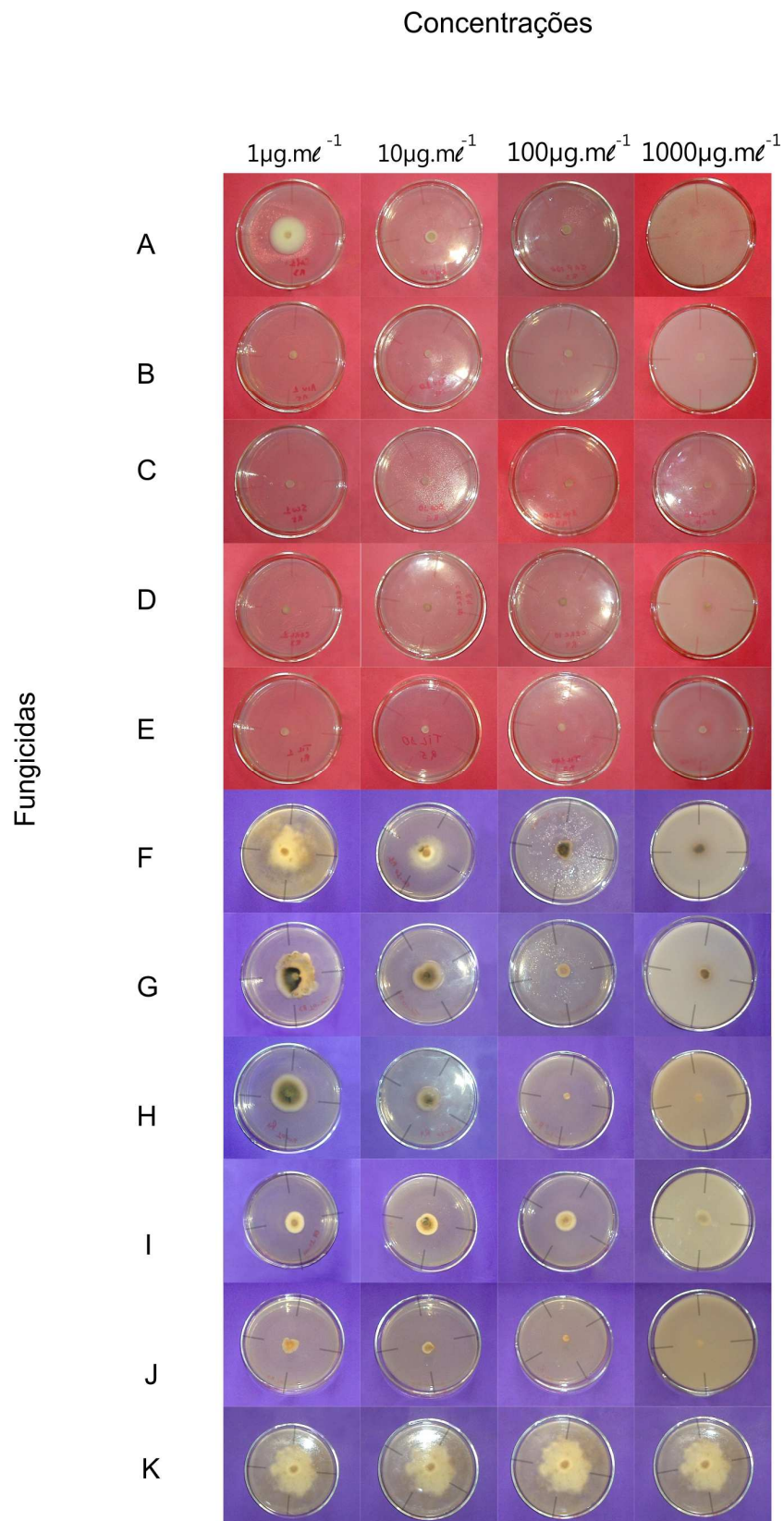
Dentre os fungicidas de contato avaliados, o princípio ativo Captana foi o que apresentou a maior potência, haja vista que sua  $ED_{50}$  foi menor que  $1 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ . Todos os fungicidas sistêmicos avaliados controlaram satisfatoriamente o mofo-cinzento, e para todas as concentrações testadas, o fungicida Procimidone foi mais eficiente que o Azoxistrobina, diferindo significativamente deste a nível de 5% de probabilidade. Resultado semelhante foi encontrado por Chagas (2009), trabalhando com o *A. ricini*, em que foi constatado que o fungicida Procimidone foi mais fungitóxico que o Azoxistrobina e que diferiram significativamente entre si em nível de 5 % de probabilidade para as concentrações de 1, 10, 100 e 1000  $\mu\text{L/L}$ .

Para os fungicidas Tiofanato metílico, Tebuconazol, Difenconazol e Propiconazol a concentração mínima inibitória (CMI) foi menor que  $1\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ , porém não foi possível determinar a  $ED_{50}$ , já que para todas as concentrações testadas ocorreu inibição de 100% de crescimento micelial do patógeno (Figura 2.). Porém, pode-se concluir que os mesmos foram altamente eficientes no controle do *A. ricini*. Esse mesmo fato foi constatado por Chagas (2009) para os fungicidas Tebuconazol, Carbendazim, Tiofanato metílico e Iprodione.

Sartori (2007) trabalhando com o controle químico do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, observou alta sensibilidade de isolados ao propiconazol, em que a  $ED_{50}$  foi menor que  $1 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ .

Diferentes resultados foram obtidos por Kimura (2001), observando insensibilidade de isolados de *Botrytis cinerea* ao fungicida Tiofanato metílico na concentração de 1000 mg/L, demonstrando alta resistência deste patógeno.

O fungicida Dimetomorfe apresentou a  $ED_{50} > 50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ , comportando-se como Não fungitóxico. Resultado semelhante foi encontrado por Yamashita (1997) para o fungicida Imibenconazole, fato este que poderá ser a causa para seleção de linhagens resistentes do fungo, principalmente em sistemas de produção intensivos



**Figura 2.** Crescimento micelial de *Amphobotrys ricini* em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sob diferentes concentrações dos fungicidas: Captana (A), Tebuconazol (B), Difenconazol (C), Tiofanato metílico (D), Propiconazol (E), Folpet (F), Dimetomorfe (G), Iprodiona (H), Azoxistrobina (I), Procimidone (J) e testemunha (K).

As porcentagens de inibição (PICs) para os dez fungicidas testados *in vitro*, em quatro concentrações, para a cepa de *A. ricini*, estão demonstradas na Tabela 3. Para os princípios ativos Azoxistrobina, Folpet, Dimetomorfe, Iprodiona, Procimidone e Captana, houve interação significativa entre o isolado e as quantidades testadas, evidenciando diferença na sensibilidade do patógeno frente a cada produto em suas diferentes concentrações.

**Tabela 3.** Porcentagens da inibição do crescimento micelial de *Amphobotrys ricini* para diferentes concentrações de fungicidas. Cruz das Almas, 2009.

Tratamentos ----- Ingrediente Ativo (I.A.)	Concentração ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )			
	1	10	100	1000
	<b>PICs (%)</b>			
<b>Azoxistrobina</b>	61,25 c	71,38 c	75,59 b	85,20 b
<b>Procimidone</b>	75,92 b	91,25 b	100,00 a	100,00 a
<b>Tiofanato metílico</b>	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
<b>Tebuconazol</b>	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
<b>Difenoconazol</b>	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
<b>Propiconazol</b>	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
<b>Folpet</b>	37,43 d	53,03 d	76,18 b	79,08 b
<b>Iprodiona</b>	42,37 d	78,36 c	100,00 a	100,00 a
<b>Captana</b>	76,45 b	96,80 a	100,00 a	100,00 a
<b>Dimetomorfe</b>	31,97 d	49,01 d	54,54 c	87,57 b
<b>CV(%)</b>	<b>6,43</b>			

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott em 5% de probabilidade.

Pelos resultados constatados nesse trabalho, observa-se grande variação na sensibilidade do isolado de *A. ricini* a diferentes grupos químicos de 10 fungicidas, sendo esses resultados importantes para delinear o controle químico do mofo-cinzento da mamoneira, por meio da utilização de fungicidas com diferentes princípios ativos em aplicações alternadas ou em misturas, visando retardar a seleção de isolados resistentes que promoverá eficiência no controle dessa doença; fato este comprovado com os princípios ativos Tebuconazol, Propiconazol, Difenoconazol e Tiofanato metílico.



## CONCLUSÕES

Os fungicidas Azoxistrobina, Procimidone, Iprodiona e Captana, em que a ED<sub>50</sub> foi < 1 µg.ml<sup>-1</sup>, exibem alta fungitoxicidade ao crescimento micelial do *Amphobotrys ricini*.

A cepa de *Amphobotrys ricini* testada apresenta menor sensibilidade ao fungicida Dimetomorfe.

Os fungicidas Tebuconazol, Propiconazol, Difenconazol e Tiofanato metílico conferem maior controle sobre o isolado testado, mesmo não tendo suas ED<sub>50</sub> determinadas.

Os fungicidas sistêmicos são mais eficientes nos controle do mofo-cinzeno que os de contato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, L. A. S. **Proteção integrada de plantas com fungicidas – teoria, prática e manejo**. Disponível em: <http://www.frac-brasil.org.br> Acesso em agosto/2006.

AMORIM NETO, M. S.; ARAÚJO, A. E.; BELTRÃO, N. E. M. Clima e solo. In:\_\_\_\_. **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 1 ed., 2001. Cap.3, p. 63-67.

BELTRÃO, N. E. de M.; MELO, F. de B.; CARDOSO, G. D.; SEVERINO, L. S. **Mamona: árvore do conhecimento e sistemas de produção para o semi-árido brasileiro**. Campina Grande: Embrapa – CNPA. 19 p., 2003 (Embrapa – CNPA. Circular Técnica, 70).

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. São Paulo-SP: Agrônoma Ceres. 2v. 3 ed. 919p. 1995.

BERMEJO, P; GUERRA, J. A. & MARTINEZ, F. Gestion del riesgo de resistencia de patógenos a los fungicidas. In: PASCUALENA, J.; RITTER, E.

(ed). **Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Investigación y Desarrollo em Patata.**, Vitória-Gastéis, Espanha, p. 493-503, 2000.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: The assessment of risk Frac Monograph N.2**, Global Crop Protection Federation, Brussels, 1998. 48p.

BUBICI, G.; AMENDUNI, M.; COLELLA, C.; D'AMICO, M.; CIRULLI, M. **Efficacy of acibenzolar-S-methyl and two strobilurins, azoxystrobin and trifloxystrobin, for the control of corky root of tomato and verticillium wilt of eggplant**, Crop Protection, v.25, 2006 p.814-820.

BUTTERS, J.; CLARK, L.; HOLLOMON, D. W. Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in barley powdery mildew. **Med. Fac. Landbouww-Rijksuw**, 49: 143-151, 1984.

CALDARI JÚNIOR, P. **Caracterização morfológica, esporulação e sensibilidade a fungicidas de isolados de *Botrytis cinerea* de flores e plantas ornamentais**. 1998. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CHAGAS, H. A. **Controle de mofo-cinzeno (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.) por métodos químicos biológicos e com óleos essenciais**. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp – BOCATU – São Paulo 2009.

CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Aplicação Industrial do óleo. AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 89-120.

COMPÊNDIO de defensivos agrícola: **Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 6. ed. São Paulo: Organização Andrei, 1999. 672 p.

DELP, C. J. Coping with resistance to plant disease control agent. **Plant Disease**, 64: 652-657, 1980.

DRUMMOND, O. A.; COELHO, S. J. Doenças da mamoneira. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 7, n. 82, p. 38-42, 1981.

EDINGTON, L. V.; KHEN, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, p.42-44, 1971.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar**: versão Windows 5.3. Lavras: UFLA, 2001.

FORCELINI, C. A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. Triazoles. **RAPP**, v.2, p. 335-355, 1994.

GASSEN, D. N. **Oídio e míldio em soja**. Cooplantio. Disponível em: <<http://www.planetasoja.com/trabajos/trabajos800.php?id1=5402&publi=&idSec=10&id2=5403>>. Acesso em: 28 set. 2011.

GEORGOPOULOS, S. G. Detection and measurement of fungicide resistance. In: DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S. G. **Fungicide resistance in crop protection**. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982, p. 24-31.

GONÇALVES, R. D. O. Mofo cinzento da mamoneira. **O Biológico**, v.11, p.232-235, 1936.

IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística do Produção Agrícola**. 2010/2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm> >. Acesso em 12 jan. 2012.

IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística do Rendimento Agrícola**. 2010/2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em 12 jan. 2012.

ISHII, H., Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi, **Journal of General Plant Pathology**, v.70, 2004, p.379-381.

KIMATI, H. Doenças da mamoneira - *Ricinus communis* L. In: GALLI, F. (coord.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 347-351.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia 3**. ed São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p. 46-95.

KIMURA, M.R. Sensibilidade in vitro de *Botrytis cinerea* a fungicidas. **Ciência Agrotécnica**. Lavras v.25 n.5 p. 1150-1160, 2001.

KOENRAADT, H.; SOMMERVILLE, S. C.; JONES, A. L.. Characterization of mutations in the  $\beta$  tubulin gene of benomyl resistant field strains of *Venturia inaequalis* and the other plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, v. 82, p. 1348-1354, 1992.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. D. Doenças e seu controle. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.

MASSOLA JUNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P. **Doenças da mamoneira**. In: KIMATI, H.,[etl al.] **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. V.2, P.445-447.

McKAY, G. J.; COOK, L. R. A PCR – based method to characterize and identify benzimidazole resistance in *Helminthosporium solani*. **FEMS Microbiology Letters**, 152, p. 371-378, 1997.

McKAY, G. J.; EGAN, D.; MORRIS, E. & BROWN, A. E. Identification of benzimidazole resistance in *Cladobotrium dendroides* using PCR based method. **Mycological Research**, 102 (6): 671-676, 1998.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. **Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophominia phaseolina* (Tass) Goid *in vitro***. *Fitopatologia Brasileira*, v.1, n.2, p.57-66, 1976.

NÓBREGA, M. B. M.; ANDRADE, F. P.; SANTOS J. W.; MILANI, M. LEITE, E.J. Germoplasma, In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Algodão, 2001. cap. 11., p. 257-281.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. Londres: McMillan, 1979. 839 p.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. ed. São Paulo : Atheneu Editora, 2008.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A.; REIS, A. C. **Manual de fungicidas: guia para o controle de doenças de plantas**. 5 ed. Passo Fundo. Ed. Universidade de Passo Fundo, 2007. 153 p.

RUSSEL, P. E. **Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management**. Monograph nº3, Cambridge. 2004.

SARTORI, J. E. **Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp – BOTUCATU –São Paulo 2007.

SEAGRI. **Estimativa da Safra 2008/2009 por cultura**. Salvador, BA, 2009. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/estimativasafra cultura.pdf>>. Acesso em 10 nov. 2010.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2006.

SILVA, J.C.M.; COELHO, L. Resistência a fungicidas de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, fungo causador do tombamento em mudas de *Eucalyptus* sp em viveiros florestais. **Ciência Florestal**, v.13, n.2, p. 27-36, 2003.

VINCELLI, P. QoI (Strobilurin) Fungicides: Benefits and Risks. **The Plant Health Instructor**. Updated, 2007.

WAARD, M. A. de; KIPP, E. M. C.; HORN, N. M.; NISTELROOY, J. G. M. Variation in sensitivity to fungicides wich inhibit ergosterol biosynthesis in wheat powdery mildew. **Netherlands Journal of Plant Pathol.**, 92: 21-23, 1986.

YAMASHITA, R. T.; KIMURA, M. K.; GUALBERTO, B. D.; CASTRO, H. A.; MILANI, D.; LEITE, E. A. G.; CARDOSO, M. A. F. C. **Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Botrytis* sp., causador do mofo-cinzeno de estacas e micro estacas de eucalipto (*Eucalyptus* sp), por fungicidas.** *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.22, p. 320, 1997.

YARDEN, O.; KATAN, T. Mutations leading to substitutions of aminoacids 198 and 200 of beta-tubulin that correlated with benomyl resistance phenotypes of field strains of *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, 83, p. 1478-1483, 1993.

## **CAPÍTULO 2**

### **SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA A FUNGICIDAS EM TELADO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## **SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA A FUNGICIDAS EM TELADO**

**RESUMO:** Grande interesse tem sido verificado com relação à mamoneira (*Ricinus communis* L.) com seu uso na indústria de cosméticos, área médica e produção de biodiesel. Um dos grandes problemas no manejo dessa oleaginosa refere-se à escassez de informações sobre a seletividade de fungicidas no controle do mofo-cinzento. Com o objetivo de avaliar o comportamento de genótipos de mamoneira quanto à sensibilidade ao tratamento químico em estágio de muda sobre algumas características agrônômicas, conduziu-se o presente trabalho em telado pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições, em esquema fatorial de  $(5 \times 2 + 2) \times 4$ . Em função do microclima favorável ao surgimento natural do patógeno, foram avaliados os seguintes caracteres: altura de plantas, diâmetro de caule, massa do racemo por planta, número de grãos por planta, massa do fruto por planta, massa de grãos por planta e severidade da doença. Os tratamentos químicos reduziram a severidade do *Amphobotrys ricini* e promoveram um maior incremento nos caracteres diâmetro de caule e altura de plantas para os genótipos avaliados.

**Palavras-chave:** Fungicidas, *Amphobotrys ricini* e *Ricinus communis* L.



## **SENSIBILITY OF CASTOR BEAN GENOTYPES TO FUNGICIDES IN GREENHOUSE**

**ABSTRACT:** The castor bean plant (*Ricinus communis* L.) has attracted great interest in relation to its use in cosmetics, medicine and biodiesel production. A major problem in the management of this oilseed refers to the scarcity of information on the selectivity of fungicides to control gray mold. In order to evaluate the behavior of castor bean genotypes for sensitivity to chemical treatment in seedling stage regarding some agronomic characteristics, we conducted this study in a greenhouse belonging to the Nucleus of Genetic Improvement and Biotechnology (NBIO) of the Center for Agricultural Environmental and Biological Sciences (CCAAB) at the Federal University of the Bahian Reconcave (UFRB). The experimental design consisted of randomized blocks with four repetitions in a factorial scheme  $(5 \times 2 + 2) \times 4$ . In a microclimate favorable to the natural emergence of the pathogen, we assessed the following traits: plant height, stem diameter, mass raceme per plant, number of grains per plant, fruit mass per plant, grain weight per plant and severity of disease. The chemical treatments used reduced the severity of *Amphobotrys ricini* and promoted a greater increase in the stem diameter and plant height of the evaluated genotypes.

