



**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO
DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO AMAZONAS
COMISSÃO DE DEFESA SANITÁRIA VEGETAL/CDSV/AM**

**PROJETO
MOKO DA BANANEIRA:
PREVALÊNCIA, INCIDÊNCIA, VARIABILIDADE DO PATÓGENO E
HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS NO ESTADO DO AMAZONAS**

**MANAUS - AM
2001**

1. Caracterização do Problema

A produção e a produtividade dos bananais do estado do Amazonas vêm decrescendo nos últimos anos (IDAM, 1999, 1998, 1997). A ocorrência do Moko, doença causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum* Smith, raça 2 é uma das principais causas desse decréscimo. A doença se caracteriza por amarelecimento das folhas seguido de murcha e morte das plantas. O Moko foi oficialmente constatado no Brasil em 1976, no Amapá (Borges *et al.*, 1997) e encontra-se ainda restrito à região Norte. A doença, que ocorre principalmente em áreas de várzeas, vem se alastrando, dizimando plantios e provocando o abandono de áreas de cultivo. As medidas de controle são baseadas no princípio da exclusão, com a recomendação da utilização de mudas sadias. Quando a doença já se encontra estabelecida na área, recomenda-se a eliminação das plantas doentes e das vizinhas, mesmo que estas últimas não apresentem sintomas. Sem a presença de restos de cultura ou de espécies onde possa permanecer na rizosfera ou infectando as raízes, a bactéria não sobrevive por muito tempo no solo (Granada & Sequeira, 1983). *Ralstonia solanacearum* tem, no entanto mais de 200 espécies hospedeiras conhecidas e, por esse motivo, a rotação de culturas tem falhado como medida de controle. Em um experimento realizado em Manaus, em solo de terra firme, Pereira & Normando (1993) constataram que a bactéria sobreviveu no solo apenas quatro meses, sem a presença de plantas hospedeiras. A procura por variedades de bananeira resistentes ao Moko também ainda não apresentou resultados satisfatórios. Frequentes erros de caracterização do Moko, cujos sintomas podem ser confundidos com outras doenças e, mais recentemente, a epidemia de Sigatoka Negra tornaram-se fatores importantes na ocultação da importância dessa doença na redução da produção bananeira amazonense. No Brasil, as instituições de pesquisa sediadas na Amazônia são as únicas que podem efetivamente estudar este problema. Na Região, esses estudos vêm sendo implementados apenas no Estado do Amazonas.

2. Objetivos e Metas Gerais

Este trabalho tem por objetivo conhecer a situação atual da disseminação do Moko no Estado do Amazonas, quais os municípios já atingidos e como a doença evoluiu desde o último levantamento, estudar a variabilidade da população de *R. solanacearum* em bananais e identificar espécies hospedeiras da bactéria, organizar uma coleção de estirpes de *R. solanacearum* e caracterizá-las através de testes bioquímicos (espécie e biovars), poder patogênico (raças), diversidade dentro das estirpes (agressividade e sensibilidade a bacteriocinas), e caracterização molecular. Estudar a importância dos insetos na disseminação da doença e avaliar a reação de cultivares e linhagens de bananeira à estirpes diversas de *R. solanacearum* na tentativa de identificar linhagens resistentes ou moderadamente resistentes ao Moko.

Todas essas informações serão importantes na tentativa de se evitar a disseminação do Moko para novas áreas e para um melhor manejo da doença em áreas infestadas.

3. Estratégia

O projeto está dividido em cinco sub-projetos e, para a sua execução, contará com a colaboração de pesquisadores, técnicos e estudantes de instituições locais como o Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), a Embrapa Amazônia Ocidental, a Fundação Universidade do Amazonas (FUA) e o Instituto de Desenvolvimento da Amazônia (IDAM) de instituições estrangeiras como o Institut de Recherche pour le Développement (IRD, França), do Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, França), e da Iowa State University (USA). Além dessa equipe deverá contar também com o apoio financeiro do Ministério da Agricultura (Delegacia Federal de Agricultura do Amazonas) da Fundação Fulbright (EUA), da International Foundation for Science (IFS, Suécia) e do CNPq para onde foram enviados sub-projetos ou solicitação de bolsas para pesquisadores e estudantes envolvidos.

