

## Metodologia para a caracterização de genótipos de bananeira quanto à resistência ao mal-do-Panamá em casa-de-vegetação

Miguel Angel Dita Rodriguez<sup>1</sup>

Lindineia Ribeiro<sup>2</sup>

Edson Perito Amorim<sup>1</sup>

Zilton José Maciel Cordeiro<sup>1</sup>

Sebastião de Oliveira e Silva<sup>2</sup>

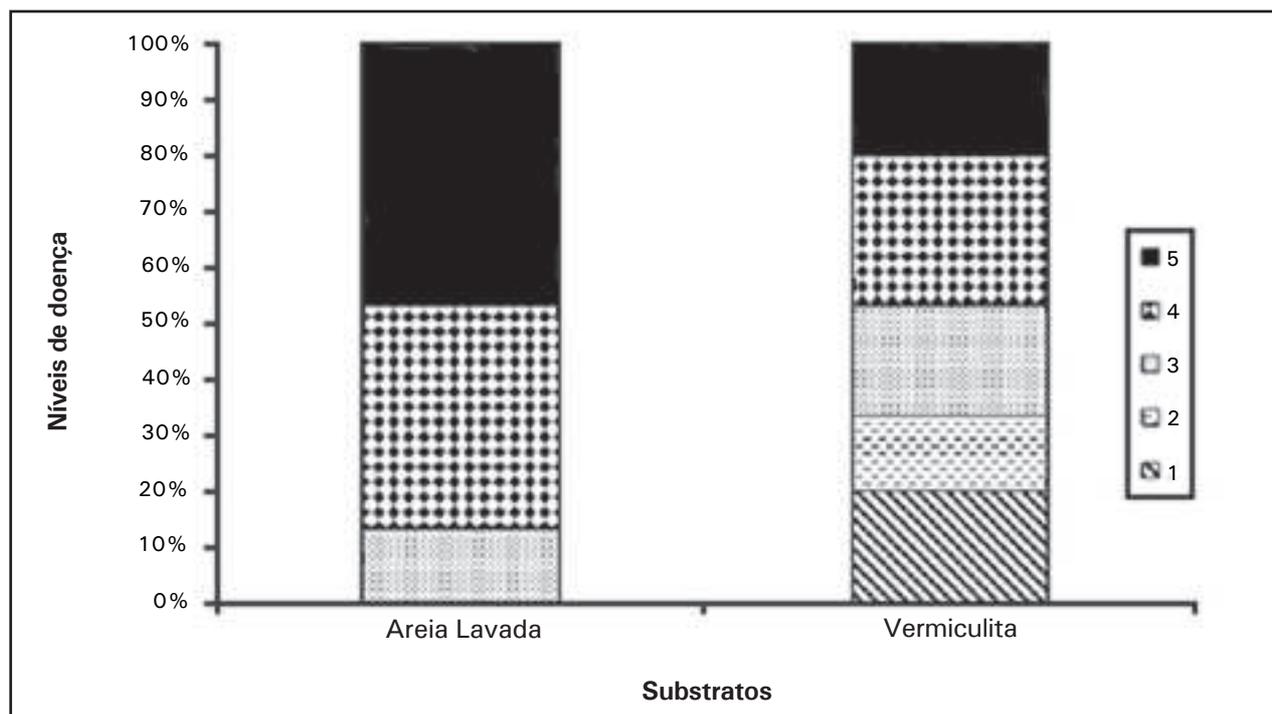
O mal-do-Panamá da bananeira, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) é considerado uma das doenças mais destrutivas da bananeira (Ploetz, 2006). A medida de controle mais efetiva é o uso de variedades resistentes. Todavia, o melhoramento genético de bananeira é complexo, demorado e muitas das variedades são estéreis. Uma das etapas mais críticas do melhoramento é a seleção. Sob condições de campo, se realizada adequadamente, a seleção é confiável, porém no caso do mal-do-Panamá pode demorar até três anos, demandando grande quantidade de insumos, área e mão de obra. Adicionalmente, a distribuição não homogênea do inóculo no solo e/ou a ausência de condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento da doença, aumenta a probabilidade de escape. Contar com uma metodologia que permita caracterizar genótipos quanto à resistência a *Foc* em etapas anteriores ao campo como, por exemplo, na fase de aclimatização, permitiria agilizar as etapas de seleção e, conseqüentemente, diminuir o tempo para a obtenção de novas variedades. Este trabalho objetivou desenvolver uma metodologia de *screening* para a resistência ao mal-do-Panamá da bananeira em condições de casa-de-vegetação.