**Key Words:** Fungicides, *Amphobotrys ricini* and *Ricinus communis* L.

## INTRODUÇÃO

Com o crescente interesse por fontes alternativas de energia, principalmente com ênfase naquelas que contribuem para redução da emissão de gás carbônico para a atmosfera, houve uma ascensão da ricinocultura no cenário mundial. O uso de biocombustíveis como o carvão vegetal, óleo de dendê e biodiesel obtido por meio da esterificação de óleos vegetais, é uma alternativa viável, que participa no cenário econômico, social e ambiental (URQUIAGA et al., 2005).

O biodiesel é considerado combustível que produz queima limpa, proveniente de fontes naturais renováveis como os vegetais. Reduz até 78% as emissões de poluentes, como o dióxido de carbono, grande responsável pelo efeito estufa. Logo, a produção do biodiesel é uma excelente alternativa, uma vez que o Protocolo de Kyoto estabelece níveis limitados para emissão de gases na atmosfera até 2012 (FRANCIS et al., 2005).

Porém, de acordo com Freire *et al.* (2001), mesmo com toda sua importância, a situação da ricinocultura brasileira inspira muita atenção, pois os produtores não dispõem de variedades melhoradas que sejam resistentes às doenças associado a sistemas racionais de cultivo que possibilitem ao mesmo um retorno satisfatório do capital e mão-de-obra disponibilizados.

O melhoramento genético vegetal é uma alternativa que busca a obtenção de materiais que possuam características agronômicas superiores às de seus genitores. Dentre essas se destacam aumento de produtividade, precocidade de desenvolvimento e resistência às moléstias, as quais serão viabilizadas por meio da seleção de genótipos superiores. Porém, mesmo com o auxílio do melhoramento no controle do mofo-cinzento, existem limitações, como fonte de resistência para a doença e tempo necessário para os cruzamentos e seleção.

O manejo integrado de doenças é uma estratégia que envolve o uso simultâneo ou seqüencial de diversas medidas de controle (genético, químico, biológico, físico, mecânico, legislativo e cultural) utilizadas para reduzir as perdas ocasionadas com o surgimento de doenças a limites toleráveis, de forma contínua, econômica e ambientalmente correta na condução da cultura da mamoneira (LIMA *et al.* 2001).

De acordo com Savy Filho (2005), a sanidade da mamoneira pode ser obtida, preventivamente, por meio da rotação de culturas, evitando-se locais com histórico de patógenos de solo e por meio do tratamento de sementes com fungicidas, utilizando produtos com princípio ativo à base de Iprodione e Thiram; os quais conferem boa proteção à germinação e reduzem o inóculo inicial do patógeno.

O tratamento químico de sementes da mamoneira, objetivando a redução ou eliminação do inóculo de *A. ricini*, é uma estratégia restrita à prevenção da introdução do fungo em novas áreas de cultivo, pois o mesmo encontra-se amplamente distribuído em regiões produtoras, em que sua dispersão anemófila corrobora bastante para isso. O controle químico pode ser utilizado em condições climáticas propícias ao desenvolvimento desta patologia; porém, ainda não existem produtos registrados para o controle do mofo-cinzento da mamoneira (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011; CARTAXO et al., 2004).

Brent & Hollomon (1998) afirmam que os fungicidas são importantes ferramentas para o controle das principais doenças das plantas em sistemas intensivos de produção de culturas. Porém, Kimati (1995) alerta quanto ao uso indiscriminado de fungicidas, pois o mesmo poderá causar adaptação dos fungos, aumentando sua resistência aos fungicidas.

O surgimento de fungos resistentes a fungicidas, que anteriormente eram eficazes no controle de algumas fitomoléstias, vem se tornando um sério problema para a agricultura. Segundo Bergamin Filho et al., (1995), até 1970, os casos de resistência a fungicidas inespecíficos, em condições de campo, eram menos de 10 gêneros de fungos. No entanto, a partir de 1980, com o uso mais freqüente dos fungicidas sistêmicos, esse número aumentou para aproximadamente 35 gêneros (DELP, 1980).

Dessa forma, existe uma escassez de pesquisas sobre o tratamento químico da mamoneira, haja vista que não existem produtos químicos recomendados para tal prática. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação dos fungicidas através da severidade de *A. ricini* e dos caracteres agronômicos da mamoneira.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de telado, na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), localizada em Cruz das Almas-BA.

Segundo Nacif et al. (2008), o município localiza-se na microrregião geográfica de Santo Antônio de Jesus, região econômica do Recôncavo Sul. Situada no planalto pré-litorâneo, nas coordenadas geográficas 12°40'39" de latitude sul e 39°06'23" de longitude oeste de Greenwich, Cruz das Almas apresenta clima tropical quente e úmido (Am), segundo a classificação de Köppen e altitude de 220 m acima do nível do mar. Com pluviosidade média anual de 1.240mm, com variações entre 900 e 1.300mm, sendo os meses de março a agosto os mais chuvosos e de setembro a fevereiro os mais secos, com temperatura média anual de 24°C (EMBRAPA, 2010).

Tendo como referência os resultados obtidos nas observações *in vitro*, em que foram testados 10 fungicidas para controlar o crescimento micelial do *A. ricni*, optou-se por utilizar 5 princípios ativos (Azoxistrobina, Iprodiona, Procimidone, Tebuconazol e Tiofanato metílico), devido a eficiência dos mesmos no controle desse fungo e em função desses já serem anteriormente descritos em trabalhos com a cultura da mamoneira (BEZERRA, 2007; CHAGAS, 2009; BEZERRA et al., 2010).

A fim de avaliar o comportamento da mamoneira em relação ao mofo-cinzento, utilizaram-se os genótipos Mirante 10 e Sipeal 28, haja vista que os mesmos são suscetíveis e resistentes a esta enfermidade, respectivamente. As sementes utilizadas foram oriundas do banco de germoplasma da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) de Itaberaba-BA.

De acordo com Beltrão (2004), o genótipo Sipeal 28 teve seu melhoramento genético iniciado em Cruz das Almas, na década de 1960, pelo antigo Instituto de Pesquisa Agropecuária do Leste (Ipeal). Em função dessas pesquisas terem sido conduzidas nesta região, isto provavelmente pode ter influenciado em sua boa produtividade e maior resistência ao mofo-cinzento, haja vista que o ambiente exerce grande influência sobre potencial

genético das culturas. Ao contrário, em função da arquitetura compactada de seus racemos, promovendo a formação de um micro clima favorável à multiplicação e colonização dos esporos de *A. ricini*, associado a um ambiente de alta umidade relativa do ar, a exemplo de Cruz das Almas, o genótipo Mirante 10 exibiu alta suscetibilidade ao mofo-cinza, o que foi mensurado devido a um baixo potencial produtivo e elevado número de racemos abortados (LIMA et al., 2010; BAHIA et al., 2008).

Em função do baixo percentual de germinação dos genótipos (Mirante 10 e Sipeal 28), foram semeadas 1000 sementes de cada genótipo em sacos plásticos de 20x10 cm. Após germinação, as mudas foram irrigadas diariamente a fim de manter umidade adequada e dar suporte ao seu crescimento.

Aos 59 dias após a semeadura, foram escolhidas as plantas mais uniformes e transplantadas para vasos plásticos de 10 litros com substrato vegetal, oriundo do campus da UFRB

Em delineamento de blocos ao acaso foram dispostos 12 tratamentos com quatro repetições, sendo cada vaso considerado uma parcela experimental. Utilizou-se o esquema fatorial de  $(5 \times 2 + 2) \times 4$ , constando de 05 fungicidas, 02 genótipos e 02 testemunhas absolutas, totalizando 48 parcelas experimentais (Figura 1.).



**Figura 1.** Experimento com mamoneira em nível de telado, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB, em Cruz das Almas – BA.

Após o transplântio, procedeu-se à avaliação das mudas aos 7, 16, 25, 34 e 43 dias, utilizando-se paquímetro digital e trena milimetrada, com relação aos seguintes caracteres: altura da parte aérea (colete ao ápice) e diâmetro do colete (largura do caule a dois centímetros e meio do solo).

Posteriormente, após emissão da inflorescência, as plantas foram pulverizadas por três vezes, com auxílio de um pulverizador manual, com intervalo de três dias para cada aplicação, de acordo com a concentração do produto comercial (P.C.) determinada para cada fungicida em outras culturas, como: café (*Coffea arabica* L.) e citros (*Citrus* spp) (Figura 2.).



**Figura 2.** Aplicação de fungicidas em inflorescência de mamoneira a nível de telado, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB, em Cruz das Almas – BA.

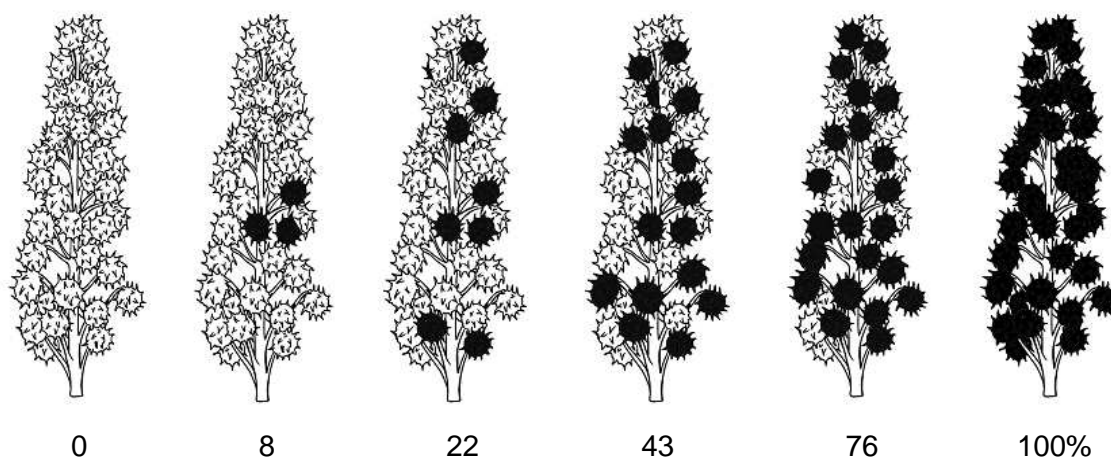
Os fungicidas aplicados foram: Azoxistrobina (0,16 g/l), Tiofanato metílico (0,7 g/l), Tebuconazol (10 g/l), Iprodiona (2,0 g/l) e Procimidone (2,0 g/l) (Tabela 1.).

**Tabela 1.** Fungicidas testados quanto a sensibilidade da mamoneira a nível de telado, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2010.

Ingrediente Ativo (I.a.)	Grupo Químico	Classe	Formulação *	Concentração (I.a.)	Concentração (P.c.)
Azoxistrobina	Estrobilurina	Sistêmico	WG	500 g/kg	0,16 g/l
Procimidone	Dicarboximida	Sistêmico	WP	500 g/kg	2,0 g/l
Tiofanato metílico	Benzimidazol	Sistêmico	WP	700 g/kg	0,7 g/l
Tebuconazol	Triazol	Sistêmico	CE	200 g/l	10 g/l
Iprodiona	Dicarboximida	Contato	WP	500 g/kg	2,0 g/l

\* WG = Granulado dispersível em água; WP = Pó molhável; CE = Concentrado emulsionável; SC = Suspensão concentrada.

Após aplicação dos fungicidas, os mesmos caracteres agronômicos foram avaliados aos 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 e 60 dias após a aplicação (DAA) e ao final do ciclo da cultura, obteve-se a massa do racemo dos genótipos. Para a determinação da porcentagem de severidade dos racemos, os frutos infectados e sadios foram contados, estimando-se dessa forma o valor da área lesionada, e conferindo com os 6 níveis de severidade (0, 8, 22, 43, 76 e 100 %), Chagas (2009), como mostra a Figura 3.



**Figura 3.** Escala diagramática para avaliação dos sintomas causados pelo *Amphobotrys ricini* em racemos de mamoneira, indicando os níveis de 0, 8, 22, 43, 76 e 100% de danos (Chagas, 2009).

Depois de obtidas, as médias de severidade foram transformadas em  $\text{arc sen } \sqrt{x}/100$ , sendo os valores médios ordenados segundo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.

Foram realizadas colheitas periódicas, com o objetivo de evitar perdas com deiscência do genótipo mais precoce, porém, a colheita final foi realizada na mesma época para todo o experimento. Após secagem ao sol em terreiro, os frutos foram separados dos racemos e obtido o valor da massa do fruto por planta em grama (MFP). As sementes que não foram separadas dos frutos durante a deiscência, foram removidas com auxílio de uma tesoura de poda manual. Após pesadas em balança digital e contadas, foram determinados a massa de grãos por planta em grama (MGP) e número de grãos por planta (NGP), respectivamente. Ao final, se determinou a massa do racemo (MR) em Kg em função da MGP.

Após tabulado os caracteres, as médias da altura da parte aérea e diâmetro do coleto foram submetidos à análise de variância e análise de regressão.

Os valores referentes ao MFP, NGP, MGP e MR foram submetidos a uma análise de variância, sendo os valores médios ordenados segundo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Todas as análises foram conduzidas com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2001).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Avaliação da severidade de *A. ricini* em telado**

As avaliações duraram 10 semanas, em que se avaliou o controle dos fungicidas sobre o mofo-cinzento para os genótipos Mirante 10 e Sipeal 28, suscetíveis e resistentes a esta moléstia, respectivamente.

Com relação aos genótipos Mirante 10 e Sipeal 28, foi constatado que durante as cinco primeiras semanas de avaliação, o nível de infecção natural causado pelo mofo-cinzento foi baixo e que os tratamentos químicos controlaram satisfatoriamente a moléstia, porém, não diferiram estatisticamente entre si. A escala de notas evidenciou que o genótipo



Mirante 10 foi o mais suscetível ao mofo-cinzento quando comparado ao Sipeal 28 (Tabela 2 e 3), haja vista que o grau de infecção para o genótipo mais resistente atingiu 100% (testemunha) apenas na nona semana, após aplicação dos fungicidas.

**Tabela 2.** Avaliação da severidade ao mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) no genótipo Mirante 10, submetido a diferentes tratamentos com fungicidas, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2010.

Semana	Mirante 10					
	Azoxistrobina	Iprodiona	Procimidone	Tebuconazol	Tiofanato metílico	Testemunha
1	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
2	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	15,00 bB
3	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	32,50 cB
4	4,00 aA	4,00 aA	0,00 aA	2,00 aA	0,00 aA	76,00 dB
5	11,50 bA	11,50 bA	8,00 bA	6,00 bA	4,00 aA	94,00 eB
6	27,25 cA	27,25 cA	15,00 bA	18,50 cA	15,00 bA	100,00 eB
7	51,25 dB	43,00 dB	22,00 cA	27,25 cA	32,50 cB	100,00 eC
8	51,25 dA	67,75 eA	43,00 dA	51,25 dA	51,25 dA	100,00 eB
9	82,00 eC	88,00 fC	51,25 dA	76,00 eB	67,75 eB	100,00 eD
10	88,00 eB	94,00 fC	76,00 eA	88,00 fB	82,00 fA	100,00 eC

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott em 5% de probabilidade.

Para o genótipo Mirante 10, a partir da quarta semana de avaliação, foi identificada a ordem da eficiência dos tratamentos químicos, em que os princípios ativos Procimidone (0,00%) e Tiofanato metílico (0,00%) promoveram o melhor controle do mofo-cinzento, sendo que os mesmos não diferiram significativamente dos demais fungicidas, exceto da testemunha (76,00%) (Tabela 2.).

Praticamente não ocorreu alteração da severidade para a moléstia entre os tratamentos na quinta semana para o genótipo Mirante 10 (Tabela 2.). Os tratamentos com Procimidone (8,00%), Tebuconazol (6,00%) e Tiofanato metílico (4,00%) foram os mais eficientes, porém não diferiram significativamente do Azoxistrobina (11,50%) e Iprodiona (11,50%), sendo todos estatisticamente diferentes da testemunha (94,00%).

No genótipo Sipeal 28, a partir da sexta semana (Tabela 3.), foi possível observar quais tratamentos seriam mais efetivos no controle do

mofo-cinzento. O fungicida Tiofanato metílico (4,00%) promoveu um maior controle sobre a infecção dos racemos, assim como tinha feito com o genótipo Mirante 10, demonstrando uma maior fungitoxicidade em relação aos demais princípios ativos testados.

**Tabela 3.** Avaliação da severidade ao mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) no genótipo Sipeal 28, submetido a diferentes tratamentos com fungicidas, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2010.

Semana	Sipeal 28					
	Azoxistrobina	Iprodiona	Procimidone	Tebuconazol	Tiofanato metílico	Testemunha
1	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
2	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
3	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
4	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	4,00 aA
5	2,00 aA	4,00 aA	2,00 aA	2,00 aA	0,00 aA	15,00 bB
6	11,50 bB	15,00 bB	11,50 bB	11,50 bB	4,00 aA	34,25 cC
7	22,00 bA	32,50 cA	18,50 bA	23,75 cA	15,00 bA	67,75 dB
8	37,75 cA	59,50 dB	32,50 cA	37,75 dA	32,50 cA	88,00 eC
9	59,50 dA	67,75 dA	43,00 cA	59,50 eA	51,25 dA	100,00 fB
10	88,00 eC	88,00 eC	59,50 dA	73,75 fB	82,00 eB	100,00 fD

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott em 5% de probabilidade.

Para os fungicidas sistêmicos avaliados, observou-se que os mesmos promoveram um maior controle do mofo-cinzento para os genótipos avaliados (Tabelas 2 e 3); fato este que pode ser explicado em função de sua maior especificidade e poder residual dentro dos tecidos da planta. Porém, isso não ocorreu com o fungicida de contato Iprodiona, sendo que o mesmo em função de seu baixo poder residual proporcionou uma maior infecção dos racemos, alcançando valor de 94% para o genótipo Mirante 10 na última semana de avaliação, diferindo significativamente dos demais princípios ativo testados.

Porém, resultado diferente foi obtido por Chagas (2009), em que durante as três semanas de avaliação para a severidade do mofo-cinzento da mamoneira, constatou diferença entre os fungicidas com maior eficiência para o princípio ativo Iprodiona, seguido pelo Procimidone.