Sub-Projetos:

- A- Levantamento da incidência e da prevalência do Moko nas sub-regiões do Rio Negro-Solimões e do Médio Amazonas.
- B- Caracterização da variabilidade de estirpes de *Ralstonia solanacearum* no Estado do Amazonas
- C- Avaliação de hospedeiros alternativos de *Ralstonia solanacearum* em bananais no Estado do Amazonas
- D- Avaliação do papel de insetos na disseminação do Moko na região Amazônica
- E- Avaliação da resistência de cultivares de bananaira ao Moko

Sub-projeto A – Levantamento da incidência e da prevalência do Moko nas sub-regiões do Rio Negro Solimões e do Médio Amazonas

A.1. Introdução

Os levantamentos são o único meio de se conhecer a situação sanitária de uma cultura, em uma determinada área ou país. Nos últimos três anos, foram realizados levantamentos da ocorrência, da incidência e da prevalência do Moko em todas as sub-regiões do Estado do Amazonas (Tabela 1). Em apenas cinco dos 21 municípios visitados, não se detectou a presença do Moko. Nas áreas onde o levantamento já foi realizado há a necessidade de uma nova avaliação para se estimar se houve um aumento na área atingida e se as medidas de controle recomendadas têm surtido efeito. Nas áreas ainda não visitadas há a necessidade de se obter um diagnóstico da situação atual.

Prevalência é uma medida de intensidade de doença que indica o percentual de áreas (campos de produção ou plantios) onde a doença foi detectada. A incidência se refere ao número de plantas doentes em relação ao número de plantas avaliadas em uma determinada área. Num Estado com as dimensões do Amazonas é extremamente difícil se avaliar com segurança a incidência do Moko. Os dados de prevalência, no entanto, podem ser mais precisos. A escolha dos campos a serem amostrados devem seguir princípios estatísticos para que os dados obtidos possam ser extrapolados para representar a situação na Região como um todo. O município de Coari, que possui 1375 produtores de banana, 400 ha plantados (IDAM, 1999) e uma incidência de Moko de 42%, segundo levantamento realizado pela Embrapa, em 1999, será escolhido como município piloto para um levantamento mais acurado da situação da doença na Região e para aprimorar a metodologia de levantamento. Nos demais municípios das regiões do Rio-Negro-Solimões e do Médio Amazonas será feito um levantamento mais geral da ocorrência de Moko. Nesse levantamento considerar-se-á o município atingido quando se localizar pelo menos um plantio infectado. Essas duas regiões possuem 22 municípios e em dez deles, já amostrados em anos anteriores, a doença foi constatada em nove.

As informações obtidas com esses levantamentos servirão de subsídios para ações que visem evitar que a doença se dissemine para outras regiões e para o manejo da doença em áreas atingidas.

A.2. Metodologia

As propriedades produtoras de banana do município de Coari serão, com a ajuda de técnicos do IDAM, listadas e classificadas por idade do bananal (1, 2, 3 ou mais anos) e localização (várzea ou terra firme) e, dentro das categorias (várzea com 1 ano de plantio, várzea com dois anos de plantio, etc.) serão selecionadas, por sorteio, 5% das propriedades, dando um total de cerca de 70 propriedades. Em cada propriedade visitada serão preenchidos formulários (Anexo 1) com informações sobre a área plantada, variedade utilizada, idade do plantio, origem das mudas, cultura anterior, localização, entre outros. A localização precisa das áreas amostradas será feita com o auxílio de um GPS. Para cada plantio selecionado serão preparados croquis identificando a localização das plantas doentes e das aparentemente saudáveis. Amostras de plantas com sintomas da doença serão coletadas e remetidas para o laboratório para o isolamento do patógeno e confirmação do diagnóstico. Serão coletadas também exemplares de outras espécies de Musaceae (*Phenakosporum guyanensis*) e Heliconiaceae (*Heliconia* spp.) próximas aos bananais, que eventualmente apresentem sintomas de

Tabela 1 - Ocorrência de Moko nas sub-regiões e municípios do Estado do Amazonas em levantamentos realizados em 1997, 1998 e 1999.