Inicialmente, foram estudados dois substratos (areia e vermiculita) e um método de inoculação (imersão de raízes durante 2 h em suspensão conidial ajustada para  $10^6$  conídios. ml<sup>-1</sup>), utilizando apenas plantas de bananeira 'Maçã'. As plantas expressaram sintomas nos dois substratos testados, porém quando se utilizou areia lavada a incidência e expressão dos sintomas foi maior (Figura 1). Vinte por cento das plantas inoculadas não apresentaram sintomas quando o substrato utilizado foi vermiculita, sendo observada ampla variação na severidade da doença (Figura 1).

Utilizando areia lavada como substrato, duas fontes de inóculo e três métodos de inoculação foram estudados na variedade 'Maçã'. As fontes de inóculo foram: a) suspensão de conídios obtida de colônias crescidas por 07 dias, em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) submetidas a estresse (Dita et al. 2006) e b) estruturas de *Foc* produzidas em meio de cultura contendo fubá de milho e areia lavada. Os métodos de inoculação foram: imersão de raízes (30 min,  $10^6$  conídios. ml<sup>-1</sup>) e / ou deposição de 10 gramas do inóculo ( $10^7$ . UFC. ml<sup>-1</sup>), na base de cada planta, no

<sup>1</sup> Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA. miguel@cnpmf.embrapa.br

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, 44380-000, Cruz das Almas, BA.



**Figura 1.** Severidade de sintomas externos provocados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em plantas de bananeira da cultivar 'Maçã' em diferentes substratos aos 45 dias, após a inoculação. Valores correspondem ao grau de severidade avaliada com escala de cinco classes, onde: 1 - planta sem sintomas; 2 - amarelecimento inicial em folhas velhas; 3 - amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4 - todas as folhas com intenso amarelecimento; e 5: planta morta.

momento do plantio das mudas em areia lavada. Os tratamentos constituíram-se como segue:

Tratamento I: Inoculação por imersão de raízes com suspensão de conídios e posterior plantio das mudas;

Tratamento II: Deposição de 10 gramas do inóculo ( $10^7$ . UFC. ml<sup>-1</sup>), na base de cada planta, ou seja, o inóculo foi depositado na superfície do substrato onde a muda foi plantada, garantindo o contato entre o inóculo e sistema radicular das mudas; e Tratamento III: Inoculação por imersão de raízes mais deposição de 10 gramas do inóculo ( $10^7$ . UFC. ml<sup>-1</sup>).