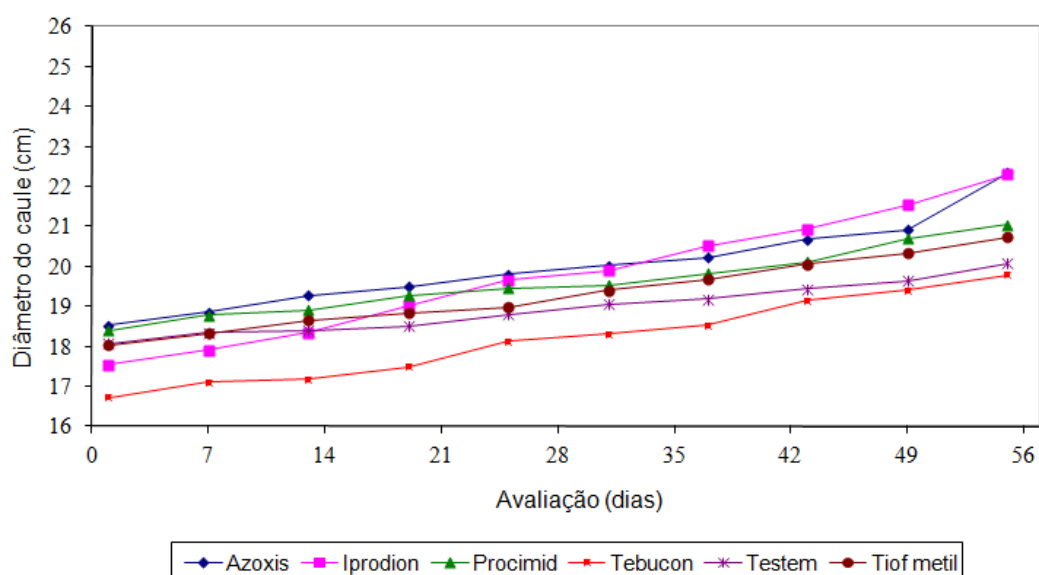
A severidade do mofo-cinza em mamoneira nos genótipos avaliados apresentou valores máximos de 100%, podendo em muitos casos promover queda precoce dos frutos. Essas observações também foram constatadas por Anjani et al. (2002) em campos expostos às condições climáticas favoráveis a mesma doença.

### **Avaliação de caracteres agronômicos da mamoneira (*Ricinus communis* L.) em função do princípio ativo utilizado**

A avaliação do diâmetro de caules em mamoneira é muito importante, em que se preconiza que as plantas possuam valores os mais baixos, uma vez que genótipos com diâmetros de caule mais grossos causam problemas por ocasião da colheita mecânica. Dessa maneira, o ideal é o mesmo genótipo possuir caule mais fino e porte reduzido (FREIRE et al., 2001).

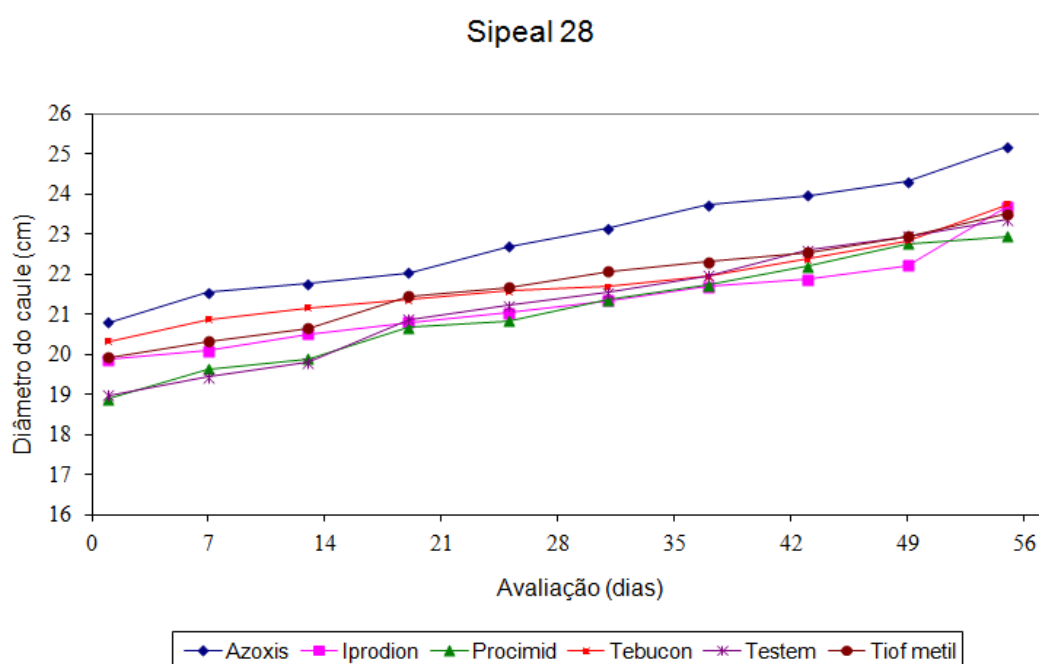
Para os genótipos Mirante 10 e Sipeal 28, o diâmetro do caule apresentou variações em função do princípio ativo utilizado. Até a 6ª semana, o fungicida Azoxistrobina foi o que proporcionou os maiores valores para este caráter no genótipo Mirante 10 enquanto que no Sipeal 28, esse mesmo fungicida foi o mais eficiente em todas as semanas de avaliação (Figuras 4 e 5). Para o genótipo Mirante 10, os menores índices foram obtidos com o princípio ativo Tebuconazol durante o período de avaliação.

#### Mirante 10



**Figura 4.** Valores médios para o diâmetro de caule da mamoneira no genótipo Mirante 10, em telado, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Em trabalho realizado por Poletine et al. (2006) o híbrido Lyra, apresentou diferenças significativas, com os maiores valores de diâmetro de caule e altura de planta, por meio dos tratamentos químicos à base de Captan, Thiram+Carbendazim, Mancozeb+Carbendazin e Carboxin+Thiram.

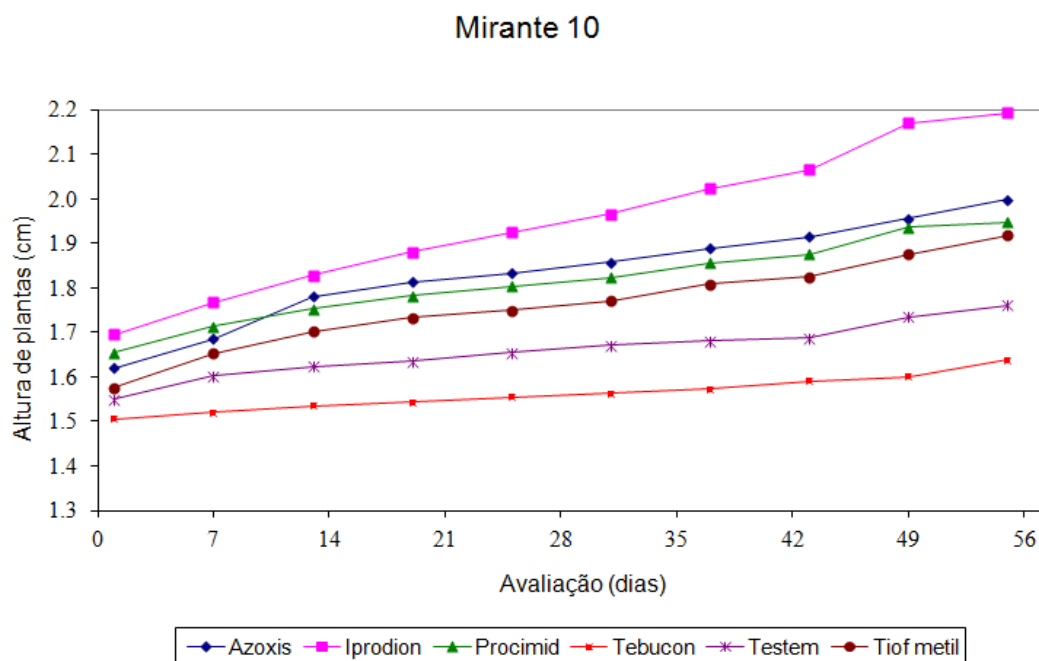


**Figura 5.** Valores médios para o diâmetro de caule da mamoneira no genótipo Sipeal 28, em telado, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

A altura da planta é um dos caracteres morfológicos mais importantes para a mamoneira, pois influencia diretamente na tecnologia de produção da cultivar. Segundo Azevedo et al. (1997) a mamoneira com até 1,80 m é considerada anã, apresentando altura de 2,00 m é média e acima de 2,50 m é uma planta alta. A planta que apresentar porte médio ou alto tem maior

rusticidade, adequando-se ao baixo nível de tecnologia (FREIRE et al. 2001; SAVY FILHO, 1999).

O caráter altura de plantas sofreu interferência dos fungicidas utilizados, em que o princípio ativo Tebuconazol foi o único que induziu uma baixa estatura nos dois genótipos avaliados. Os demais fungicidas promoveram acréscimo na altura das plantas em relação à testemunha e, portanto favorecendo ao maior desenvolvimento vegetativo desta oleaginosa (Figura 6 e 7).

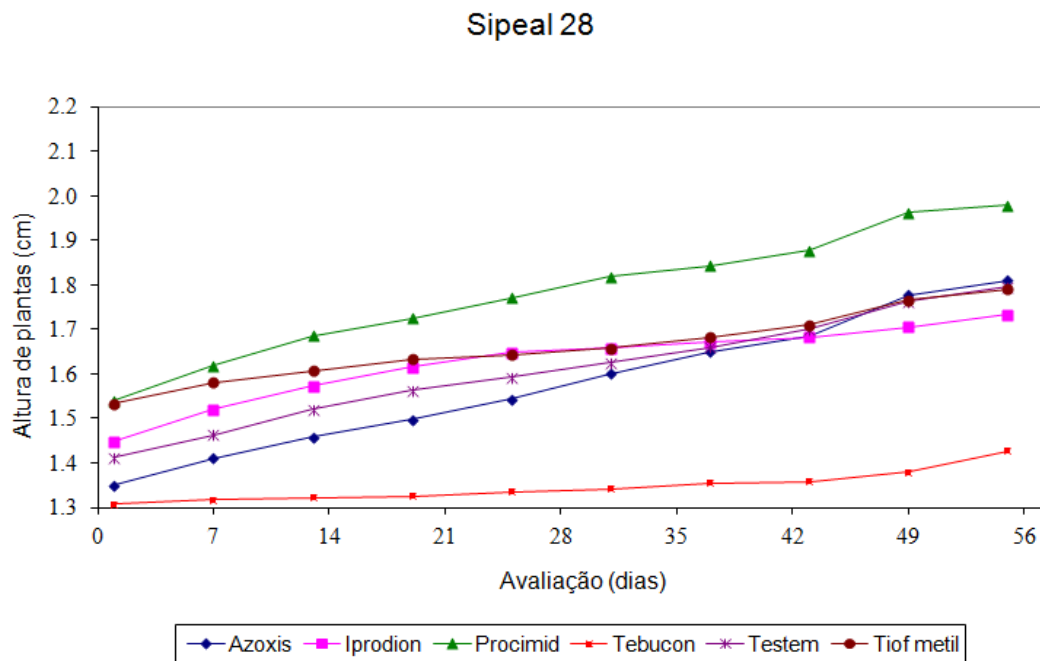


**Figura 6.** Valores médios para a altura de plantas da mamoneira no genótipo Mirante 10, em telado, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

O fungicida Iprodiona comportou-se diferente dos demais princípios ativos a partir da primeira semana de avaliação, promovendo uma maior altura do genótipo Mirante 10 em todos os períodos de avaliação. Esse mesmo fato ocorreu para o genótipo Sipeal 28, porém, promovido pelo fungicida Procimidone (Figura 7).

Resultados semelhantes foram encontrados na cultura da soja submetida a proteção de fungicida Benomyl, referente ao biênio 2002/2003,

em que foi observado que os tratamentos apresentaram altura superior à testemunha (FINOTO et al., 2011)



**Figura 7.** Valores médios para a altura de plantas da mamoneira no genótipo Sipeal 28, em telado, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

A análise de crescimento baseia-se no fato de que, em média, 90% da matéria acumulada ao longo do crescimento da planta provêm da atividade fotossintética que a mesma realiza (BENINCASA, 2003).

A análise de variância foi significativa em nível de 1% de probabilidade (Tabela 4.), evidenciando apenas a existência de variabilidade genética entre os genótipos com relação aos caracteres avaliados nas condições do Recôncavo Baiano, em Cruz das Almas-BA.

**Tabela 4.** Análise de variância para caracteres agronômicos: MFP= Massa de fruto por planta; NGP= Número de grãos por planta; MGP= massa de grãos por planta e MR= Massa do racemo em kg, nos genótipos Mirante 10 e Sipeal 28, submetidos a diferentes tratamentos com fungicidas (Azoxistrobina, Iprodiona, Procimidone, Tebuconazol e Tiofanato metílico), na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2010.

F V	G L	M F P	N G P	M G P	M R
Bloco	3	18,81	1,14	0,11	4,77
Fungicida	5	105,05	41,90	2,49	110,61
Genótipo	1	408,63**	705,33**	33,67**	1496,33**
Fung x Genótipo	5	13,85	9,18	0,49	21,73
erro	33	55,86	23,91	1,30	57,98
CV (%)		41,48	31,30	34,44	34,44
Média Geral		18,02	15,63	3,31	22,11

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade.

Conforme a Tabela 5, o teste de médias, demonstrou que os valores para MFP, NGP, MGP e MR foram superiores no genótipo Sipeal 28, independente da utilização de tratamento químico. Isso, provavelmente aconteceu em função de sua maior resistência ao mofo-cinza, fato que já foi comprovado em outras pesquisas (BAHIA et al., 2008; SILVA, 2008).

**Tabela 5.** Avaliação de caracteres agronômicos: MFP= Massa de fruto por planta; NGP= Número de grãos por planta; MGP= massa de grãos por planta e MR= Massa do racemo em kg, nos genótipos Mirante 10 e Sipeal 28 na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2009.

G e n ó t i p o s	C a r a c t e r e s A g r o n ô m i c o s			
	M F P	N G P	M G P	M R
M i r a n t e 1 0	15,10 a	11,79 a	2,48 a	16,53 a
S i p e a l 2 8	20,94 b	19,45 b	4,15 b	27,69 b

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.

Em trabalhos com sementes de mamoneira, foi observado que alguns princípios ativos foram eficientes no controle do *Aspergillus* spp. e não exibiram efeito fitotóxico nas plântulas. (BEZERRA et al., 2010; SANTOS NETO et al., 2008; SOUZA, 2007).

São crescentes os incentivos para a cultura da mamoneira em todo território nacional, porém, é preciso melhorar sua tecnologia de produção associada ao uso de genótipos adaptados às diferentes regiões de cultivo. Dessa forma, o manejo integrado, por meio do uso de cultivares resistentes ao mofo-cinza e o controle químico seriam importantes ferramentas para elevar a produtividade desta oleaginosa, fazendo com que o Brasil venha a ocupar novamente o primeiro lugar como produtor mundial.

## **CONCLUSÃO**

Os fungicidas utilizados não exibiram fitotoxicidade aos genótipos avaliados, contribuindo para elevar os valores dos caracteres diâmetro de caule e altura de planta e conferir proteção aos racemos, mensurados pela severidade de *Amphobotrys ricini*.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANJANI, K.; RAOOF, M. A.; REDDY, P. A. V.; RAO, C. H. Sources of resistance to major castor (*Ricinus communis* L.) diseases. **Bulletin de Ressources** n. 137, p. 46-48, 2002.

AZEVEDO, D. M. P. de; et. al. **Recomendações técnicas para o cultivo da mamona (*Ricinus communis* L.) no Brasil**. Campina Grande Algodão, 1997. 52p. (Circular técnica, 25).

BAHIA, H. F.; SILVA, S. A.; FERNANDEZ, L. G.; LEDO, C. A. S.; MOREIRA, R. F. C. Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira. **Pesquisa. Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.3, p.357-362, mar. 2008.

BELTRÃO, N. E. de M. **A cadeia da mamona no Brasil, com ênfase para o segmento P&D: estado da arte, demandas de pesquisa e ações necessárias para o desenvolvimento**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. 20p. (Embrapa Algodão. Documentos, 129).



BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. São Paulo-SP: Agrônoma Ceres. 2v. 3 ed. 919p. 1995.

BEZERRA, A. K. D.; BRUNO, R. A.; FERRARI, C. S.; SILVA, G. Z.; JÚNIOR, J. M. B.; ALVES, E. U. Utilização de fungicidas no tratamento de sementes de mamona. Congresso brasileiro de mamona, 4 & simpósio internacional de oleaginosas energéticas, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: **Anais...**Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 2180-2185.

BEZERRA, C. de S. **Estrutura genética e sensibilidade a fungicida de *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo cinzento da mamoneira**. 2007. 47p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: The assessment of risk** **Frac Monograph N.2**, Global Crop Protection Federation, Brusseis, 1998. 48p.

CARTAXO, W. V.; BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, O. R. F.; SEVERINO, L. S.; SUASSUNA, N. D.; SOARES, J. J. **O cultivo da mamona no semi-árido brasileiro**. Circular Técnica, 77. Campina Grande, p.20, 2004.

CHAGAS, H. A. **Controle de mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.) por métodos químicos biológicos e com óleos essenciais**. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp – BOCATU – São Paulo 2009.

DELP, C. J. Coping with resistance to plant disease control agent. **Plant Disease**, 64: 652-657, 1980.

EMBRAPA. **Centro de Pesquisa Mandioca e Fruticultura Tropical da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Cruz das Almas, BA, 2010. Disponível em:<<http://www.cnpmf.embrapa.index.php?nidade=localizacao>>. Acesso em: 22 dez. 2010.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar**: versão Windows 5.3. Lavras: UFLA, 2001.

FINOTO, E. L.; CARREGA, W. C.; SEDIYAMA, T.; ALBUQUERQUE, J. A. A.; CECON, P. R.; REIS, M. S. Efeito da aplicação de fungicida sobre caracteres agrônômicos e severidade das doenças de final de ciclo na cultura da soja. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 5, n. 1, p. 44-49, jan-abril, 2011.

FRANCIS, G.; EDINGER, R.; BECKER, K. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. **Natural Resources Forum**, Malden, v.29, p.12-24, 2005.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P. de. Melhoramento genético. In: AZEVEDO, D. M. P. de.; LIMA, E. F. (Org.). **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2001. p.229-256.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia 3**. ed São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p. 46-95.

LIMA, J. F.; PEIXOTO, C. P.; PEIXOTO, M. F.; SILVA, A. L. L.; BORGES, V. P.; MACHADO, G. Índices fisiológicos de cultivares de mamoneira em dois períodos de cultivo em baixa altitude no recôncavo sul baiano. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas. Inclusão Social e Energia: **Anais...**Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 904-914.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E. de.; BATISTA, F. A. S. Doenças e seu controle. In: AZEVEDO, D. M. P. de.; LIMA, E. F. (Org.). **O Agronegócio da Mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2001. p.191-212.

MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Agrofit 2011**: Sistema de informação. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2011. [Http://www.agricultura.gov.br/](http://www.agricultura.gov.br/)

NACIF, P. G. S.; RESENDE, J.O.; FONTES, L. E. F.; COSTA, L. M.; COSTA, O. V. Efeitos da subsolagem em propriedades físico-hídricas de um latossolo amarelo distrocoeso do estado da Bahia. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 20, n. 2, p. 186-192, abr./ jun., 2008.

POLETINE, J. P.; MACIEL, C. D. G.; TELLI, F. B.; ZANOTTO, M. D.; AMARAL, J. G. C. Avaliação de fungicidas para tratamento de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2., 2006, Aracaju. **Anais...** Aracaju, 2006. 1 CD-ROM.

SANTOS NETO, A. L.; CARVALHO, M. L. M.; BÁRBARA, C. N. V.; ALVES, R. A.; OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, K. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de mamona tratadas com fungicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 3., 2008, Salvador. **Anais...** Salvador, 2008. CD-ROM.

SAVY FILHO, A. **Mamona: Tecnologia Agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p.

SAVY FILHO, A. Melhoramento da mamona. In: BORÉM, A. (Org.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 385-407.

SILVA, V. **Características fisiológicas de cultivares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) no recôncavo baiano**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais

e Biológicas – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Unesp – Cruz das Almas-BA, 2008.

SOUZA, L. A. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade de sementes de mamona**. 2007. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – Minas Gerais, 2007.

URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BOODEY, R. M. Produção de biocombustíveis: a questão do balanço energético. **Revista de Política Agrícola**, Ano XIV, n.1, mar.2005, p.42-46.

## CAPÍTULO 3

### **ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Amphobotrys ricini* UTILIZANDO MARCADORES RAPD<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Amphobotrys ricini* UTILIZANDO MARCADORES RAPD

**RESUMO:** Em função da crescente exploração dos produtos da mamoneira, o mofo-cinzento, cujo agente etiológico é o *Amphobotrys ricini*, vem causando danos consideráveis a esta oleaginosa. Devido a sua rápida disseminação e facilidade de sobrevivência do patógeno em condições adversas, a doença está presente em quase todas as regiões produtoras de mamona, necessitando da utilização de genótipos resistentes, visto que é mais barato, acessível aos produtores e não polui o meio ambiente. O uso de variedades resistentes a fitopatógenos requer o conhecimento da diversidade genética dos agentes etiológicos. Dentre as técnicas que têm sido utilizadas para estudar a diversidade genética do *A. ricini*, os marcadores de DNA do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) constituem-se em ferramentas adicionais para se caracterizar isolados fitopatogênicos com eficiência. Foi feita a análise molecular de 32 isolados de *A. ricini*, onde onze iniciadores geraram 187 bandas polimórficas. A matriz de distância genética foi estimada pelo coeficiente de Jaccard. A distância genética entre os isolados variou de 0,02 a 0,94. O uso da técnica RAPD permite determinar a variabilidade genética entre os 32 isolados de *A. ricini* coletados em diferentes regiões geográficas, com formação de 8 grupos divergentes.

**Palavras-chave:** Diferenciação molecular, mofo-cinzento, mamoneira.

## **ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF *Amphobotrys ricini* USING RAPD MARKERS**

**ABSTRACT:** Due to the growing exploitation of castor bean products, the gray mold, whose etiologic agent is *Amphobotrys ricini*, has caused considerable damage to this oilseed. Due to its rapid spread and ease of pathogen survival in adverse conditions, the disease is present in almost all castor oil producing regions, requiring the use of resistant genotypes, since it is cheaper, accessible to producers and does not pollute the environment. The use of resistant varieties to phytopathogens requires knowledge of the genetic diversity of etiologic agents. Among the techniques that have been used to study the genetic diversity of *A. ricini*, the DNA markers like RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) are additional tools to characterize pathogenic isolates efficiently. Molecular analysis was performed for 32 isolates of *A. ricini*, where eleven primers generated 187 polymorphic bands. The genetic distance matrix was estimated by the Jaccard coefficient. The genetic distance between isolates ranged from 0.02 to 0.94. The use of RAPD technique allows to determine the genetic variability among 32 isolates of *A. ricini* collected in different geographic regions, with the formation of eight different groups.

**Key words:** Molecular differentiation, gray mold, castor bean.

## INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa detentora de um grande potencial econômico, perfazendo mais de 400 utilidades. De suas sementes pode se extrair a torta, utilizada como biofertilizante e o óleo, seu principal produto, considerado como um dos mais versáteis da natureza (SANTOS et al., 2001).

O cultivo da mamona pode ser realizado em quase todo o país, com exceção de alguns ecossistemas específicos como o Pantanal e Amazônia, locais muito frios e de baixa altitude, onde ainda não se tem certeza sobre a viabilidade de seu cultivo (SANTOS et. al., 2007).

Mesmo sendo uma planta com enorme capacidade de adaptação às diversas regiões do mundo, a mamoneira está sujeita a doenças causadas por vários microrganismos, os quais provocam consideráveis prejuízos econômicos, principalmente quando as condições climáticas lhes são favoráveis (FORNAZIERI JÚNIOR, 1986; SAVY FILHO, 1999).

Dentre essas patologias, destaca-se o mofo-cinza, causado pelo fungo *Botryotinia ricini* (Godfrey) Whetzel (anamorfo: *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.) Hennebert) como uma das mais importantes, implicando em grandes prejuízos à produção, destruindo os racemos e reduzindo a produção de óleo pela diminuição dos frutos colhidos (LIMA et al., 2001).

A habilidade de adaptação que o fitopatógeno dispõe, assim como a presença de novos genótipos patogênicos, dificulta o controle de uma doença em nível de campo (SUTTON, 2000). A melhor forma de controle é o emprego de materiais resistentes. O conhecimento a respeito da diversidade genética dos fitopatógenos é importante para o entendimento da dinâmica espacial dos mesmos, provendo informações que contribuirão para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes da doença e de materiais mais resistentes.

Neste aspecto, técnicas moleculares têm sido empregadas para o estudo da diversidade genética em fitopatógenos, inclusive com *A. ricini* (BEZERRA, 2007; Ó'GORMAN et.al., 2008; MUNÕZ, et. al., 2010). A técnica de marcadores RAPD é uma das variantes da técnica de PCR (*Polymerase*



*Chain Reaction*) que utiliza um iniciador composto por dez pares de bases de sequências nucleotídicas que irão se anelar arbitrariamente ao DNA, tendo, portanto, sua sequência alvo desconhecida (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998) ao contrário das outras técnicas que requerem informações prévias de sequência de DNA alvo para a amplificação, como no caso dos microssatélites.

Os marcadores genéticos baseados no polimorfismo do DNA têm sido utilizados com sucesso na diferenciação de espécies de vários fitopatógenos, assim como em estudos da sua diversidade e estrutura de populações e tem contribuído grandemente para o manejo de doenças de plantas (BORÉM & CAIXETA, 2006; DUTECH *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010; BENALI *et al.*, 2011).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar a diversidade genética de 32 isolados de *A. ricini* pertencentes a diferentes regiões e genótipos de mamoneira. Esses dados serão utilizados no programa de melhoramento genético da mamoneira visando resistência a esta doença na região do Recôncavo da Bahia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta das Amostras**

Procedeu-se à coleta dos racemos de mamoneira apresentando sintomas típicos do mofo-cinza em dois experimentos de mamoneira localizados no Campus Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no setor do NBIO/CCAAB, em Cruz das Almas, no período de julho a agosto de 2011.

Segundo Nacif *et al.* (2008), o município localiza-se na microrregião geográfica Santo Antônio de Jesus, região econômica Recôncavo Sul. Situada no planalto pré-litorâneo, nas coordenadas geográficas 12°40'39" de latitude sul e 39°06'23" de longitude oeste de Greenwich, Cruz das Almas apresenta clima tropical quente e úmido (Am), segundo a classificação de Köppen e altitude de 220 m acima do nível do mar. Com pluviosidade

média anual de 1.240mm, com variações entre 900 e 1.300mm, sendo os meses de março a agosto os mais chuvosos e de setembro a fevereiro os mais secos, com temperatura média anual de 24°C (EMBRAPA, 2010).

Durante a coleta, deu-se preferência aos cachos com os sintomas iniciais da doença e registrou-se os genótipos que se coletou os racemos infectados. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, para se proceder ao isolamento.

Trinta isolados de *A. ricini* foram provenientes da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, setor NBIO/CCAAB e dois isolados pertencentes à micoteca da Universidade Federal Rural de Pernambuco, foram enviados ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura e incluídos na análise de diversidade Genética (Tabela 1.).

**Tabela 1.** Relação dos isolados de *Amphobotrys ricini* obtidos de diferentes genótipos de mamoneira, com seus locais de origem e suas respectivas identificações. Cruz das Almas, 2011.

Genótipo de Mamoneira	Local de Coleta	Área	Identificação dos Isolados
UFRB-54	UFRB/BA	2	A1
CMM-1215	UFRPE/PE	*	A2
UFRB-171	UFRB/BA	2	A3
CMM-1214	UFRPE/PE	*	A4
UFRB-126	UFRB/BA	2	A5
UFRB-203	UFRB/BA	2	A6
UFRB-68	UFRB/BA	2	A7
Mirante 10	UFRB/BA	1	A8
UFRB-256	UFRB/BA	2	A9
UFRB-23	UFRB/BA	2	A10
Paraguaçu (1)	UFRB/BA	1	A11
UFRB-6	UFRB/BA	2	A12
Paraguaçu (2)	UFRB/BA	2	A13
UFRB-234	UFRB/BA	2	A14
UFRB-220	UFRB/BA	2	A15
UFRB-18	UFRB/BA	2	A16
UFRB-124	UFRB/BA	2	A17
MPA-31	UFRB/BA	1	A18
UFRB-264	UFRB/BA	2	A19
UFRB-76	UFRB/BA	2	A20
UFRB-181	UFRB/BA	2	A21

UFRB-154	UFRB/BA	2	A22
UFRB-214	UFRB/BA	2	A23
UFRB-137	UFRB/BA	2	A24
EBDA MPA-11	UFRB/BA	1	A25
UFRB-202	UFRB/BA	2	A26
UFRB-34	UFRB/BA	2	A27
UFRB-102	UFRB/BA	2	A28
UFRB-258	UFRB/BA	2	A29
EBDA MPB-01	UFRB/BA	1	A30
UFRB-208	UFRB/BA	2	A31
UFRB-172	UFRB/BA	2	A32

\* Isolados provenientes da micoteca da UFRPE

### **Isolamento e Manutenção dos Isolados**

Para o isolamento dos 32 isolados de *A. ricini* utilizou-se agulha histológica flambada, retirando os esporos das estruturas do fungo encontradas próximas à lesão e transferindo-os para uma placa de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar). Em seguida, os mesmos foram identificados e incubados em BOD a 25°C durante seis dias, a fim de favorecer a formação das colônias.

Após esse período, procedeu-se à obtenção da cultura monospórica, transferindo os esporos do fungo para uma microlâmina contendo meio BDA (Batata-dextrose-ágar) fundente na proporção de 4,1 g para 100 ml de água destilada. Este material foi mantido em câmara úmida e armazenado em BOD a 25°C por 96 horas, e após esse período, sob lupa estereoscópica, transferiu-se um único conídio para uma placa de Petri contendo BDA. As colônias crescidas a partir desse conídio foram utilizadas para extração do DNA, após 10 dias de incubação em BDA.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Marcadores Moleculares do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) da UFRB e no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

## Extração do DNA

A extração do DNA baseou-se no protocolo descrito por Zolan & Pukkila (1986) com modificações, utilizando-se o micélio aéreo, que foi macerado na presença de nitrogênio líquido e em seguida adicionou-se 600 µl do tampão de extração ( $\beta$ -mercaptoethanol 1%, CTAB 1%, NaCl 700 mM, EDTA 50mM e Tris-HCl 20mM). O material foi acondicionado em tubos para microcentrífuga de 2.0 ml, agitados em vórtex por 20 segundos, e em seguida levados ao banho-maria por 45 minutos à temperatura de 65°C, sendo homogeneizados por leves inversões a cada 15 minutos. Em seguida, foi adicionado 800 µl de clorofórmio-álcool isoamílico 24:1, onde os tubos foram misturados por inversão e posteriormente centrifugados por 10 minutos a 10.000g.

De cada sobrenadante 600 µl foram coletados e transferidos para novos tubos de 1.5 ml, onde igual volume de isopropanol foi adicionado. As amostras foram incubadas por 10 minutos a -20°C e depois centrifugadas por 10 minutos a 12.000g, com o propósito de precipitar os ácidos nucléicos.

Após precipitação dos ácidos nucléicos, os mesmos foram mantidos à temperatura de 25°C durante 1h para secagem dos *pellets*. Em seguida, foi adicionado ao precipitado 100 µl de TE (Tris 1 ml, EDTA 200 µl, água Milli-Q 98,8 ml, pH 8.0) e 2 µl de RNase (10 ng/ml) para cada amostra, agitadas levemente e incubadas a 37°C, durante 1 hora.

Após esse período, as mesmas foram visualizadas em gel de agarose a 0,8% e quantificadas por meio de comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas do DNA do fago  $\lambda$ , cuja concentração foi de 100 ng. Diluíram-se as amostras com TE para a solução de trabalho a 10 ng/µl e o DNA foi armazenado a -20°C até o momento da amplificação.

## Reação de RAPD

Para as reações de amplificação utilizou-se um volume final de 15 µl, contendo: 8,2 µl de Água Milli-Q; 0,6 µl de dNTP (2,5 mM); 1,5 µl de Tris-KCl (10X); 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> (25 mM); 0,2 µl de Taq DNA polimerase (5U/µl–

Invitrogen); 1,5 µl de oligonucleotídeos (4 µl) e 1,5 µl de DNA (3 ng/µL) total de *A. ricini*. Cada isolado foi amplificado com 11 oligonucleotídeos iniciadores com 10 pares de bases previamente selecionados para *A. ricini* (BEZERRA, 2007), pertencentes aos Kits de oligonucleotídeos A, E, M e P (OPERON Technologies, Inc. Alameda, CA), como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2.** Seqüência e conteúdo GC dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados para análise de *A. ricini* por meio de marcadores RAPD. Cruz das Almas, 2011.

Oligonucleotídeo	Seqüência 5´- 3´	Conteúdo GC %
OPA-01	CAG GCC CTT C	70
OPE-06	AAG ACC CCT C	60
OPE-14	TGC GGC TGA G	70
OPE-20	AAC GGT GAC C	60
OPM-11	GTC CAC TGT G	60
OPM-15	GAC CTA CCA C	60
OPM-16	GTA ACC AGC C	60
OPM-17	TCA GTC CGG G	70
OPP-03	CTG ATA CGC C	70
OPP-11	AAC GCG TCG G	70
OPP-13	GGA GTG CCT C	70

A amplificação foi executada em Termociclador Biocycler (Gradient Thermal Cycler), com um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 3 minutos 40 ciclos de anelamento dos oligonucleotídeos a 35°C por 30 segundos e extensão da fita de DNA a 72°C por 5 minutos e uma extensão final pela *Taq* polimerase a 72°C por 7 minutos.

Às reações com volume de 15 µl foram acrescentados 5 µl de tampão de amostra (4g de glicerol a 30% e azul de bromofenol a 0,25%) e após amplificação os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% (tampão TBE 1 X e 4,5 µl de brometo de etídeo) a uma corrente elétrica de 100 V por 2 horas. Posteriormente o gel foi visualizado em transluminador de luz ultravioleta e fotodocumentado.

## **Análise molecular dos dados**

Os fragmentos de DNA amplificados foram transformados em dados binários (1= presença de bandas e 0= ausência de bandas). Foi calculada a matriz de dissimilaridade utilizando-se o complemento do coeficiente de Jaccard (JACCARD, 1901), mediante auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001). O dendrograma foi gerado a partir dos dados da matriz de distância genética e os grupos formados utilizando-se o método da média aritmética não ponderada (UPGMA-*Unweighed Pair Group Method using Arithmetic Mean*), por meio do programa Statistica (StatSoft, 2005).

A fim de verificar a consistência entre a matriz de distância e a de agrupamento, calculou-se a correlação cofenética.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

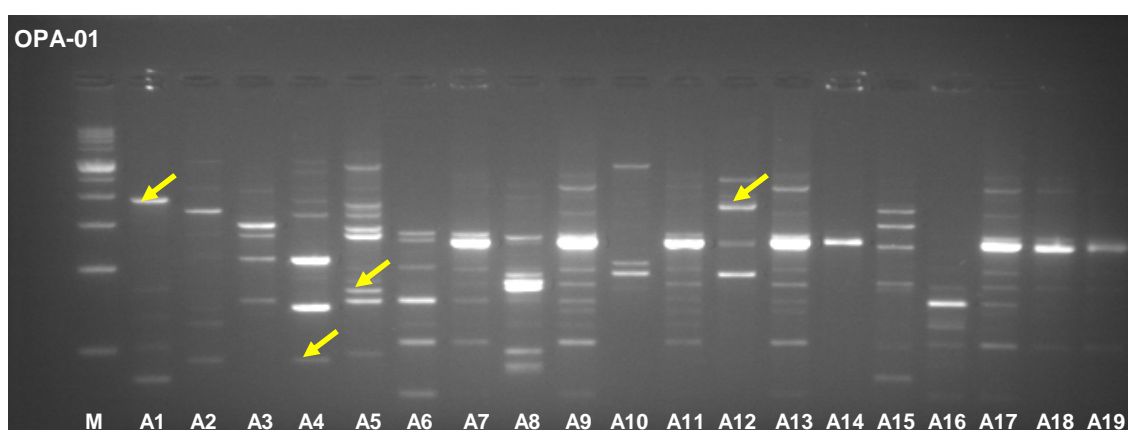
Foi obtido um total de 187 fragmentos de RAPD, com tamanhos variando de 500 a 2000 bp (pares de bases) amplificados pelos onze iniciadores utilizados, gerando polimorfismo nos 32 isolados de *A. ricini* testados. O valor da correlação cofenética foi de 0,94, considerado alto e adequado, uma vez que de acordo com Vaz Patto et al. (2004),  $r > 0,56$  é considerado ideal, refletindo uma boa concordância entre a matriz de dissimilaridade e a de agrupamento. O ponto de fusão, que definiu o número de grupos, foi de 0,70 (MINGOTE, 2005).

As estimativas de dissimilaridade genéticas, entre os isolados, segundo o coeficiente de Jaccard, estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3. Distância genética (%) entre 32 isolados de *A. ricini*, baseada no coeficiente de Jaccard (Jaccard, 1901). UFRB, 2011.