| Sub-região | Município | Área (ha) ⁽¹⁾ | Moko ⁽²⁾ | Incidência (%) | Orgão responsável |
|--------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| Alto Solimões | Amaturá | - | | | |
| | Atalaia do Norte | - | | | |
| | Benjamim Constant | 650 | x | 55,6 | INPA/Embrapa |
| | São Paulo de Olivença | 8 | | | |
| | Santo Antônio do Iça | 12 | | | |
| | Tabatinga | 61 | x | 75,4 | Embrapa |
| | Tonantins | - | | | |
| Jutaí/ Solimões/Juruá | Alvarães | 64 | | | |
| | Fonte Boa | 3000 | | | |
| | Japurá | 113 | | | |
| | Juruá | 40 | | | |
| | Jutaí | 2 | | | |
| | Maraã | 200 | | | |
| | Tefé | 60 | x | | INPA |
| | Uarini | 40 | | | |
| Purus | Boca do Acre | 563 | 0 | | INPA |
| | Canutama | 15 | | | |
| | Lábrea | 88 | | | |
| | Pauini | 38 | | | |
| | Tapauá | 61 | | | |
| Juruá | Carauari | 40 | 0 | | INPA |
| | Eirunepé | 671 | x | | INPA |
| | Envira | 55 | | | |
| | Guajará | - | | | |
| | Ipixuna | - | | | |
| | Itamarati | - | | | |
| Madeira | Apuí | 210 | 0 | 0 | Embrapa |
| | Borba | 110 | | | |
| | Humaitá | 40 | 0 | 0 | INPA/Embrapa |
| | Manicoré | 480 | x | | INPA |
| | Novo Aripuanã | 600 | | | |
| Alto Rio Negro | Barcelos | 19 | | | |
| | Sta. Izabel Rio Negro | 18 | | | |
| | São Gab. Da Cachoeira | 1006 | 0 | | INPA |
| Rio Negro/Solimões | Anamá | 100 | x | | INPA |
| | Anori | - | | | |
| | Autazes | 15 | 0 | | INPA |
| | Beruri | - | | | |
| | Caapiranga | 975 | | | |
| | Careiro | 204 | | | |
| | Careiro da Várzea | 7 | | | |
| | Coarí | 400 | x | 42,1 | INPA/Embrapa |
| | Codajás | 646 | x | 43,3 | Embrapa |
| | Irlanduba | 70 | x | 37,1 | INPA/Embrapa |
| | Manacapuru | 1245 | x | 33,5 | INPA/Embrapa |
| | Manaquiri | 1200 | | | |
| | Manaus | - | x | | INPA |
| | Novo Airão | 100 | | | |
| Rio Preto da Eva | 11 | x | 0,3 | INPA/Embrapa | |
| Médio Amazonas | Itacoatiara | 450 | x | 19,0 | INPA/Embrapa |
| | Itapiranga | 50 | | | |
| | Maués | 113 | | | |
| | Nova Olinda do Norte | 110 | | | |
| | Presidente Figueiredo | 375 | x | 12,9 | INPA/Embrapa |
| | Silves | 60 | | | |
| | Urucurituba | 58 | | | |
| Baixo Amazonas | Barreirinha | 102 | | | |
| | Boa Vista do Ramos | - | | | |
| | Nhamundá | - | | | |
| | S. Sebastião do Uatumã | 20 | | | |
| | Urucará | 70 | | | |
| | Parintins | 495 | x | | INPA |

(1) Área plantada com banana, IDAM, Relatório Anual/1999

(2) x = Doença constatada

0 = Doença não constatada

Sub-Projeto B -Caracterização da variabilidade de estirpes de *Ralstonia solanacearum* no Estado do Amazonas

B.1. Introdução

Ralstonia solanacearum apresenta grande variabilidade e vários métodos de classificação, a nível subespecífico, foram desenvolvidos baseados em diferentes critérios. De acordo com o hospedeiro natural, reação sobre hospedeiros diferenciais e com a aparência da colônia sobre meio contendo tetrazólio Buddenhagen *et al.* (1962) classificaram isolados de *R. solanacearum* em três raças caracterizadas da seguinte maneira: raça 1 afeta fumo (*Nicotiana tabacum*) e outras solanáceas; raça 2 causa murcha em banana, *Heliconia* spp e outras Musaceae; raça 3 afeta batata (*Solanum tuberosum*) porém tem patogenicidade limitada sobre fumo. As raças podem ser distinguidas também pela reação de hipersensibilidade induzida em folhas de fumo (Lozano & Sequeira, 1968) ou pela produção de pigmento em meio contendo tirosina onde as estirpes da raça 1 produzem grande quantidade de pigmento e as das raças 2 e 3, pequena quantidade (French & Sequeira, 1970). Hayward (1964), baseado em critérios bioquímicos, classificou as estirpes em quatro biovars.