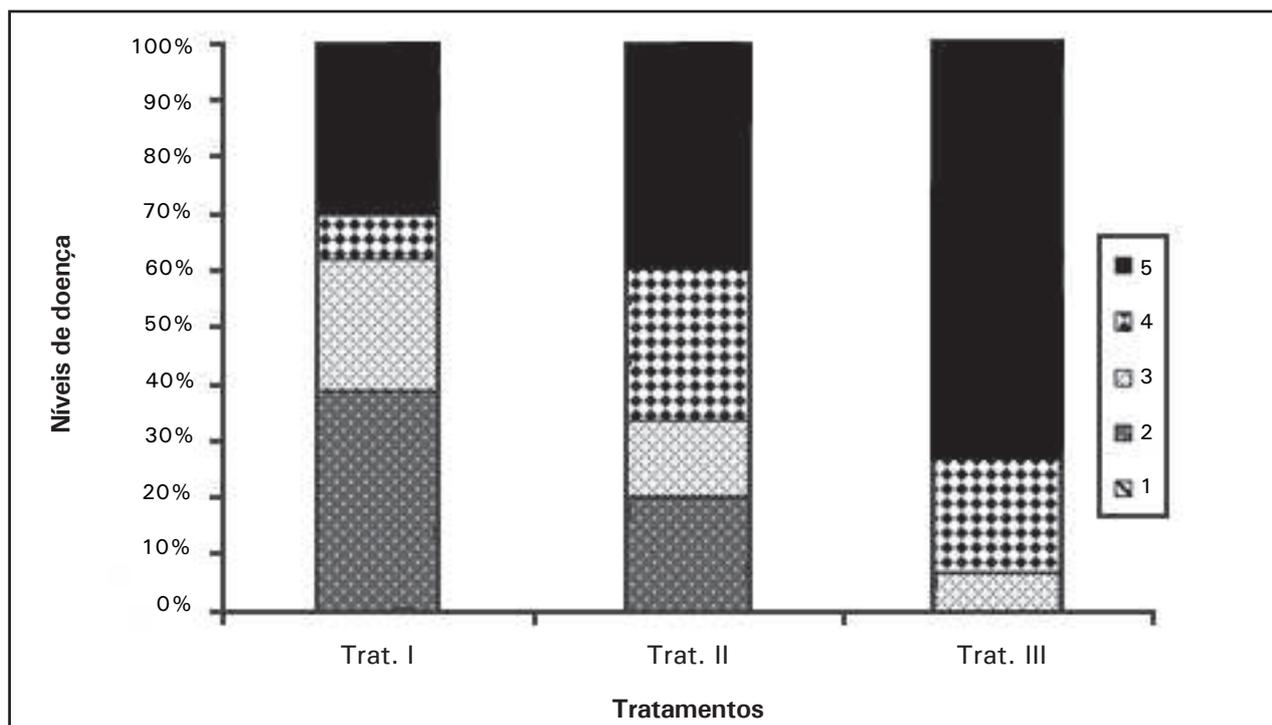
Independentemente do método de inoculação e fonte de inóculo utilizados, todas as plantas de 'Maçã' apresentaram sintomas da doença. Todavia, a intensidade da doença foi maior nos tratamentos II e III, que correspondem a plantas inoculadas com inóculo produzido em areia e fubá e dupla inoculação, respectivamente (Figura 2).

Usando areia lavada como substrato e dupla inoculação (imersão de raízes em suspensão conidial + deposição de 10 g de inóculo produzido em meio de areia-fubá de milho), foram conduzidos três experimentos utilizando vitroplantas com 45 dias de aclimatizadas de variedades com diferentes níveis de resistência ao mal-do-Panamá: 'Maçã' (AAB;

suscetível), 'Tropical' (AAAB; resistência intermediária), 'Thap Maeo' (AAB; resistência intermediária) e 'Grande Naine' (AAA; resistente). Para montagem do experimento, foi utilizado o sistema de bandejas duplas (Mohamed *et al.* 2000). Todas as inoculações foram realizadas com o isolado da raça 1, CNPMF08R1, obtido em área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

O período de incubação (PI), considerado como o tempo decorrido entre a inoculação e aparecimento de sintomas em 50 % das plantas, foi avaliado por inspeção visual dos sintomas. A severidade da doença quanto aos sintomas externos foi avaliada utilizando escala de notas de cinco classes: (1- sem sintomas; 2- amarelecimento inicial em folhas velhas; 3- amarelecimento de folhas velhas com descoloração inicial em folhas jovens; 4- todas as folhas com intenso amarelecimento; 5- planta morta). Foram realizadas avaliações da severidade ao longo do tempo até quarenta e cinco dias, após a inoculação.