Isolados	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	A 9	A 10	A 11	A 12	A 13	A 14	A 15	A 16	A 17	A 18	A 19	A 20	A 21	A 22	A 23	A 24	A 25	A 26	A 27	A 28	A 29	A 30	A 31	A 32		
A 2	0.77																																	
A 3	0.83	0.75																																
A 4	0.85	0.69	0.83																															
A 5	0.81	0.76	0.80	0.74																														
A 6	0.79	0.82	0.88	0.80	0.87																													
A 7	0.73	0.75	0.73	0.78	0.73	0.60																												
A 8	0.66	0.77	0.82	0.83	0.76	0.74	0.56																											
A 9	0.72	0.76	0.74	0.81	0.77	0.74	0.52	0.73																										
A 10	0.84	0.88	0.85	0.84	0.83	0.88	0.85	0.88	0.82																									
A 11	0.72	0.74	0.75	0.77	0.71	0.65	0.29	0.57	0.35	0.83																								
A 12	0.78	0.77	0.79	0.76	0.75	0.81	0.67	0.72	0.66	0.76	0.65																							
A 13	0.73	0.77	0.77	0.78	0.71	0.61	0.37	0.59	0.50	0.85	0.28	0.68																						
A 14	0.75	0.77	0.74	0.78	0.74	0.64	0.25	0.65	0.46	0.83	0.24	0.69	0.33																					
A 15	0.61	0.84	0.79	0.80	0.77	0.78	0.69	0.68	0.73	0.88	0.67	0.73	0.63	0.66																				
A 16	0.76	0.82	0.89	0.85	0.91	0.42	0.67	0.75	0.69	0.94	0.67	0.85	0.69	0.67	0.84																			
A 17	0.73	0.72	0.73	0.75	0.72	0.65	0.30	0.59	0.35	0.83	0.16	0.66	0.25	0.24	0.64	0.66																		
A 18	0.71	0.73	0.75	0.74	0.71	0.72	0.37	0.59	0.43	0.84	0.26	0.66	0.31	0.35	0.65	0.72	0.14																	
A 19	0.72	0.72	0.74	0.76	0.72	0.66	0.31	0.58	0.35	0.83	0.19	0.65	0.27	0.24	0.64	0.66	0.03	0.15																
A 20	0.78	0.84	0.78	0.78	0.80	0.82	0.78	0.76	0.75	0.80	0.75	0.75	0.73	0.74	0.72	0.86	0.72	0.75	0.73															
A 21	0.74	0.77	0.82	0.81	0.84	0.73	0.59	0.73	0.65	0.81	0.62	0.72	0.65	0.54	0.77	0.72	0.60	0.63	0.59	0.76														
A 22	0.74	0.74	0.73	0.76	0.74	0.75	0.48	0.67	0.49	0.80	0.37	0.71	0.47	0.34	0.69	0.71	0.31	0.41	0.30	0.70	0.48													
A 23	0.73	0.75	0.73	0.78	0.74	0.75	0.50	0.69	0.48	0.81	0.39	0.72	0.47	0.36	0.68	0.71	0.31	0.41	0.30	0.70	0.49	0.04												
A 24	0.67	0.79	0.79	0.77	0.85	0.60	0.58	0.75	0.61	0.85	0.54	0.78	0.61	0.53	0.73	0.55	0.51	0.60	0.50	0.78	0.49	0.41	0.40											
A 25	0.73	0.74	0.74	0.76	0.77	0.75	0.53	0.71	0.49	0.81	0.44	0.72	0.51	0.38	0.69	0.72	0.36	0.43	0.35	0.73	0.54	0.20	0.19	0.44										
A 26	0.74	0.77	0.79	0.79	0.86	0.58	0.60	0.74	0.66	0.86	0.61	0.74	0.60	0.53	0.73	0.57	0.58	0.64	0.57	0.76	0.41	0.48	0.47	0.33	0.47									
A 27	0.75	0.81	0.81	0.79	0.85	0.79	0.64	0.77	0.70	0.85	0.63	0.83	0.66	0.58	0.80	0.75	0.62	0.59	0.61	0.80	0.35	0.53	0.53	0.51	0.53	0.46								
A 28	0.74	0.76	0.78	0.78	0.79	0.77	0.54	0.68	0.65	0.83	0.52	0.76	0.56	0.46	0.72	0.76	0.51	0.52	0.50	0.78	0.48	0.38	0.38	0.56	0.30	0.47	0.41							
A 29	0.75	0.77	0.74	0.80	0.75	0.77	0.53	0.71	0.57	0.81	0.46	0.75	0.55	0.38	0.71	0.76	0.41	0.49	0.42	0.74	0.53	0.29	0.29	0.55	0.28	0.50	0.48	0.24						
A 30	0.74	0.79	0.77	0.81	0.86	0.73	0.56	0.73	0.59	0.84	0.54	0.74	0.55	0.47	0.74	0.69	0.50	0.53	0.49	0.76	0.42	0.41	0.37	0.44	0.37	0.32	0.42	0.32	0.38					
A 31	0.77	0.76	0.80	0.81	0.74	0.86	0.76	0.80	0.82	0.79	0.79	0.70	0.74	0.76	0.76	0.91	0.77	0.77	0.77	0.71	0.79	0.77	0.77	0.86	0.77	0.82	0.80	0.75	0.73	0.81				
A 32	0.78	0.75	0.80	0.80	0.73	0.85	0.75	0.79	0.81	0.79	0.78	0.70	0.75	0.76	0.75	0.91	0.77	0.76	0.76	0.69	0.79	0.78	0.78	0.86	0.77	0.82	0.80	0.76	0.73	0.81	0.02			

Um exemplo do padrão de amplificação obtido pelo iniciador OPA-01 pode ser observado na Figura 1. A maioria dos iniciadores testados exibiu bandas exclusivas para os diferentes isolados do patógeno, as quais poderão ser utilizadas posteriormente como sondas (SCAR), favorecendo todo mecanismo para detecção e identificação do fungo. Isso vem a corroborar a eficiência dos marcadores RAPD aplicados ao estudo da genética de fungos, como tem sido descrito por outros autores (LIMA et al., 2010; MEHTA & MEHTA, 2010; OLIVEIRA et al., 2011).



**Figura 1.** Perfil eletroforético de 19 isolados de *Amphobotrys ricini*: A1 ao A19, a citar: UFRB-54 (A1); CMM-1215 (A2); UFRB-171 (A3); CMM-1214 (A4); UFRB-126 (A5); UFRB-203 (A6); UFRB-68 (A7); Mirante 10 (A8); UFRB-256 (A9); UFRB-23 (A10); Paraguaçu-1 (A11); UFRB-6 (A12); Paraguaçu-2 (A13); UFRB-234 (A14); UFRB-220 (A15); UFRB-18 (A16); UFRB-124 (A17); EBDA MPA-31 (A18); UFRB-264 (A19) utilizando o iniciador OPA-01 e marcador (M) 1 Kb Ladder (Fago  $\lambda$  – Anresco). Cruz das Almas, 2011.

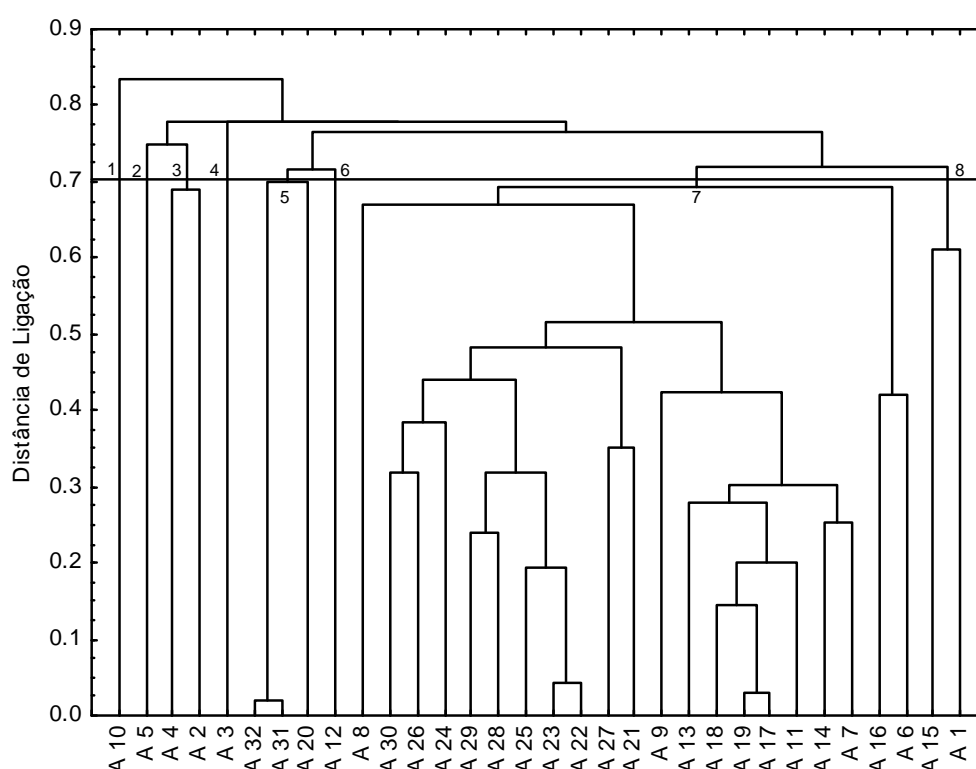
A distância genética entre os isolados de *A. ricini* variou entre 0,02 UFRB 172 (A32) e UFRB 208 (A31) a 0,94 UFRB 23 (A10) e UFRB 18 (A16). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva (2009), avaliando a diversidade genética entre isolados de *Fusarium oxysporum* f. *cubense*, constatando a existência de diferentes níveis de similaridade genética (91% a 38%) entre os isolados do referido patógeno

Trabalhando com o fungo *Colletotrichum guaranicola*, utilizando-se marcadores AFLP, Bentes & Costa Neto (2011), concluíram que a similaridade genética desse patógeno variou de acordo com a procedência dos isolados, demonstrando uma variação intra-específica, onde isolados pertencentes a um



mesmo local foram distribuídos em diferentes grupos e subgrupos, evidenciando a variabilidade genética existente entre essa espécie, independente de sua distância geográfica.

A análise do dendrograma (Figura 2) constatou a formação de oito grupos de dissimilaridade, evidenciando a presença de diversidade entre os isolados avaliados. No quinto grupo, encontram-se os isolados UFRB 172 (A32), UFRB 208 (A31) e UFRB 76 (A20). No primeiro, segundo, quarto e sexto grupos, estão os isolados UFRB-23 (A10), UFRB-126 (A5), UFRB-171 (A3) e UFRB 6 (A12), respectivamente. No sétimo grupo, encontram-se os isolados: Mirante 10 (A8), UFRB-34 (A27), UFRB-181 (A21), UFRB-256 (A9), UFRB-137 (A24), UFRB-202 (A26), EBDA MPB-01 (A30), UFRB-258 (A29), UFRB-102 (A28), EBDA MPA-11 (A25), UFRB-214 (A23), UFRB-154 (A22), Paraguaçu-2 (A13), UFRB-234 (A14), EBDA MPA-31 (A18), UFRB-264 (A19), UFRB-124 (A17), Paraguaçu-1 (A11), UFRB-68 (A7), UFRB-18 (A16), UFRB-203 (A6), formando o grupo mais homogêneo.



**Figura 2.** Dendrograma de dissimilaridade genética de 32 isolados de *Amphobotrys ricini* e padrão de fragmentos obtidos por 11 iniciadores de RAPD e

187 bandas polimórficas, por meio do método UPGMA baseado na distância de Jaccard (Jaccard, 1901). Cruz das Almas, 2011.

No terceiro grupo estão os isolados CMM 1214 (A4) e CMM 1215 (A2), provenientes da micoteca da UFRPE, os quais se mostraram estreitamente relacionados com nível de similaridade de 31%. O mesmo fato foi encontrado no oitavo grupo, em que os isolados UFRB 220 (A15) e UFRB 54 (A1), tiveram nível de similaridade de 39%. Isso comprova que a variabilidade manteve-se relativamente alta, mesmo existindo proximidade entre os isolados e os mesmos serem oriundos da mesma planta hospedeira.

Segundo os resultados encontrados, pode-se observar que não ocorreu uma correlação geográfica dos isolados com as áreas de coletas, haja vista que alguns isolados de uma mesma área se posicionaram em grupos distintos, assim como a maioria dos isolados das duas áreas (1 e 2) se posicionaram dentro de um mesmo grupo. Este fato pode ser atribuído à circulação de material propagativo contaminado e conseqüentemente à introdução de esporos do patógeno em áreas indenas, favorecendo sua disseminação no momento da semeadura. Portanto, não sendo possível correlacionar esses isolados com suas respectivas áreas de origem.

Outra hipótese que poderia explicar essa formação de grupos distintos por isolados oriundos do mesmo local de coleta seria devido aos mesmos terem sido obtidos de genótipos hospedeiros com base genética diferente, exercendo pressão de seleção diferenciada sobre os indivíduos. Essa mesma situação foi observada em análise de diversidade genética de isolados de *Acremonium strictum*, em que isolados desse patógeno provenientes de um mesmo estado (AS1 e AS2, ambos de Minas Gerais; AS3 e AS4, ambos de São Paulo) apresentaram perfis genotípicos mais variados do que isolados oriundos de estados diferentes (AS1 e AS3; AS5 e AS9; AS4 e AS8) (TEIXEIRA et al., 2004).

Os mecanismos geradores de variabilidade em fungos mitospóricos pode ser decorrente de mutação, recombinação parassexual, herança citoplasmática, heterocariose e presença de transposons (AGRIOS, 2005; AZEVEDO, 2009) que podem ocorrer em condições naturais ou artificiais.

A variabilidade genética é uma condição presente em patossistemas silvestres preservados e é aumentada em agroecossistemas. A alteração dos

cultivos por meio do melhoramento, a ampliação de fronteiras agrícolas e o uso desmedido de defensivos sistêmicos são fatores que aumentam a pressão de seleção exercida sobre as populações de patógenos, favorecendo a expressão de novos genes de virulência e o polimorfismo na estrutura dessas populações (ARAYA, 2003).

Castro (2007) avaliando isolados de *Fusarium oxysporum* f. *cubense* por meio de marcadores ISSR não conseguiu relacionar os isolados com as áreas de coleta, atribuindo à complexidade que o patógeno apresenta como conseqüência de sua alta diversidade.

Resultados semelhantes também foram obtidos em estudos com diversidade genética, por meio de marcadores RAPD para isolados de *F. oxysporum*, o qual detectou alta diversidade entre os isolados desse fungo, mesmo quando coletados em regiões próximas, comprovando o quanto complexo é esse patógeno; mesmo considerando a intensa troca de material propagativo entre os produtores dessas regiões (JESUS et al., 1995; SIVARAMAKRISHNAN et al., 2002).

O conhecimento da diversidade genética de isolados de *A. ricini* é de fundamental importância na geração de informações para o programa de melhoramento genético da mamoneira, visando a obtenção de cultivares resistentes a essa doença.

Em função do alto grau de diversidade exibido pelo *A. ricini*, é interessante que futuros trabalhos venham a ser conduzidos com um maior número de espécies e genótipos de mamoneira. Por outro lado, é importante ampliar para locais distantes as coletas do fitopatógeno a fim de se desenvolver trabalhos com estrutura de populações que permitirá conhecer com maiores detalhes as populações deste fitopatógeno bem como sua dinâmica espacial, o que favorecerá no desenvolvimento de cultivares resistentes de mamoneira em função da diversidade das populações por localidade contribuindo numa maior eficiência do controle a esta doença empregando o uso de variedades resistentes.

## CONCLUSÃO

O uso da técnica RAPD permite determinar a variabilidade genética entre os 32 isolados de *A. ricini* coletados em diferentes regiões geográficas, com formação de 8 grupos divergentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5<sup>o</sup> Ed. Elsevier Academic Press, Burlington – USA. 922 p. 2005.

ARAYA, C. M. Coevolución de interacciones hospedante-patógeno en frijol común. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 221-228, 2003.

AZEVEDO, J. L. **Genética de Microrganismos**. Editora UFG, Goiânia- GO. 536 p. 2009.

BENALI, S.; MOHAMED, B.; EDDINE, H. J.; NEEMA, C. Advances of Molecular Markers Application in Plant Pathology Research. **European Journal of Scientific Research**. V.50, p.110-123. 2011

BENTES, J. L. da S.; COSTA NETO, P. Q. Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônica** v. 41(2), p.251-256. 2011.

BEZERRA, C. de S. **Estrutura genética e sensibilidade a fungicida de *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo cinzento da mamoneira**. 2007. 47p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa:UFV, 374 p. 2006.

CASTRO, N. R. **Murcha de *Fusarium* em *Heliconia* spp.: ocorrência, variabilidade e resistência genética**. 2007. 113p. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: versão Windows. Viçosa: UFV, 2001. 642p.

DUTECH, C.; ENJALBERT, J.; FOURNIER, E.; FRANÇOIS, D.; BARRES, B.; CARLIER, J.; THARREAU, D.; GIRAUD, T. Challenges of microsatellite isolation in fungi. Science Direct. **Fungal Genetics and Biology**, v. 44, p. 933-949, 2007.

EMBRAPA. **Centro de Pesquisa Mandioca e Fruticultura Tropical da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Cruz das Almas, BA, 2010. Disponível em: <[http://www.cnpmf.embrapa./index.php?menu=1&p=a\\_unidadelocalizacao.php?men=1](http://www.cnpmf.embrapa./index.php?menu=1&p=a_unidadelocalizacao.php?men=1)>. Acesso em: 22 dez. 2010.

FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 3.ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

FORNAZIERI JUNIOR, A. **Mamona**: uma rica fonte de óleo e de divisas. São Paulo: Ícone, 1986. 72 p.

JACCARD, P. **Comparative study of the floral distribution in a portion of the Alps and the Jura**. *Bulletin of the Voudoise Society of Natural Sciences*, 37: 547-579. 1901.

JESUS, J. de.; CASCARDO, J. C. de M.; FIGUEIRA, A.; SOUZA JÚNIOR, M. T.; CORDEIRO, Z. J. M. Uso de marcadores RAPD no estudo de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Magistra** 7. 1995.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. S. Doenças e seu controle. In.: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 191-212. 2001.

LIMA, A. A.; TUTUNJI, V. L.; LIMA, L. H. C.; UEIROZ, P. R. Identificação molecular de isolados de fungos de interesse médico por meio de marcadores RAPD. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, v. 8, n. 2, p. 35-54, 2010.

MEHTA, Y. R.; MEHTA, A. Variabilidade genética entre isolados de *Colletotrichum gossypii* do algodoeiro. **Summa Phytopathol.** v.36 n.1. p. 40-44. 2010.

MINGOTE, S. A. Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada. Belo Horizonte: Ed. UFMG. 297p. 2005.