Dentro da raça 2, onde se encontra o agente de Moko, as estirpes foram diferenciadas em seis tipos de acordo com o hospedeiro sobre o qual foram isoladas e na reação sobre bananeiras (French & Sequeira, 1970). O conhecimento dessa variabilidade é de fundamental importância desde que métodos de controle do patógeno podem diferir de acordo com a estirpe envolvida. O controle de epidemias causadas por estirpes como as do tipo SFR, por exemplo, que são transmitidas por insetos, exigem a o combate do vetor, em um programa de manejo integrado. Além disso, para se implementar programas de avaliação de resistência de cultivares e para estudos epidemiológicos é necessário que se tenha uma precisa caracterização do patógeno. O INPA possui uma coleção de quase 100 estirpes de *R. solanacearum* provenientes de bananeiras obtidas em levantamentos realizados no Amazonas, em anos anteriores.

B.2. Metodologia

Por ocasião das visitas aos produtores de banana para realização do levantamento do Moko no Estado, serão realizadas coletas de material vegetal (pseudocaule, frutos, rizoma, ráquis) de plantas com sintomas de Moko. Em laboratório, as amostras serão processadas para o isolamento da bactéria utilizando-se meio de cultura semi-seletivo (Kelman, 1954). As estirpes com características morfológicas típicas de *R. solanacearum* serão armazenadas em água e submetidas à teste de hipersensibilidade em fumo, à caracterização através de testes bioquímicos para confirmação da espécie (solubilização em KOH 3%, oxidase, utilização de amido, tolerância ao cloreto de sódio, desidrolase arginínica, acumulação de grânulos de poly- β -hidroxibuturato, hidrólise do Tween, hidrólise de gelatina e redução do nitrato), segundo metodologia descrita por Sands (1990). Para determinação dos biovars as estirpes serão submetidas a testes de utilização dos carboidratos manitol, sorbitol, dulcitol, lactose, maltose, celobiose e trealose (Hayward, 1983; Sands, 1990). Para determinação da raça e do poder patogênico as estirpes serão inoculadas em plantas de tomate, pimentão, berinjela, fumo, batata e banana (Buddenhagen & Kelman, 1964; Lelists & Stead, 1987) e avaliada a severidade da doença nessas espécies. As estirpes serão submetidas ainda a tipificação por grupos de produção de bacteriocinas (Frey *et al.*, 1996; Chen & Echandy, 1982) e a caracterização molecular. Esta última, será realizada em Avignon, França, no laboratório de biologia molecular do Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), pelo Dr. Phillippe Prior. As estirpes identificadas como *R. solanacearum* serão mantidas em coleção, conservadas em tubos contendo água estéril, a 18° C.

B.3. Equipe

| Nome | Especialização | Instituição | Atividade |
|-------------------------|--------------------|---|---------------|
| Rosalee A. Coelho Netto | Fitopatologia | INPA-CPCA | Coordenadora |
| Bernard Boher | Bacteriologia | Institut de Recherche pour le Développement | Consultor |
| Phillipe Prior | Biologia Molecular | Institut National de la Recherche Agronomique | Colaborador |
| Marilene Maia Braga | Técnica | INPA-CPCA | Laboratorista |
| Bianca Galúcio Pereira | - | Bolsista PIBIC-INPA | Colaboradora |

B.4. Cronograma de Atividades

| Atividade | Meses | | | | | | | | | | | |
|---|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | J | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D |
| Isolamento de estirpes | | x | x | x | x | x | x | x | | | | |
| Caracterização bioquímica das estirpes | | | | x | x | x | x | x | x | x | | |
| Caracterização patogênica das estirpes | | | | | x | x | x | x | x | x | | |
| Determinação de raças | | | | | x | x | x | x | x | x | | |
| Determinação de biovares | | | | | | | x | x | x | x | | |
| Caracterização molecular das estirpes* | | | | | | | | | x | x | x | |
| Tabulação de dados | | | | | | | | | | | x | |
| Análise de dados e preparo de relatório | | | | | | | | | | | | x |

* Realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Institut National de Recherche Agronomique em Avignon, na França.

Sub-Projeto C - Avaliação de hospedeiros alternativos de *Ralstonia solanacearum* em bananais no Estado do Amazonas

C.1. Introdução

Ralstonia solanacearum pode sobreviver por muitos anos na rizosfera de diversas espécies que podem ser ou não infectadas e, quando o são, podem não apresentar sintomas. Nos levantamentos realizados sobre a ocorrência do Moko no Estado, constatou-se também a ocorrência de murcha, causada por *R. solanacearum*, em várias solanáceas cultivadas e ervas daninhas como *Melanthera discoidea* Black e *Solanum nigrum* (Boher *et al.*, 1998).