Quarenta e cinco dias após a inoculação, as plantas foram removidas do substrato e avaliadas quanto à descoloração do rizoma usando uma escala descrita por Smith *et al.* (2008) modificado como segue: 1: rizoma



**Figura 2.** Efeito da fonte de inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) na severidade da doença em plantas de bananeira da cultivar 'Maçã' aos 45 dias, após a inoculação em casa-de-vegetação. Trat. I: Inoculação por imersão de raízes com suspensão de conídios; Trat. II: Inoculação por deposição de 10 gramas do inóculo ( $10^7$  UFC. ml<sup>-1</sup>) na base de cada planta. Trat. III: Inoculação por imersão de raízes mais deposição de 10 gramas do inóculo na base de cada planta ( $10^7$  UFC. ml<sup>-1</sup>). Valores correspondem à severidade dos sintomas internos da doença avaliada com escala de 5 classes: (1: ausência de descoloração do rizoma; 2: descoloração inicial em junção da raiz e rizoma até 5%; 3: 6-25% de descoloração do rizoma; 4: 26-50% de descoloração do rizoma e 5: mais que 50 % de descoloração do rizoma).

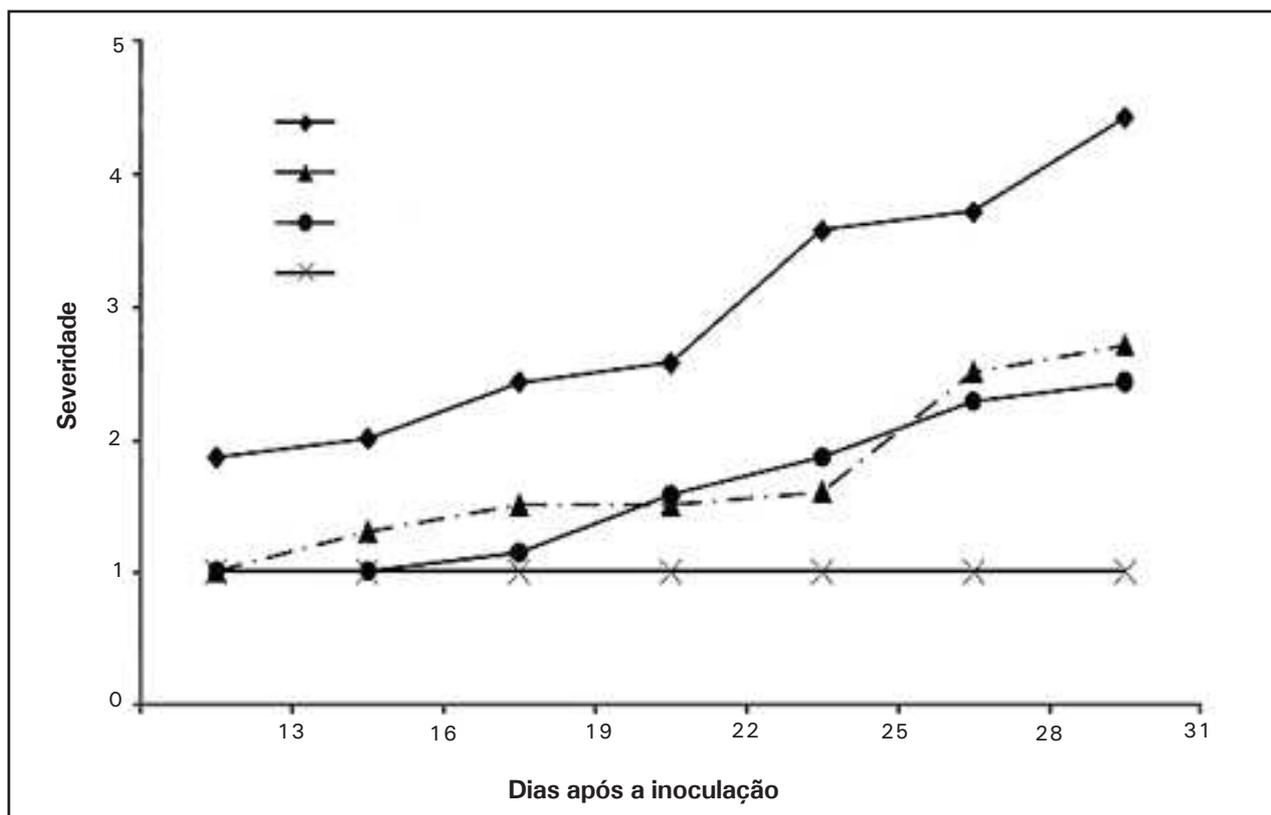
sem descoloração; 2: descoloração inicial em junção da raiz e rizoma até 5%; 3: 6-25% de descoloração do rizoma; 4: 26-50% de descoloração do rizoma e 5: mais que 50 % de descoloração do rizoma.