MUNÓZ, C.; TALQUENCA, S. G.; ORIOLANI, E.; COMBINA, M. Genetic characterization of grapevine-infecting *Botrytis cinerea* isolates from Argentina. **Rev Iberoam Micol.** v. 27, n.2 p.66–70, 2010.

NACIF, P. G. S.; RESENDE, J.O.; FONTES, L. E. F.; COSTA, L. M.; COSTA, O. V. Efeitos da subsolagem em propriedades físico-hídricas de um latossolo amarelo distrocoeso do estado da Bahia. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 20, n. 2, p. 186-192, abr./ jun., 2008.

O'GORMAN, D. T.; SHOLBERG, P. L.; STOKES, S. C.; GINNS, J. DNA sequence analyses of herbarium specimens facilitates the revival of *Botrytis mali*, a postharvest pathogen of apple. **Mycologia.** V.100, n.2, p. 227-235. 2008.

OLIVEIRA, D. G. P.; PINTO, F. G. S.; BARCELLOS, F. G.; ALVES, L. F. A.; HUNGRIA, M. Variabilidade genética de isolados de *Beauveria* spp. e virulência ao cascudinho *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2011.

SANTOS, R. F.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIÃO, L. E. G. Análise Econômica. In: AZEVEDO, D. M. P. de.; LIMA, E. D. (Ed). **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. Cap. 1, p.17-35.

SANTOS, R. F.; KOURI, J.; BARROS, M. A. L.; MARQUES, F. M.; FIRMINO, P. T.; REQUIÃO, L. E. G. Aspectos econômicos do agronegócio da mamona. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Org.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2 ed. Brasília - DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007, v.1, p.283-303.

SAVY FILHO, A.; BANZATTO, N. V.; BARBOZA, M. Z.; MIGUEL, A. M. R.; DAVI, L. O. de C.; RIBEIRO, F. M. Mamona. In: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. **Oleaginosas no estado de São Paulo: análise e diagnóstico**. Campinas, 1999. 39 p. (Cati). Documento Técnico, 107.

SILVA, C. M. da.; HINZ, R. H.; STADNIC, M. J.; PEREIRA, A.; TCACENCO, F. A. Diversidade genética por marcadores moleculares em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* no Estado de Santa Catarina. **Ciência Rural**, v.40, n.12, p.2480-2485, 2010.

SILVA, D. de S. **Diversidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* em helicônia utilizando ARDRA e RAPD**. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2009.

SIVARAMAKRISHNAN, S.; KANNAN, S.; SINGH, S.D. Genetic variability of *Fusarium* wilt pathogen isolates of chickpea (*Cicer arietinum* L.) assessed by molecular markers. **Mycopathologia**, v.155, p.171-178, 2002.

STATSOFT INC. (Tulsa, Estados Unidos). **Statistica for Windows v.6.0: computer program manual**. Tulsa, 2005. Disponível em: <<http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>>. Acesso em: 12 maio 2011.

SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.235-238, 2000.

TEIXEIRA, H., VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO J. C. Marcadores RAPD na análise da diversidade genética de isolados de *Acremonium strictum*. **Fitopatologia Brasileira** 29:651-655. 2004.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC Z.; PÊGO S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica** 137: 63-67. 2004.

ZOLAN, M. E.; PUKKILA, P. J. A rapid, high yield mini-prep method for isolation of total genomic DNA. **Mol. Cell. Biol.**, Bethesda, v.6, p.195-200, 1986.



## CAPÍTULO 4

### **AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA AO *Amphobotrys ricini* EM NÍVEL DE CAMPO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## **AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE MAMONEIRA AO *Amphobotrys ricini* EM NÍVEL DE CAMPO**

**RESUMO:** Uma das principais enfermidades da mamoneira (*Ricinus communis* L.) é o mofo-cinzento, cujo agente etiológico é o *Amphobotrys ricini*, onde uma das medidas de controle é por meio do uso de genótipos resistentes. O trabalho foi desenvolvido em área experimental, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), entre abril e dezembro de 2010, localizada em Cruz das Almas-BA, a 220 m de altitude, umidade média relativa do ar de 83%, em regime de sequeiro. O plantio foi executado em blocos ao acaso com cinco repetições, em espaçamento de 3x1 m, em que foram avaliados cinco genótipos de mamoneira (Mirante 10, Sipeal 28, EBDA MPA-11, Nordestina e Paraguaçu). Com referência às condições climáticas da região, favoráveis ao surgimento natural do patógeno, foi mensurada a sensibilidade dos genótipos, baseada na incidência e severidade do mofo-cinzento, além de 12 caracteres agronômicos da mamoneira. Dentre os genótipos avaliados, o Mirante 10 foi o mais suscetível ao mofo-cinzento, conforme a incidência e severidade dos racemos. A maioria dos componentes de rendimento (NFR, NGR, MRTP, MFP, MR, MGP e PROD) e o caráter adaptativo (EST) apresenta comportamento significativo entre os genótipos com identificação de resistência ao mofo-cinzento.

**Palavras-chave:** Fitossanidade, mofo-cinzento, *Ricinus communis* L.

## EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF CASTOR BEAN GENOTYPES TO *Amphobotrys ricini* IN FIELD LEVEL

**ABSTRACT:** One of the main diseases of the castor bean (*Ricinus communis* L.) is the gray mold, whose etiologic agent is *Amphobotrys ricini*, where one of the measures of control is through the use of resistant genotypes. The study was conducted in the experimental area, belonging to the Nucleus of Genetic Improvement and Biotechnology (NBIO) of the Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences (CCAAB) at the Federal University of the Bahian Reconcave (UFRB) between April and December 2010, located in Cruz das Almas, Bahia, at an altitude of 220 m, average relative air humidity of 83% under rainfed conditions. The planting was carried out in randomized blocks with five repetitions in 3x1m spacing, in which were evaluated five genotypes of castor bean (Mirante 10, Sipeal 28, EBDA MPA-11, Nordesteina and Paraguaçu). With reference to the climatic conditions of the region, conducive to the natural emergence of the pathogen the sensitivity of genotypes was measured, based on the incidence and severity of gray mold, besides 12 agronomic traits of castor beans. Among the evaluated genotypes, Mirante 10 was the most susceptible to gray mold, according to the incidence and severity of the racemes. Most components of productivity (NFR, NGR, MRTP, MFP, MR, MGP and PROD) and the adaptive character (EST) present significant behavior among the genotypes resistant to gray mold.

**Key words:** Phytosanitary, gray mold, *Ricinus communis* L.

## INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) pertence à família Euphorbiaceae, resistente à seca e heliófila. Para Grieve (2011) esta oleaginosa apresenta alta dispersão e adaptação às distintas regiões do mundo. Sua multiplicação se dá preferencialmente por autogamia, podendo apresentar alta taxa de cruzamentos, que chega a 40% (BELTRÃO et al., 2001).

Dentre as oleaginosas, a mamoneira exerce papel importante nos programas energéticos ligados à agricultura familiar em todo território nacional e seu principal produto explorado comercialmente é o óleo. Devido ao ácido graxo ricinoléico possuir elevada capacidade de reações químicas, seus subprodutos apresentam diversas aplicabilidades na fabricação de vernizes, detergentes, inseticidas, lubrificantes, fungicidas, próteses humanas para coluna vertebral, crânio, dentes e mamas (CARVALHO, 1997; GIBELLI, 2001).

Mesmo a mamoneira sendo de grande importância econômica para o Brasil, a maioria de seu cultivo é realizado por sementes dos próprios produtores, o que implica em grande diversidade de tipos locais. A utilização de sementes não selecionadas favorece à baixa produtividade, alta incidência de doenças e características agronômicas indesejáveis (FREIRE et al. 2007).

A elevação da produtividade é um objetivo comum para todas as regiões produtoras de mamona do País. Para Nóbrega et al. (2001), a produtividade de grãos é classificada como baixa quando atinge menos de 1.500 kg.ha<sup>-1</sup>, média, quando está entre 1.500 a 2.000 kg.ha<sup>-1</sup>, alta quando for de 2.001 a 3.000 kg.ha<sup>-1</sup> e muito alta quando estiver acima de 3.000 kg.ha<sup>-1</sup>

Na Bahia, no ano de 2011, o rendimento médio da mamona em bagas foi de 644 kg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2012). Isso pode ser explicado em função do baixo nível tecnológico empregado pela maioria dos produtores rurais e pela reduzida oferta de cultivares e híbridos selecionados para alta produtividade de grãos, para colheita mecânica (porte) e para resistência a doenças.

Em função do adensamento de populações de uma mesma espécie, a expansão agrícola contribuiu para maior disseminação dos agentes etiológicos de algumas doenças. Mesmo sendo uma planta rústica, a mamoneira é suscetível a várias moléstias, dentre as quais se destaca o mofo-cinzento, causado pelo fungo *Botryotinia ricini* (Godfrey) Whetzel (anamorfo: *Amphobotrys ricini* (N.F. Buchw.)

Hennebert) pertencente à classe dos Ascomycetes, ordem Heliales e família Sclerotiniaceae (LIMA et al., 2001; ARAÚJO et al., 2007).

Os sintomas se caracterizam, inicialmente, pelo aparecimento de pequenas manchas de cor azulada, tanto no caule quanto nas inflorescências, as quais exsudam gotas amareladas e posteriormente, sob condições climáticas favoráveis, surgirão as hifas do patógeno sobre os frutos, conferindo-lhe um aspecto pulverulento cinza (BATISTA et al., 1998).

Em função da infecção, pode ser constatada total deterioração das inflorescências, em que os cachos tornam-se frouxos, com as capsulas pendentes. As sementes afetadas poderão chochar e ter comprometimento significativo em seu teor de óleo, em função do estágio em que ocorreu a infecção (MASSOLA JR & BENDENDO, 2005)

Acompanhando o cultivo da mamoneira pelo país, o fungo pode ser encontrado em qualquer região, desde que as condições climáticas sejam favoráveis, ou seja, na presença de alta umidade relativa e sob temperatura de 25°C (WILCOX et al., 1994; KIMATI, 1995; LATORRE et al., 2002; SUSSEL, 2008).

A utilização de genótipos resistentes é a tática de manejo menos onerosa e desejável para o controle de doenças, porém cultivares com níveis elevados de resistência ao mofo-cinzento ainda estão sendo desenvolvidas. Existem poucos trabalhos sobre a resistência de genótipos de mamoneira ao mofo-cinzento no Brasil; porém, com o aumento do interesse no cultivo desta oleaginosa em regiões com condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento dessa enfermidade, sua importância aumentou, fomentando a necessidade da realização de experimentos nessa área, tanto para identificação de genótipos resistentes quanto para a adaptação de novas cultivares a essas regiões (MILANI et al., 2005).

Segundo Melhorança & Staut (2005), a incidência do mofo-cinzento é maior em regiões com alta umidade relativa e elevada pluviosidade durante o período reprodutivo da mamoneira, em que foram descritas perdas superiores a 50%, constatadas pela destruição de flores e bagas, deterioração dos grãos e redução do teor de óleo.

Segundo Lima et al., (2001), os problemas com o mofo-cinzento cresceram em função da intensificação do cultivo de mamoneiras mais produtivas, porém

com pouca resistência a esta doença. Dentre as características morfológicas que estão correlacionadas com a multiplicação e infecção do mofo-cinzento na mamoneira, estão o porte baixo, densidade de acúleos, compactação do racemo e conformação da planta, causando aumento na incidência dessa moléstia em função de uma menor ventilação, maior aderência dos esporos do fungo e formação de um microclima favorável no interior de suas copas (LIMA & SOARES, 1990; MASSOLA JR. & BENDENDO, 2005; MILANI et al., 2005).

O controle do mofo-cinzento é muito difícil, haja vista que o fungo se dissemina com facilidade nas áreas de cultivo, por meio do vento e insetos, podendo sobreviver de um ano para outro em mamoneiras espontâneas, sementes infectadas e no solo na forma de escleródios (MILANI et al., 2005).

Em função de não haver medidas curativas que venham a controlar satisfatoriamente o mofo-cinzento da mamoneira, principalmente que ainda não existe uma recomendação efetiva de fungicidas registrada no Ministério da Agricultura e do Abastecimento (COMPÊNDIO, 1999; MAPA, 2011), o uso de medidas preventivas, baseadas no manejo integrado, é a principal estratégia para evitar o progresso desta doença.

A prevenção é a melhor forma para se minimizar a disseminação do mofo-cinzento, procurando retardar o início da epidemia ou a redução da taxa da doença (MELHORANÇA & STAUT, 2005). Por meio do uso de sementes certificadas, associado à semeadura em locais isentos de patógenos, uso de rotação de culturas, manejo adequado da cultura e adoção de maiores espaçamentos, contribuirão para formação de um pomar isento de doenças e com alta produtividade (GONÇALVES, 1936; LIMA et al., 2001).

Segundo Freire et al.,(2001), o programa de melhoramento genético busca a obtenção de genótipos de mamoneira mais produtivos, precoces, com características semideiscentes, de porte médio e baixo, adaptados à colheita mecânica, com alto teor de óleo e resistente ou tolerante às principais pragas e doenças para tornar disponível aos produtores.

O uso de genótipos resistentes ao mofo-cinzento é a maneira mais recomendada para combater essa doença (MELHORANÇA & STAUT, 2005;). Porém, existe pouca literatura relatando a resistência dos genótipos de mamoneira à infecção causada pelo *A. ricini* no Brasil (MASSOLA JR & BENDENDO, 2005; FERNANDES et al., 2006).

Dos trabalhos existentes no Brasil, conduzidos para avaliar a sensibilidade de genótipos de mamoneira ao mofo-cinzento, os autores utilizaram diferentes metodologias, as quais baseadas na avaliação do número de racemos infectados por planta, investigando dessa maneira o grau de incidência desta fitomoléstia. Já a severidade, pode ser avaliada com uso de escalas diagramáticas, as quais caracterizam o nível da doença por meio de uma escala de notas pré-estabelecida ou por meio da quantificação de caracteres morfológicos de cada genótipo (COSTA et al., 2004; SILVA, 2007; CHAGAS et al., 2010) .

A resistência genética existe e mostra-se correlacionada com alguns aspectos morfológicos e genéticos desta oleaginosa; motivo pelo qual trabalhos vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de identificar genótipos resistentes e adaptados à região do Recôncavo baiano. Esta pesquisa objetivou avaliar a resistência de cinco genótipos de mamoneira ao mofo-cinzento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi conduzida na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no setor do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), em Cruz das Almas - Bahia, no período compreendido entre os meses de abril a dezembro de 2010.

De acordo com Nacif et al. (2008) o município está localizado na microrregião geográfica Santo Antônio de Jesus, região econômica Recôncavo Sul. Situada no planalto pré-litorâneo, Cruz das Almas possui clima tropical quente e úmido (Am), segundo a classificação de Köeppen e altitude de 220m acima do nível do mar. Com pluviosidade média anual de 1.240mm, com variações entre 900 e 1.300mm, sendo os meses de março a agosto os mais chuvosos e de setembro a fevereiro os mais secos, com temperatura média anual de 24°C (EMBRAPA, 2010).

O material vegetal avaliado foi composto por cinco genótipos, os quais: Mirante 10, EBDA MPA-11, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28. Esses genótipos foram obtidos junto a Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), estação experimental de Itaberaba-BA.

A área foi preparada por meio de roçagem, aração e gradagem. Depois de feita a análise de solo, foi realizada adubação, seguindo recomendações da análise de fertilidade química. Para a correção do solo, foram aplicados a lanço  $1.000 \text{ kg.ha}^{-1}$  de calcário dolomítico. As covas com dimensões de  $20 \times 20 \text{ cm}$ , foram feitas com o auxílio de enxada, recebendo em seguida a adubação na dosagem de  $20 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N,  $80 \text{ kg.ha}^{-1}$  de P e  $50 \text{ kg.ha}^{-1}$  de K.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, constando de cinco repetições e 5 tratamentos, formado pelos genótipos Mirante 10, EBDA MPA-11, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28. Cada parcela apresentava a dimensão útil de  $15,0 \times 5,0 \text{ m}$ , em que as linhas laterais eram as bordaduras.

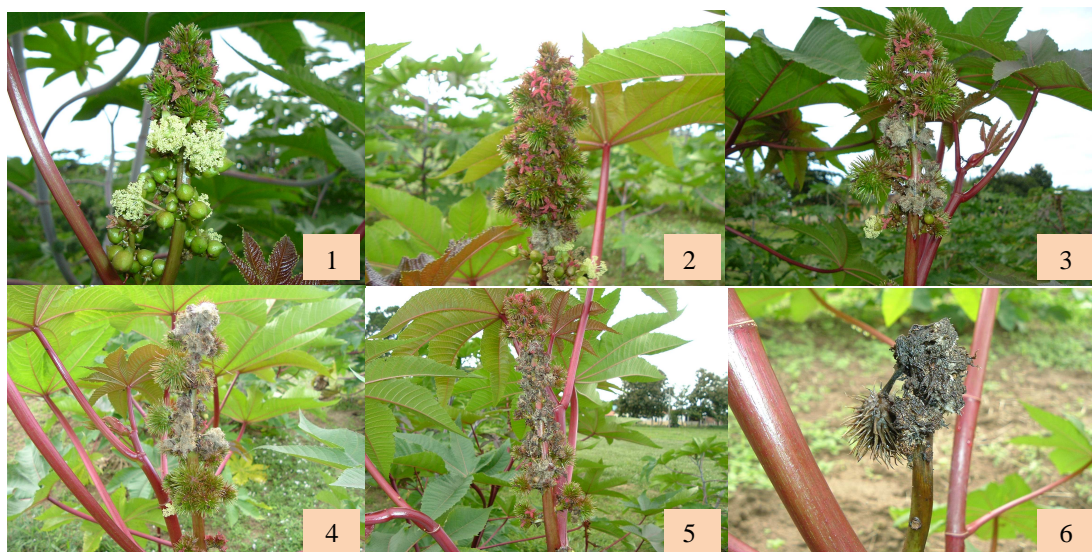
O espaçamento utilizado foi  $3,0 \times 1,0 \text{ m}$  e cada bloco era composto por cinco fileiras úteis, totalizando 125 covas. A semeadura foi feita com 6 sementes em cada cova e 15 dias após a emergência, realizou-se o desbaste, deixando uma planta por cova.

A semeadura foi realizada durante a estação chuvosa, abril 2010, em condição de sequeiro. Para o controle das plantas daninhas, realizaram-se duas capinas manual.

A avaliação da incidência e severidade natural do mofo-cinzento teve início aos 61 dias após a semeadura. As plantas foram avaliadas durante 22 semanas consecutivas, abrangendo os dias: 30/06/10; 07/07/10; 14/07/10; 21/07/10; 28/07/10; 04/08/10; 11/08/10; 18/08/10; 25/08/10; 01/09/10; 08/09/10; 15/09/10; 22/09/10; 29/09/10; 06/10/10; 13/10/10; 20/10/10; 27/10/10; 03/11/10; 10/11/10; 17/11/10 e 24/11/10.

As avaliações foram feitas em 22 semanas, porém para análise gráfica utilizou-se apenas as 9 semanas iniciais, em que se avaliou o grau de severidade que o mofo-cinzento provocou sobre os genótipos: EBDA MPA-11, Mirante 10, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28, baseado na escala diagramática de notas proposta por Chagas, 2010 em campo (Figura 1).





**Figura 1.** Fotos da área experimental, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), representando o percentual de infecção dos racemos da mamoneira, baseados na escala diagramática de Chagas (2010), onde: 1- ausência de sintomas; 2 - 8%; 3 - 22%; 4 - 43%; 5 -76% e 6 -100%.

Para a incidência, contou-se o número de racemos infectados por planta, expressando os valores em termos percentuais. Os dados obtidos foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$  e posteriormente submetidos a uma análise de regressão.

A severidade foi realizada apenas no primeiro racemo emitido pela planta, baseando-se na escala diagramática proposta por Chagas (2010), seguindo-se os níveis de 0, 8%, 22%, 43%, 76% e 100% de percentagem do cacho infectado. Após tabulado, os dados foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$  e submetidos a uma análise de regressão.

Tanto os dados de incidência quanto os de severidade foram submetidos a análise de variância utilizando o programa computacional SAS System para Windows, versão 9.1 (SAS Institute INC, 2004) e posteriormente feito uma análise de regressão.

Ao final do ciclo da cultura, no dia 28/12/2010, iniciou-se a colheita dos racemos e avaliação das plantas, por meio de 12 caracteres, sendo: estatura da planta (EST), medido por meio da distância da base do solo até a inserção do último ramo da planta com o auxílio de trena milimetrada; número de racemos

emitidos por planta (NRE) e altura do primeiro racemo (APR), medido por meio da distância da inserção do primeiro racemo até o nível do solo, com o auxílio de trena milimetrada.

Os caracteres comprimento efetivo do racemo (CER) e comprimento do racemo sem enchimento (CRSE) foram mensurados por meio de régua milimetrada quando o mesmo encontrava-se com sua maturação plena. Estes caracteres, acrescido da massa do racemo (MR), massa do racemo total por planta (MRTP), número de frutos por racemo (NFR) e número de grãos por racemo (NGR) foram realizados no primeiro racemo de cada planta, utilizando régua e balança digital de precisão.

A massa de frutos por planta (MFP) foi obtido mediante pesagem dos frutos em cada planta. Após secagem ao sol em terreiro, as sementes que não foram removidas dos frutos por deiscência, foram extraídas com alicate de poda manualmente. Os grãos foram pesados para determinação da sua massa por planta (MGP) e a partir deste a produtividade (PROD) foi mensurada em função do tamanho da área útil e expressa em  $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Todos os caracteres agrônômicos foram submetidos à análise de variância por meio do programa SISVAR (FERREIRA, 2001), onde as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Avaliação da severidade de *A. ricini* em campo**

A análise de variância foi significativa em nível de 1% de probabilidade (Tabela 1.) para a interação semana x genótipo com relação à severidade do mofo-cinzento nas condições do Recôncavo Baiano, em Cruz das Almas-BA.

**Tabela 1.** Análise de variância para severidade de *Amphobotrys ricini* em cinco genótipos de mamoneira na área experimental do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Cruz das Almas, 2010.

FV	GL	QM
Bloco	4	0,12
Genótipo	4	0,65**
Genótipo x Bloco	16	0,13
Semana	21	0,57**
Sem x Genót	72	0,17**
Erro	262	0,05
CV (%)	51,47	
Média Geral	23,83	

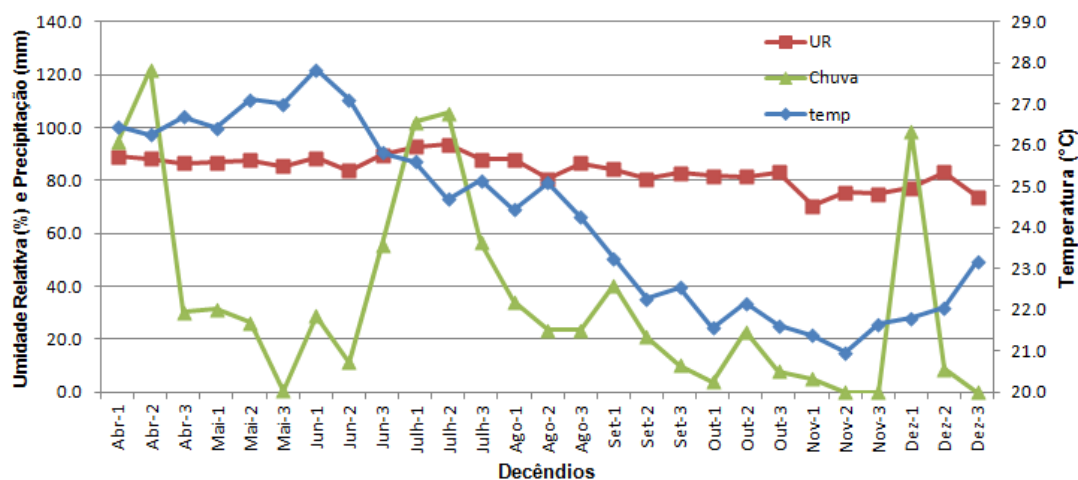
\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade.

Dentre os cinco genótipos avaliados, o Mirante 10 demonstrou ser suscetível ao mofo-cinzento desde a primeira semana de avaliação, a qual coincidiu com o terceiro decêndio do mês de junho, em que a temperatura (22,5°C) e umidade relativa (89,7%) favoreceram a esporulação do patógeno e infecção dos racemos. A partir da sexta semana de avaliação, notou-se um decréscimo na severidade dos racemos, o que provavelmente ocorreu em função do baixo índice pluviométrico, o que dificultou a disseminação do patógeno, reduzindo taxa de infecção da doença.

Na Figura 2 podem ser observadas as variações climáticas dos fatores temperatura, umidade relativa e precipitação pluviométrica nos decêndios referentes aos meses de condução do experimento, nas condições climáticas do município de Cruz das Almas - BA.

Como pode ser verificada, a temperatura média mensal foi de 23,6°C, a umidade relativa do ar (83,4%) e a pluviosidade acumulada durante o período vegetativo e reprodutivo foi de (746,3 mm) para o ano de 2010, portanto, faixa ideal para o desenvolvimento desta cultura (BELTRÃO et al. 2007) e incidência natural do mofo-cinzento.

Os fatores climáticos são decisivos para a obtenção de um bom desempenho vegetativo e produtivo das espécies cultivadas, em função dos mesmos interferirem diretamente nos processos morfofisiológicos da planta, contribuindo dessa maneira para a formação e constituição estrutural do vegetal (LIMA, 2010).

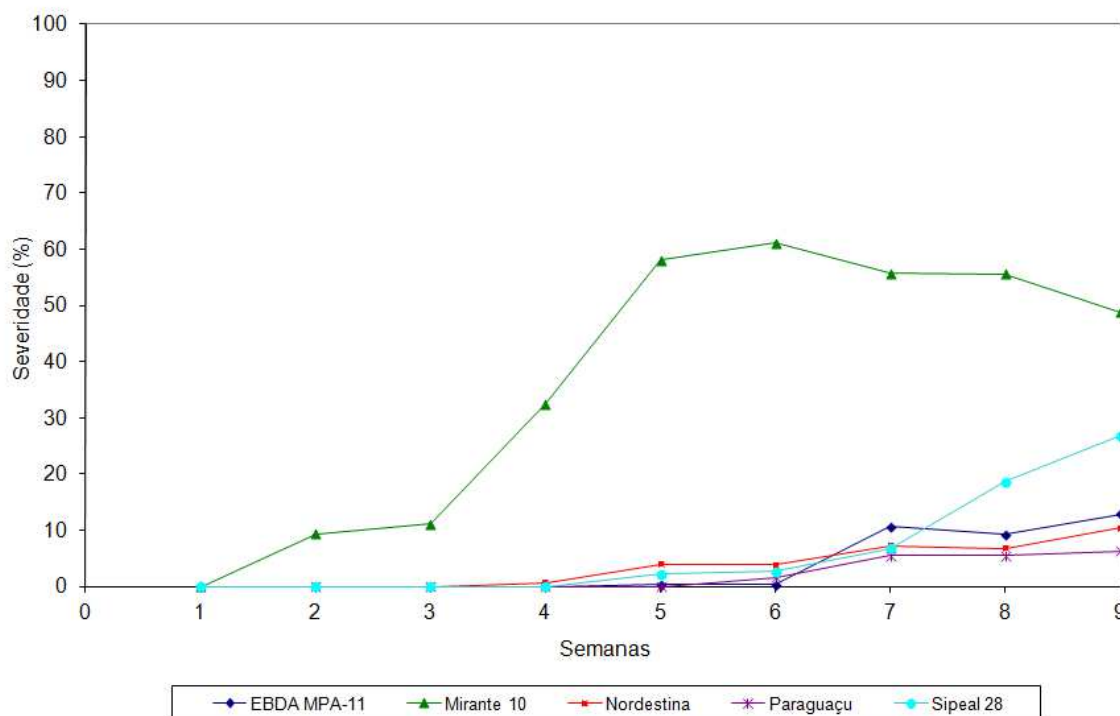


Fonte: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011

**FIGURA 2.** Valores médios de temperatura do ar (°C), precipitação pluviométrica (mm) e Umidade relativa (%) para os decêndios dos meses de abril a dezembro de 2010, nas condições climáticas de Cruz das Almas-BA.

Para os genótipos Sipeal 28, Nordestina, Paraguaçu e EBDA MPA-11, nota-se que os mesmos apresentaram uma maior tolerância ao mofo-cinzento, o que pode ser demonstrado pelo gráfico (Figura 3.). Para os mesmos houve um atraso no início da epidemia, o que favoreceu seus maiores rendimentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Costa et al. (2009), em que as cultivares IAC 2028, IAC 226, IAC 80, Guarany e Paraguaçu foram avaliadas quanto a severidade do mofo-cinzento, ficando evidenciado que a Paraguaçu foi a mais resistente nas 2 épocas sucessivas de cultivo.

Um ponto importante pra o uso da resistência genética no controle das doenças de plantas é a proteção ambiental, assim como a produção sadia (sem resíduo de agrotóxicos) e a saúde do trabalhador. Consiste na medida em que possui o menor custo ao produtor e por ser de fácil utilização (CAMARGO & BERGAMIM FILHO, 1995).



**Figura 3.** Valores médios para severidade de ataque em racemos de mamoneira provocada pelo *Amphobotrys ricini* nos genótipos: EBDA MPA-11, Mirante 10, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28, em área experimental, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Segundo Vanderplank (1963), existem dois tipos de resistência genética, a resistência vertical (RV) e resistência horizontal (RH). A resistência vertical é efetiva contra poucas raças do patógeno e pode ser facilmente quebrada. Já a resistência horizontal é efetiva contra várias raças do patógeno.

Existem trabalhos descritos na literatura sobre a herança da resistência em outras culturas ao fungo do gênero *Amphobotrys*. Em muitos casos, é comum a herança monogênica ou controlada por poucos genes (NIKOLIC, 1997). Mas conforme seus trabalhos, Jennings (1983) & Lin et al., (1995), verificaram existirem heranças poligênicas com ação gênica aditiva para resistência a *Botrytis* em *Hibiscus cannabinus* L. e cebola (*Allium cepa*), respectivamente. Pela maioria dos genótipos avaliados exibirem reações quantitativas ao mofo-cinzento, espera-se que a resistência da mamoneira a esta doença seja poligênica ou horizontal.

### Avaliação da incidência de *A. ricini* em campo

A análise de variância foi significativa em nível de 1% de probabilidade (Tabela 2.), para a interação semana x genótipos com relação à incidência do mofo-cinza nas condições do Recôncavo Baiano, em Cruz das Almas-BA. Em outros trabalhos, também foram encontradas diferenças significativas entre genótipos de mamoneira para incidência dessa mesma enfermidade (LOPES et al, 2007; UENO et al. 2004).

**Tabela 2.** Análise de variância para incidência de *Amphobotrys ricini* em cinco genótipos de mamoneira na área experimental do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Cruz das Almas, 2010.

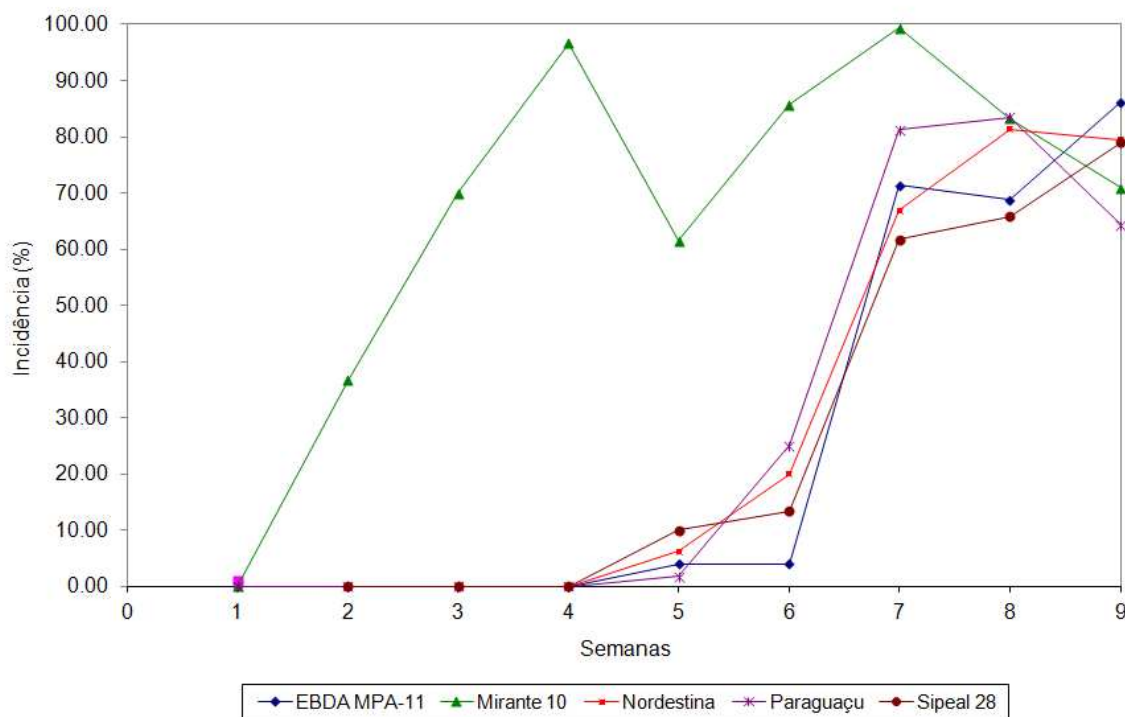
FV	GL	QM
Bloco	4	0,19
Genótipo	4	0,31
Genótipo x Bloco	16	0,12
Semana	21	3,80**
Sem x Genót	73	0,35**
Erro	268	0,11
CV (%)	30,40	
Média Geral	69,71	

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade.

Segundo a Figura 4, pode ser observada que a incidência para o genótipo Mirante 10 aumentou progressivamente no decorrer das semanas de avaliação, com dois picos de incidência nos meses de julho e agosto, períodos em que provavelmente ocorreu maior colonização e infecção dos racemos desse genótipo.

Resultado semelhante foi encontrado por Fernandes et al. (2006) ao avaliar a intensidade desta mesma doença em cinco cultivares de mamoneira (Guarany, AL Guarany 2002, Mirante 10, híbrido Lyra e híbrido 2), observando que todas

comportaram-se como suscetíveis; fato este que comprometeu suas respectivas produtividades.



**Figura 4.** Valores médios para incidência em racemos de mamoneira provocada pelo *Amphobotrys ricini* nos genótipos: EBDA MPA-11, Mirante 10, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28, em área experimental, pertencente ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Os genótipos EBDA MPA-11, Nordestina e Paraguaçu, exibiram um bom nível de tolerância para essa fitomoléstia, o que pode ser visualizado por meio do gráfico (Figura 4) e que provavelmente influenciou nos maiores rendimentos. Enquanto que o Sipeal 28 e Mirante 10 obtiveram valores intermediários e altos para esse caráter, respectivamente. Resultados parecidos foram encontrados por Zuchi et al., (2010), em que foi constatado a tolerância das cultivares Paraguaçu e IAC 80 para essa mesma moléstia.

## **Avaliação de caracteres agrônômicos da mamoneira (*Ricinus communis* L.)**

A estatura de plantas é um dos caracteres mais importantes para a mamoneira, pois influencia na tecnologia de produção da cultivar. Na Tabela 3, encontra-se o desempenho de cinco genótipos em 12 caracteres agrônômicos.

Com referência a estatura da planta os genótipos avaliados foram classificados em dois grupos, de acordo com o teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade: grupo de menor estatura formado pelos genótipos Mirante-10, Nordestina e Sipeal 28 e o de maior estatura, representado por EBDA MPA-11 e Paraguaçu.

Provavelmente esse caráter pode ter influenciado na alta produtividade desses últimos genótipos, haja vista que plantas com porte elevado apresentam seus racemos mais espaçados, dificultando dessa maneira a formação de um microclima favorável ao mofo-cinza.

As cultivares Paraguaçu e Nordestina apresentaram estatura de 3,00 e 2,80 cm, respectivamente (Tabela 3.), o que as caracteriza como cultivares de porte alto. Resultados semelhantes foram obtidos por Costa *et al.* (2006), no município de Areia – PB, em que baseado em suas respectivas estaturas (2,32 cm e 2,50 cm), as caracterizaram como cultivares de porte médio e alto, respectivamente.

Ao contrário, Cartaxo *et al.* (2004) por meio de ensaios de competição para as cultivares Paraguaçu e Nordestina em municípios da Paraíba, Pernambuco e Bahia, encontraram que as mesmas apresentaram estatura média de 1,60 cm e 1,80 cm, o que as classifica como cultivares de porte anão.

A cultivar Mirante 10 teve altura média de 2,76 cm (Tabela 3.), o que a caracteriza como cultivar de porte alto. Porém, em trabalho conduzido por FERREIRA *et al.* (2006) foi encontrado que a mesma apresentou 1,55 cm, sendo assim classificada como uma cultivar anão. Este caráter é considerado adaptativo, visto se ajustar de diversas formas em função de cada ambiente. Portanto justifica-se esta variabilidade de comportamento.

Analisando altura do primeiro racemo (APR) das cultivares utilizadas, verificou-se que a Mirante 10 (0,86 cm), EBDA MPA-11 (0,89 cm), Nordestina (1,02 cm), Paraguaçu (1,10 cm) e Sipeal 28 (0,98 cm) não diferiram



estatisticamente entre si e obtiveram valores médios para esse caráter (Tabela 3.). Demóstenes et al. (1997), estudando algumas cultivares de mamoneira, encontrou resultados superiores para altura do primeiro racemo.

Segundo Beltrão (2003), a altura do primeiro cacho é uma característica ligada a precocidade da planta, sendo considerada mais precoce a planta que lança o primeiro cacho em menor altura. Isso pode ter contribuir para uma maior infecção dos racemos pelo mofo-cinzento, uma vez que a precocidade na emissão desses esteja intimamente relacionada ao período mais chuvoso e de maior esporulação do patógeno.

Para o caráter NRE, o genótipo Mirante 10 (18,19 cm) foi o que apresentou maior valor, dentre os demais tratamentos. Porém, não diferiu significativamente do EBDA MPA-11 e Nordestina (Tabela 3). Conforme Freire et al. (2001), a avaliação do caráter número de racemo emitido por planta é importante para seleção de cultivares mais produtivas. No entanto, em função de sua menor resistência ao mofo-cinzento, o genótipo Mirante 10 foi o que apresentou o menor rendimento ( $218,66 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), diferindo significativamente dos demais.

Para os caracteres: CER, CRSE, NFR e NGR, as maiores médias encontradas foram para a cultivar Nordestina, a qual diferiu significativamente das demais. Esses caracteres provavelmente contribuíram para sua alta produtividade ( $951,24 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), em função de estarem correlacionados com uma arquitetura do cacho aberta (COSTA et al., 2004), o que reduz a infecção dos frutos pelo mofo-cinzento.

Ao contrário, SANTOS et al., (2008) em trabalho conduzido no município de Angical-BA, encontrou uma maior produtividade para a cultivar BRS Paraguaçu, correspondendo a  $2.231 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , a qual diferiu significativamente das cultivares: Sangue de Boi, China, Preta Pernambucana, Sipeal 28, Mirante 10 e Nordestina.

O rendimento entre os genótipos avaliados sem aplicação de fungicidas para o controle de moléstias, variou de  $218,66 \text{ kg ha}^{-1}$  à  $951,24 \text{ kg ha}^{-1}$ , sendo representados respectivamente pelas cultivares Mirante 10 e Nordestina, as quais diferiram estatisticamente entre si.

**Tabela 3.** Avaliação de caracteres agrônômicos: EST= Estatura da planta (cm); APR= Altura do primeiro racemo (cm); NRE= Número de racemos emitidos por planta; CER= Comprimento efetivo do racemo (cm); CRSE= Comprimento do racemo sem enchimento (cm); NFR= Número de frutos por racemo; NGR= Número de grãos por racemo; MRTP= Massa de racemo total por planta (g); MFP= Massa de fruto por planta (g); MR= Massa do racemo (g); MGP= massa de grãos por planta (g) e PROD= Produtividade (kg.ha<sup>-1</sup>), nos genótipos Mirante 10, EBDA MPA-11, MPB-21, Nordestina, Paraguaçu e Sipeal 28, na área experimental do NBIO/CCAAB/UFRB. Cruz das Almas, 2010.

Genótipos	Caracteres Agrônômicos											
	EST	APR	NRE	CER	CRSE	NFR	NGR	MRTP	MFP	MR	MGP	PROD
Mirante 10	2,76 a	0,86 a	18,19 b	14,93 a	8,95 a	3,03 a	5,78 a	157,10 a	134,00 a	23,05 a	65,60 a	218,66 a
EBDA MPA-11	3,04 b	0,89 a	17,67 b	17,71 a	11,40 a	22,92 d	55,35 c	574,17 c	528,54 c	45,63 b	283,94 b	946,47 b
Nordestina	2,80 a	1,02 a	15,45 b	29,70 b	17,93 b	28,45 d	77,27 d	640,46 c	584,10 c	56,40 b	285,37 b	951,24 b
Paraguaçu	3,00 b	1,10 a	12,79 a	15,35 a	10,59 a	17,29 c	43,54 c	549,83 c	503,62 c	46,21 b	241,07 b	803,55 b
Sipeal 28	2,64 a	0,98 a	11,15 a	15,43 a	7,69 a	10,56 b	21,63 b	383,24 b	344,74 b	38,50 b	179,55 b	598,49 b

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott em 5% de probabilidade.

Baseado na média de produtividade obtida nos trabalhos realizados sob baixas altitudes e a produtividade média nos dois últimos anos para o estado da Bahia de 668 kg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2012). Para a região do Recôncavo Baiano, os genótipos testados apresentaram produtividade média de 654,83 kg.ha<sup>-1</sup>, considerada satisfatória, uma vez que o experimento teve alta incidência do mofo-cinzento.

## CONCLUSÃO

Dentre os genótipos avaliados, Mirante 10 é o menos tolerante ao mofo-cinzento, conforme sua baixa produtividade e elevados níveis de incidência e severidade de *Amphobotrys ricini*;

A maioria dos componentes de rendimento (NFR, NGR, MRTP, MFP, MR, MGP e PROD) e o caráter adaptativo (EST) apresenta comportamento significativo entre os genótipos com identificação de resistência ao mofo-cinzento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A. E. de; SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Doenças e seu manejo. In: AZEVEDO, D. M. P. de; BELTRÃO, N. E. de M. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2007. p. 281-303.

BATISTA, F. A. S.; LIMA, E. F.; MOREIRA, J. de A. N., AZEVEDO, D. M. P. de; PIRES, V. A.; VIEIRA, R. M.; SANTOS, J. W. dos **Avaliação da resistência de genótipos de mamoneira *Ricinus comunis* L. ao mofo cinzento causado por *Botrytis ricini* Godfrey**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1998. 5p. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 73)

BELTRÃO, N. E. de M. **Crescimento e desenvolvimento da Mamoneira (*Ricinus communis* L.)** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 4 p. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 146.).

BELTRÃO, N. E. de M.; AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, R. de L. S. de; QUEIROZ, W. N. de; QUEIROZ, W. C. de. Ecofisiologia. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Embrapa Algodão (Campina Grande – PR). 2.ed. rev. e .ampl. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 22-41p.

BELTRÃO, N. E. de M.; SILVA, C. L.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P. de.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa-Algodão, 2001. cap. 2, p. 37-61.

CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1995. cap. 37, p.729-760.

CARTAXO, W. V.; BELTRÃO, N. E. de M.; SILVA, O. R. R. F.; SEVERINO, L. S.; SUASSUNA, N. D.; SOARES, J. J. **O cultivo da mamona no semi-árido**

**brasileiro**. Campina Grande: Embrapa-CNPA. 20 p., 2004. (Embrapa – CNPA. Circular Técnica, 77).

CARVALHO, L. O. Mamona (*Ricinus communis* L.). In: SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. **Manual técnico das culturas**. 2. ed. Campinas, 1997. cap. 11, p. 349-368.

CHAGAS, H. A.; BASSETO, M. A.; ROSA, D. D.; ZANOTTO, M. D.; FURTADO, E. L. Escala diagramática para avaliação de mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.164-167, 2010.

COMPÊNDIO de defensivos agrícola: **Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 6. ed. São Paulo: Organização Andrei, 1999. 672 p.

COSTA, F. P.; MARTINS, L. D.; SOUZA, A. F.; SANTOS, A. R.; BELAN, L. L. Épocas de plantio de cultivares de mamona na evolução da severidade do mofo cinzento e nas variáveis de crescimento. **Revista Verde**, Mossoró – RN .v.4, n.4, p. 122 -128. outubro/dezembro, 2009.

COSTA, M. N. da; PEREIRA, W. E.; BRUNO, R. de L. A.; FREIRE, E. C.; NÓBREGA, M. B. de M.; MILANI, M.; OLIVEIRA, A. P. de. Divergência genética entre acessos e cultivares de mamoneira por meio de estatística multivariada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 11, p. 1617-1622, 2006.

COSTA, R. S.; SUASSUNA, T. M. F.; MILANI, M.; COSTA, M. N.; SUASSUNA, N. D. **Avaliação da resistência de genótipos de mamoneira ao mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*)**. I Congresso Brasileiro de Mamona: Energia e Sustentabilidade. Campina Grande-PB, 2004.

DEMÓSTENES, D. J; COSTA, E. F; LIMA A. S. **Avaliação do crescimento de variedades de mamona**. Viçosa, MG: UFV. 1997. 75 p.

EMBRAPA. **Centro de Pesquisa Mandioca e Fruticultura Tropical da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Cruz das Almas, BA, 2010. Disponível em: <[http://www.cnpmf.embrapa./index.php?menu=1&p=a\\_unidadelocalizacao.php?men=1](http://www.cnpmf.embrapa./index.php?menu=1&p=a_unidadelocalizacao.php?men=1)>. Acesso em: 22 dez. 2010.

FERNANDES, C. D.; PEREIRA, F. A. B.; SHERREN, B. R. Intensidade de doenças em cultivares de mamoneira cultivadas em diferentes arranjos populacionais. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.31, suplemento, p.226, 2006 (Resumo).

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar**: versão Windows 5.3. Lavras: UFLA, 2001.

FERREIRA, G. B.; MENDOZA, R. V.; SILVA, S. P.; CRONEMBOLD, P.; MOURÃO JÚNIOR, M. Comportamento de alguns híbridos e variedades de mamona em santa cruz de la sierra, bolívia In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2., 2006, Aracajú. **Anais...**Aracajú, 2006. CD-ROM.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P. de. Melhoramento genético. In: AZEVÊDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Algodão. p. 229-256, 2001.

FREIRE, E. C.; LIMA, F. A. C.; ANDRADE, F. P.; MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. M. Melhoramento genético. In: AZEVEDO, D.M.P.; BELTRÃO, N.E.M. (Ed.) **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2ª ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 169-194.

GIBELLI, F. Projeto poliuretano de óleo de mamona e seus subprodutos. In: Câmara, G. M. S., Chiavegato, E. J. (Coord.). **O agronegócio das plantas oleaginosas**. Pi racicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/ Departamento de Produção Vegetal, 2001. cap. 10, p. 181-184.

GONÇALVES, R. D. O. Mofo cinzento da mamoneira. **O Biológico**, v.11, p.232-235, 1936.

GRIEVE, M. **Castor oil plant**. Botanical.com: A modern herbal. Disponível em: [www.botanical.com/botanical/mgmh/c/casoil32.html](http://www.botanical.com/botanical/mgmh/c/casoil32.html). Acesso em: 10 de outubro 2011.

IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística do Rendimento Agrícola**. 2010/2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm> >. Acesso em 12 jan. 2012.

JENNINGS, D. L. Inheritance of resistance to *Botrytis cinerea* and *Didymella applanata* in canes of *Rubus idaeus*, and relationships between these resistances. **Euphytica**, v. 32, n. 3, p. 805-901, 1983.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia** 3. ed São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p. 46-95.

LATORRE, B. A.; RIOJA, M. E.; LILLO, C. Efecto de la temperatura em el desarrollo de la infeccion producida por *Botrytis cinerea* em flores y bayas de uva de mesa. **Ciência e Investigacion Agrária**, Santiago, v.9, n.3, p.145-151, 2002.

LIMA, E. F.; ARAÚJO, A. E.; BATISTA, F. A. D. Doenças e seu controle. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 191-212.

LIMA, E. F.; SOARES, J. J. Resistência de cultivares de mamoneira ao mofo-cinzento causado por *Botrytis ricini*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p. 96-97, 1990.

LIMA, J. F. **Avaliação de cultivares de mamoneira no recôncavo sul baiano**. 2010. 108 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas, BA.

LIN, M. W.; WATSON, J. F.; BAGGETT, J. R. Inheritance of resistance to neck-rot disease incited by *Botrytis allii* in bulb onions. **Journal of American Society for Agricultural Science**, v. 120, n.2, p. 297-299, 1995.

LOPES, G. E. M.; SHIMOYA, A. ; OLIVEIRA, L. A. A. de.; VALENTINI, L. . **Avaliação da incidência de mofo cinzento em genótipos de mamoneira no período outono-inverno em Itaocara-RJ**. 4º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, gorduras e Biodiesel. Varginha – MG. p. 834-840, 2007.

MAPA. **AGROFIT** – sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011. Disponível em: < [Http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 07 de outubro. 2011.

MASSOLA Jr.; BENDENDO, I. P. Doenças da mamoneira (*Ricinus communis* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p. 445-447

MELHORANÇA, A. L.; STAUT, T. A. **Indicações técnicas para a cultura da mamona em Mato Grosso do Sul**. Dourados. Embrapa Agropecuária Oeste. 2005.

MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. M; SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M.; **Resistência da mamoneira (*Ricinus communis* L.) ao mofo cinzento causado por *Amphobotrys ricini***. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005, 22p. (Embrapa Algodão. Documentos, 137)

NACIF, P. G. S.; RESENDE, J.O.; FONTES, L. E. F.; COSTA, L. M.; COSTA, O. V. Efeitos da subsolagem em propriedades físico-hídricas de um latossolo amarelo distrocoeso do estado da Bahia. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 20, n. 2, p. 186-192, abr./ jun., 2008.

NÓBREGA, M. B. M.; ANDRADE, F. P.; SANTOS J. W.; MILANI, M.; LEITE, E. J. Germoplasma, In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.) **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Algodão, 2001. cap. 11., p. 257-281.

NIKOLIC, D. Genetic variability of some important seedlings characters of the F1 generation at interspecies hybridization in grapevine. **Review of Research Work at the Faculty of Agriculture**, v. 42, n. 2, p. 117-128, 1997.

SANTOS, J. B.; AZEVEDO, C. A. V.; RIOS, D. M.; SANTOS, C. A. A.; SANTIAGO, A. N.; BELTRÃO, N. E. M.; ALVES, G.S. Desenvolvimento produtivo de cultivares de mamona em regime de sequeiro no município de Angical-BA In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 3., 2008, Salvador. **Anais...**Salvador, 2008. CD-ROM.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, **version 9.1** Cary: SAS Institute, 2004.

SILVA, A. P. **Intensidade do mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini* (Buchw.) Hennebert) em linhagens de mamoneira (*Ricinus communis* L.) cultivadas no estado de Alagoas e influência da adubação fosfatada na intensidade da doença nas cultivares Nordestina e Paraguaçu**. 2007. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias da UFAL – Rio Largo – Alagoas 2007.

SUSSEL, A. A. B. **Epidemiologia do mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira**. 2008. 116 p. Tese. (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, lavras, 2008.

UENO, B.; ZANATTA, Z.G.C.N.; SILVA, S. D. dos A.; GOMES, A. da C. Resistência à mancha-de-cercóspora, mofo cinzento e nematóides fitoparasitas de seis cultivares de mamoneira cultivadas na região de Pelotas, RS, safra 2003 / 2004. In: Congresso Brasileiro de mamona, I., 2004, Campina Grande, PB. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA, 2004. I CD-ROM.



VANDERPLANK, J. E. **Plant diseases: epidemics and control**. New York, Academic. 1963.

WILCOX, W. F.; SEEM, R. C. Relationship between strawberry gray mold incidence, environmental variables, and fungicide applications during different periods of the fruiting season. **Phytopathology**, St. Paul, v.84, n.3, p.264-270, 1994.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANANCIO, J. C.; PESKE, S. T.; SILVA, S. D. A.; SEDIYAMA, C. S. **Características agronômicas de cultivares de mamona em função do local de cultivo e da época de semeadura no Rio Grande do Sul**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.3, p.501-506, 2010.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura da mamoneira (*Ricinus communis* L.) apresenta importância econômica e social, além de constituir fonte de divisas para o país, por meio de sua produção rústica por pequenos produtores rurais ou através de plantios extensivos, que utilizam modernas técnicas de produção. Sua exploração racional, contudo, exige que sejam disponibilizados materiais resistentes ao mofo-cinzento associado à elevada produtividade e teor de óleo em suas sementes.

O mofo-cinzento, causado pelo *Amphobotrys ricini*, é a principal doença da mamoneira, e seu estudo epidemiológico constitui-se em ferramenta necessária para o entendimento da mesma. Considerando-se que a ricinocultura é uma das alternativas para melhoria da qualidade de vida do agricultor familiar do nordeste brasileiro, o conhecimento sobre sua incidência, severidade e interferência no rendimento desta oleaginosa, fornecerão dados necessários e importantes para alertar o poder público sobre a necessidade de ações que promovam seu manejo mais eficiente.

O presente trabalho demonstra que esse agente etiológico, por meio de marcadores morfológicos e moleculares, apresenta alta diversidade entre seus isolados, provavelmente em função da ação antrópica dispersando sementes contaminadas para as regiões propícias ao cultivo da mamoneira e/ou devido à dispersão anemófila e entomófila de suas estruturas reprodutivas. Esse fato associado com a alta capacidade de adaptação do fungo, por meio de mecanismos específicos de variabilidade genética, aumenta sua disseminação e colonização do hospedeiro, bem como no surgimento de novas cepas virulentas e com capacidade de quebrar a resistência varietal. Portanto é importante conhecer e monitorar a diversidade genética das populações do patógeno para o desenvolvimento de estratégias de manejo em longo prazo.

A utilização do melhoramento genético, favorecendo a seleção de genótipos resistentes ao mofo-cinzento é a estratégia mais aceitável pelos produtores, porém requer materiais resistentes a doença e tempo hábil para que os cruzamentos e seleções sejam realizados. Assim, se faz preciso um direcionamento dos trabalhos para o manejo integrado, com a inclusão de fungicidas a fim de aumentar a eficiência de controle a essa patologia.

Os resultados com tratamentos químicos *in vitro* e *ex situ* foram expressivos e os princípios ativos que permitiram um controle eficiente do *A. ricini* foram: Procimidone, Azoxistrobina, Captana e Iprodiona. Lembrando-se da importância em se alternar os princípios ativos, reduzindo assim a pressão seletiva e evitando a formação de super-raças do patógeno.

Deverão ser realizadas em futuros trabalhos, avaliações de novas diluições das concentrações recomendadas para os fungicidas: Tiofanato metílico, Tebuconazol, Difenconazol e Propiconazol, os quais inibiram 100% de crescimento micelial do *A. ricini* e não tiveram suas ED<sub>50</sub> determinadas, a fim de ajustá-las para uso comercial, justificando seu custo/benefício.

Sendo assim, o programa de melhoramento da mamoneira desenvolvido pela UFRB, por meio do NBIO, objetiva aperfeiçoar a exploração racional da mamoneira, mediante seleção de genótipos resistentes ao mofo-cinzento e mais adaptados às condições de baixa altitude e indicar fungicidas eficientes no controle do mofo-cinzento, favorecendo assim um incremento em sua produtividade.