O conhecimento dos hospedeiros selvagens ou de plantas suscetíveis que são reservatório de inóculo através da contaminação assintomática ou da manutenção de população elevada na rizosfera são necessários para se recomendar medidas culturais de controle como a eliminação dessas espécies das áreas de plantio. Apesar de mais de 200 espécies já terem sido relatadas como hospedeiras de *R. solanacearum*, desconhece-se a reação de quase todas as ervas daninhas comuns nessa região, à bactéria. Por outro lado, algumas espécies podem possuir uma rizosfera não favorável a sobrevivência do patógeno e proporcionar uma diminuição rápida da sua população no solo. Em cultivos de tomate e de batata, a rotação de culturas com espécies que não favoreçam a proliferação de *R. solanacearum*, tem auxiliado na diminuição da população do patógeno (Adhikari & Basnyat, 1998; Abd-El-Ghafar, 1998). O objetivo desse trabalho é conhecer as espécies de erva daninhas que, em área de cultivo de bananeira, são hospedeiras de *R. solanacearum*, as que favorecem a multiplicação da bactéria em sua rizosfera, contribuindo para a sua sobrevivência e manutenção no solo ou as que têm uma rizosfera não favorável, podendo ser usadas no controle da doença.

C.2. Metodologia

Em bananais no Estado do Amazonas serão coletadas plantas e sementes das espécies de ervas daninhas mais freqüentes. As plantas serão prensadas e desidratadas para identificação das espécies. Sementeiras serão preparadas em vermiculita e, após o desenvolvimento das plantas, estas serão transferidas para copos descartáveis contendo o mesmo substrato adubado com solução nutritiva. Duas ou três semanas após o transplante, a vermiculita será infestada com 5 mL de suspensão bacteriana na concentração de 1×10^8 ufc/mL. Para inoculação será utilizada uma estirpe de *R. solanacearum*, produtora de bacteriocina, facilmente reconhecida dentro da microflora da rizosfera das plantas pela técnica descrita por Chen & Echandi (1982). Como testemunha serão utilizados os tratamentos vermiculita infestada, sem plantas hospedeiras e pimentão, uma espécie reconhecidamente hospedeira de *R. solanacearum*. Após a inoculação (tempo zero) será feita a primeira quantificação da população da bactérias no substrato. As demais avaliações serão realizadas aos 15, 30 e 60 dias após a inoculação. O delineamento experimental será o inteiramente casualizado com três repetições. Nas plantas que eventualmente apresentarem sintomas de murcha, no decorrer do experimento, serão feitos, isolamentos da bactéria em meio semi-seletivo (Kelman, 1954). Na última avaliação (60 dias após a inoculação) as raízes serão desinfestadas e trituradas e com a suspensão de raízes será tentado o isolamento da bactéria para se detectar eventuais infecções latentes.

Sub-projeto D– Avaliação do papel de insetos na disseminação do Moko na região Amazônica

D.1. Introdução

Um dos sintomas do Moko é a presença de exsudação clara no ráquis floral e nos frutos (Sequeira 1958, Borges *et al.*, 1997). Acredita-se que insetos possam disseminar a doença transportando bactérias presentes nessa exsudação para plantas saudáveis (Buddenhagen & Elsasser, 1962). No caso de infecção via insetos, os primeiros sintomas da doença aparecem nos frutos.

Os isolados de *R. solanacearum* raça 2 foram subdivididos em 6 grupos (A, B, D, R, SFR e H), de acordo com a espécie de onde foram isolados, aspecto da colônia e patogenicidade para a bananeira. Acredita-se que o grupo SFR (small, round, fluidal), que possui colônias pequenas fluidas e redondas e é transmitido por insetos, é o que ocorre no Brasil. Contudo, não se conhece, se, para as nossas condições, os insetos são realmente importantes na disseminação do Moko, quais as espécies de insetos responsáveis por essa disseminação, com qual frequência esse tipo de transmissão pode ocorrer e como a bactéria seria transportada. Poucas bactérias transmitidas por insetos são capazes de sobreviver dentro do corpo do vetor (Rudolph *et al.*, 1990) assim, é provável que *R. solanacearum* seja transportadas apenas externamente.

A transmissão de Moko via insetos pode exigir a adoção de estratégias efetivas para o controle desses vetores, em um programa de manejo da doença e para evitar a disseminação para áreas ainda livres da doença.