Foi possível discriminar as variedades quanto à duração do período de incubação, taxa de progresso da doença e descoloração do rizoma (Figura 3). Enquanto o período de incubação em 'Maçã' foi de 13 dias (média 13,33), em 'Tropical' e 'Thap Maeo' os sintomas iniciais foram somente observados após 17 dias (média de 17,42). Não foram observados sintomas da doença em 'Grande Naine' (Figuras 3 e 4). A resistência em 'Tropical' e 'Thap Maeo' foi caracterizada por um maior PI e uma menor taxa de progresso da doença. Esses resultados corroboram as observações de campo, onde apesar da incidência da doença, essas variedades podem ser exploradas por mais de um ciclo.

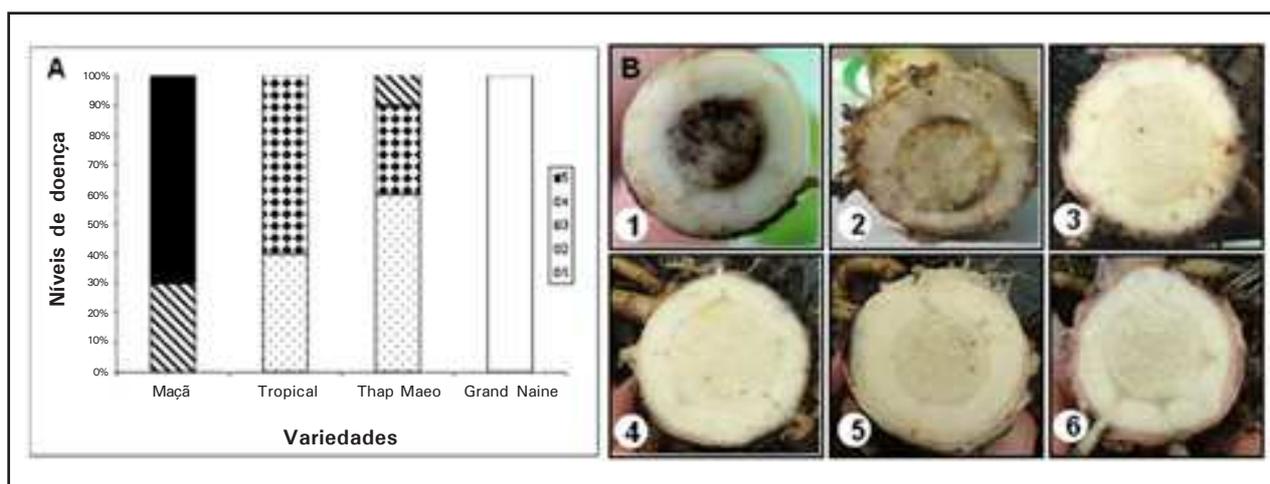
Embora a metodologia utilizada tenha permitido discriminar as variedades quanto aos níveis de resistência, estudos visando a verificar o efeito da

densidade de inóculo sobre o nível da resistência em variedades com resistência intermediária ou quantitativa, a exemplo de Tropical, são ainda necessários. Da mesma forma, o tipo de inóculo e a idade ótima das plantas a serem inoculadas precisam ser estudados. Como os clamidósporos são as principais estruturas do patógeno para que ocorra epidemia a campo, o seu uso em metodologias de *screening* em casa-de-vegetação deve ser mais estudado. Trabalhos nesse sentido já estão em execução na Embrapa Mandioca e Fruticultura.