D.2. Metodologia

Em área infestada com Moko isolamentos de *R. solanacearum* serão tentados a partir da exsudação presente no ráquis floral e a partir dos insetos que mais frequentemente visitam as inflorescências. A exsudação será coletada com uma seringa e os insetos capturados utilizando-se armadilhas. Alguns exemplares dos insetos capturados serão enviados para um especialista para identificação da espécie. Em laboratório os insetos serão individualmente macerados em água esterilizada e a suspensão resultante, riscada sobre meio de cultura semi-seletivo (Kelman, 1954). Isolamentos também serão realizados após desinfestação do inseto e dessecação do trato digestivo para se verificar se há presença de bactérias no interior do inseto. As colônias de bactéria com aspecto semelhante ao de *R. solanacearum* que se desenvolverem no meio de cultivo, serão submetidas a testes bioquímicos para confirmação da espécie (Sands, 1990) e a testes de patogenicidade em mudas de bananeira.

Outros insetos serão coletados em área infestada serão mantidos em gaiolas presas a inflorescências de bananeiras infectadas por 6 a 8 horas para que se alimentem e adquiriram a bactéria. Em seguida os insetos serão transferidos para outra gaiola presa a uma inflorescência de uma planta sadia. Vinte e quatro horas depois os insetos serão retirados mantendo-se no entanto, a gaiola protegendo a inflorescência de outros possíveis transmissores, como morcegos. Um mês após a inoculação serão observados frutos e ráquis a procura de sintomas da doença. Caso haja a ocorrência de sintomas serão feitos isolamentos e os testes padrão para identificação da espécie.

Sub-projeto E - Avaliação da resistência de cultivares de bananeira ao Moko

E.1. Introdução

Pouco sucesso tem sido atingido na obtenção de cultivares de bananeira resistentes ao Moko. Apenas a variedade 'Pelipita' tem sido considerada resistente à doença (Borges *et al.*, 1997). Em avaliações em campo, realizadas em 1999, com inoculação artificial, cinco diplóides (DS 48, DS 52, DM 9, DM 10 e DM 14) provenientes do programa de melhoramento da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, foram considerados resistentes ao Moko (Véras *et al.*, 1999a). As linhagens testadas já apresentam bom nível de resistência a outras doenças de importância na região como a Sigatoka Negra e o Mal-do-Panamá. Esses diplóides, no entanto, foram inoculados com apenas uma estirpe de *R. solanacearum* o que pode não ser representativo da variabilidade da bactéria no Estado. Além disso, novas cultivares de bananeira estão continuamente sendo disponibilizadas para teste pelo programa de melhoramento dessa cultura da Embrapa, através do Banco Ativo de Germoplasma (BAC). Apesar da reação de resistência obtida em mudas inoculadas artificialmente poder ser diferente da obtida em condições naturais de infecção, esse tipo de teste elimina a ocorrência de escapes e permite a avaliação da resistência contra uma gama de estirpes do patógeno. O objetivo desse trabalho é avaliar a reação de novas linhagens de bananeira que já apresentam resistência a outras doenças de importância na Região. Em uma etapa posterior, as estirpes mais promissoras serão avaliadas também em condição de campo. A identificação e utilização de linhagens com resistência ao Moko, mesmo que moderada, pode viabilizar a produção em áreas contaminadas desde que seja adotado um sistema adequado de manejo.

E.2. Metodologia

Mudas de bananeira produzidas por cultura de tecidos e provenientes do BAC-Embrapa, serão inoculadas através da injeção de uma suspensão de bactérias (1×10^6 ufc/mL) próximo à base da planta (Véras *et al.*, 1999b). O experimento será em esquema fatorial 10×5 , com cinco repetições. O primeiro fator corresponde às estirpes de banana e o segundo aos isolados de *R. solanacearum*. A unidade experimental se constituirá em uma muda de bananeira produzida através de cultura de tecido. Os tratamentos testemunha se constituirão de mudas de bananeira das cultivares em teste que receberão uma injeção de água esterilizada e mudas de bananeira de uma cultivar sensível, inoculadas com a mesma suspensão bacteriana. Essas últimas serão utilizadas para se testar a eficiência da inoculação. Semanalmente serão feitas avaliações da severidade da doença utilizando-se uma escala de notas para os sintomas (Tabela 1). Com base nas notas serão construídas curvas de progresso da doença e calculadas as áreas abaixo das curvas de progresso da doença. Essas áreas serão comparadas por meio de análise de variância.

Tabela 1 - Escala de notas para avaliação do Moko em mudas de bananeira inoculadas artificialmente.

| Nota | Aspecto da planta |
|------|---------------------------------------|
| 1 | Sem sintomas aparentes |
| 2 | Amarelecimento das folhas |
| 3 | Murcha parcial ou morte do "cartucho" |
| 4 | Murcha severa |
| 5 | Morte da planta |

Em uma etapa posterior serão instalados experimentos de campo para se reavaliar a resistência das melhores cultivares na fase de muda. Nesses ensaios serão

4. Referências Bibliográficas

- Abd-El-Ghafar, N.Y. Control of potato bacterial wilt using crop rotation. *Annals of Agricultural Science Cairo*, 43: 575-587, 1998.
- Adhikari, T.B., Basnyat, R.C. Effect of crop rotation and cultivar resistance on bacterial wilt of tomato in Nepal. *Canadian Journal of Plant Pathology* 20: 283-287, 1998.
- Boher, B.; Costa, S.B., Silva Filho, D.F. da; Machado, M.; Noda, H. Ocorrência de três biovaries de *Ralstonia solanacearum* em vários hospedeiros no Estado do Amazonas. *Fitopatologia Brasileira*, 24 (Suplemento): 247, 1999.
- Borges, A.L.; Alves, E.J.; Silva, S. de O. e; Souza, L. da S.; Matos, A.P. de; Fancelli, M.; Oliveira, A.M.G.; Cordeiro, Z.J.M.; Silveira, J.R.S.; Costa, D. da C.; Medina, V.M.; Oliveira, S.I. de; Souza, J. da S.; Oliveira, R.P.; Cardoso, C.E.L.; Matsuura, F.C.A.U.; Almeida, C.O. de . Cultivo da banana. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 1997. 109p. (EMBRAPA – CNPMP. Circular Técnica, 27).
- Buddenhagen, I.W. & Elsasser, T.A. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of bluggoe banana. *Nature* 194: 164-165, 1962.
- Buddenhagen, I.W. & Kelman, A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. of Phytopathology* 2: 201-230, 1964.
- Chen, W.-Y. & Echandi, E. Bacteriocin production and semiselective medium for detection, isolation, and quantification of *Pseudomonas solanacearum* in soil. *Phytopathology* 72: 310-313, 1982.
- French, E.R. & Sequeira, L. Strains of *Pseudomonas solanacearum* from Central and South America: a comparative study. *Phytopathology* 60: 506-512, 1970.
- Frey, P.; Smith, J.J.; Albar, L.; Prior, P.; Saddler, G.S.; Trigalet-Demery, D.; Trigalet, A. Bacteriocin typing of *Burkholderia (Pseudomonas) solanacearum* race 1 of the french west indies and correlation with genomic variation on the pathogen. *Applied and Environmental Microbiology* 62(2); 473-479, 1996.
- Granada, G.A. & Sequeira, L. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere, and plants roots. *Can. J. Microbiol.* 29: 433-440, 1983.
- Hayhard, A.C. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology* 27: 265-277, 1964.
- Hayward, A.C. The non—fluorescent Pseudomonads. In: Fahy, P.C. & Persley, G.J. *Plant Bacterial Diseases – A diagnostic guide*. Academic Press, Sydney, 1983. p.107-140.
- IDAM - Instituto de Desenvolvimento do Estado do Amazonas. Relatório anual 1999. Manaus, 1999. n.p.
- iDAM - Instituto de Desenvolvimento do Estado do Amazonas. Relatório anual 1998. Manaus, 1998.n.p.
- IDAM - Instituto de Desenvolvimento do Estado do Amazonas. Relatório anual 1997. Manaus, 1997. n.p.
- Kelman, A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693-695, 1954.
- Lelists, R.A. & Stead, D.E. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell, Oxford, 1987. 215 p.
- Lozano, J.C. & Sequeira, L. Differentiation of races of *Pseudomonas solanacearum* by a hypersensitive reaction of tobacco leaves. *Phytopathology* 58: 1058, 1968.
- Pereira, L.V. & Normando, M.C. de S. Sobrevivência de *Pseudomonas solanacearum* raça 2 em solos de terra firme no estado do Amazonas. *Fitopatologia Brasileira* 18(2): 137-142, 1993.
- Rudolph, K; Roy, M.A.; Sasser, M.; Stead, D.E.; Davis, M.; Swings, J.; Gosselé, F. Isolation of bacteria. In: Klement, Z.; Rudolph, K.; Sands, D.C. *Methods in Phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1990. p. 43-94.
- Sands, D.C. Physiological criteria – Determinative tests. In: Klement, Z.; Rudolph, K.; Sands, D.C. *Methods in phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1990. p.133-143.
- Sequeira, L. Bacterial wilt of banana: dissemination of the pathogen and control of the disease. *Phytopathology* 48: 64-69, 1958.
- Véras, S.M., Gasparotto, L., Costa, S.B., Pereira, J.C.R., Gato, A., Boher, B. Avaliação da resistência de diplóides de banana à *Ralstonia solanacearum* raça 2. *Fitopatologia Brasileira* 24 (Suplemento): 259, 1999.
- Véras, S.M., Gasparotto, L., Costa, S.B., Pereira, J.C.R., Gato, A., Boher, B. Comparação de métodos de inoculação de *Ralstonia solanacearum* raça 2 em cultivares de banana. *Fitopatologia Brasileira* 24 (Suplemento): 259, 1999.

Anexo 1

Levantamento da Incidência e da prevalência do Moko da Bananeira no Estado do Amazonas

| | | |
|--|------------------|-------------------|
| Avaliador: _____ | Data: __/__/2001 | |
| Nome da propriedade: _____ | Município: _____ | Localidade: _____ |
| Localização do Plantio (dados de GPS): ___° __' ___" N e ___° __' ___" W | | |
| Nome do produtor: _____ | do _____ | |
| Endereço para correspondência: _____ | | |

Há quantos anos é produtor de banana: _____

| | | |
|---|-------------------------|--------------------------|
| Área plantada: _____ | Número de pés: _____ | Idade das plantas: _____ |
| Variedade: _____ | Origem das mudas: _____ | Cultura anterior: _____ |
| Presença de Moko na propriedade Sim () Não () | | |
| Conhece as sintomas Sim () Não () Como a doença é denominada? _____ | | |
| Qual a perda de produção estimada pelo produtor? _____ | | |
| Há quanto tempo a doença ocorre no plantio? _____ | | |
| Número de plantas doentes: _____ Número de plantas mortas: _____ | | |
| Adubação: Sim () Não () Qual a produção obtida na área? _____ | | |
| Produtividade antes da doença _____ Produtividade depois da doença _____ | | |
| Recebeu alguma orientação para controle: Sim () Não () Quem orientou? _____ | | |
| Qual a orientação recebida? _____ | | |
| Ocorrência de outra doença? Sim () Não () Se sim, especificar _____ | | |
| Está fazendo algum tipo de controle para o Moko: Sim () Não () | | |
| Para outras doenças? Sim () Não () | | |
| Qual o tipo de controle utilizado? _____ | | |
| Observações _____ _____ _____ | | |

RECURSOS ORÇAMENTÁRIO E FINANCEIROS

| ELEMENTO DESPESA | DISCRIMINAÇÃO | TRIMESTRES | | | | TOTAL |
|---------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | I | II | III | IV | |
| 3390-14 | Diárias | 3.000,00 | 3.500,00 | 3.500,00 | 2.000,00 | 12.000,00 |
| 3390-33 | Passagens | 4.500,00 | 5.000,00 | 6.000,00 | 4.500,00 | 20.000,00 |
| 3390-30 | Consumo | 8.000,00 | 6.000,00 | 5.000,00 | 6.000,00 | 25.000,00 |
| 3390-39 | P. Jurídica | 1.500,00 | 2.500,00 | 2.000,00 | 1.000,00 | 7.000,00 |
| 3390-36 | P. Física | - | 1.500,00 | 1.000,00 | - | 2.500,00 |
| 4590-52 | Mat. Permanente | - | 5.000,00 | 2.000,00 | - | 7.000,00 |
| TOTAL | | 17.000,00 | 23.500,00 | 19.500,00 | 13.500,00 | 73.500,00 |

ELABORAÇÃORosalee ^a Coelho Netto

José Clério Resende Pereira

Luadir Gasparotto

Arlena Maria Guimarães Gato

Carlos Alberto de Souza Ferreira
Chefe do SSV/DFA/AMArlena Maria Guimarães Gato
Chefe do SEDAG/DFA/AMJamil Tuffi Sarmiento Nicolau
Delegado Federal da DFA/AM