A partir destes resultados pode-se concluir que os métodos aqui descritos apresentam alto potencial para padronizar uma metodologia para detecção precoce de genótipos de bananas resistentes ao mal-do-Panamá em casa-de-vegetação. Esta metodologia não só garantiria a seleção de genótipos de interesse em etapas anteriores ao campo, mas também poderia ser utilizada em estudos de variabilidade de *Foc*, avaliação de agentes de biocontrole, bem como para gerar dados sobre mecanismos de resistência ao mal-do-Panamá em bananeira..



**Figura 3.** Severidade do mal-do-Panamá em cultivares de bananas inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em condições de casa-de-vegetação. Plantas de 'Maçã' (susceptível), 'Thap Maeo' e 'Tropical' (resistência intermediária) e 'Grande Naine' (resistente) foram inoculadas mediante imersão de raízes em suspensão de conídios mais 10g de substrato sólido (areia + fubá de milho), colonizado pelo patógeno. Valores correspondem à severidade dos sintomas externos avaliados como descrito na Figura 1.



**Figura 4.** A. Severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em variedades de bananeira inoculadas em casa-de-vegetação aos 45 dias, após a inoculação. Valores de severidade correspondem à avaliação da descoloração do rizoma, segundo escala de notas: (1: ausência de descoloração do rizoma; 2: descoloração inicial em junção da raiz e rizoma até 5%; 3: 6-25% de descoloração do rizoma; 4: 26-50% de descoloração do rizoma e 5: mais que 50 % de descoloração do rizoma). B - Descoloração do rizoma em diferentes variedades. 1- cortes transversais de plantas 'Maçã' (susceptível), 2- 'Tropical' (resistência intermediária) e 3- 'Grande Naine' (resistente). 4, 5, e 6: cortes transversais em plantas não inoculadas das mesmas variedades.

## Referências

DITA M. A. BROMMONSCHENKEL, S. MATSUOKA, K.; MIZUBUTI, E. S. Components of resistance to early blight in four potato cultivars: effect of leaf position. **Journal of Phytopathology**, 2006 v.154, p.230-235.

MOHAMED, A.A., MAK, C., LIEW, K.W., HO, Y.W. 2000. Early evaluation of banana plants at nursery stage for Fusarium wilt tolerance. Banana Fusarium Wilt Management: towards Sustainable Cultivation, Proc. In: **WORKSHOP ON THE BANANA FUSARIUM WILT DISEASE**, 18., 1999. Malaysia. **Anais...Malaysia**, 1999.

PLOETZ, R. C. 2006. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*. **Phytopathology**, v.96, p.653-656.

SMITH, L. J., SMITH, M. K., TREE, D., O'KEEFE, D., GALEA, V. J. 2008: Development of a small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent infection by *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*. **Australasian Plant Pathology**, v.37, p.171-179.

### Comunicado Técnico, 150

**Embrapa Mandioca e Fruticultura**  
Endereço: Rua Embrapa, s/n, Caixa Postal 07, 44380-000, Cruz das Almas - Bahia  
Fone: (75) 3312-8048  
Fax: (75) 3312-8097

1ª edição  
1ª versão (2011): *online*

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



### Comitê de publicações

**Presidente:** Aldo Vilar Trindade.  
**Secretária:** Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos.  
**Membros:** Ana Lúcia Borges, Augusto César Moura da Silva, Cláudia Fortes Ferreira, Fernando Haddad, Edson Perito Amorim, Hermínio Souza Rocha, Márcio Eduardo Canto Pereira, Paulo Ernesto Meissner Filho.

### Expediente

**Supervisão editorial:** Ana Lúcia Borges.  
**Revisão de texto:** Aristoteles Pires de Matos e Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa.  
**Revisão gramatical:** Cristiane Almeida Santana da Costa.  
**Tratamento das ilustrações:** Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos.  
**Editoração eletrônica:** Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos.