

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL



Dr. Morgado

EXAME GERAL DE QUALIFICAÇÃO

PROJETO DE PESQUISA E ANÁLISES CRÍTICAS DE ARTIGOS CIENTÍFICOS

ALUNA : REGINA FERRO DE MELO NUNES
ORIENTADORES : PROF. DR. FERNANDO MENDES PEREIRA
PROF. DR. CARLOS FERREIRA DAMIÃO FILHO

Trabalho apresentado a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para EXAME GERAL DE QUALIFICAÇÃO, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia do curso de Pós-graduação em AGRONOMIA, área de concentração em PRODUÇÃO VEGETAL.

62
d

000.00315

JABOTICABAL - SP

Dezembro de 1996

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PROJETO DE PESQUISA

DETERMINAÇÃO DO SEXO EM PLANTAS DE TAMAREIRA (*Phoenix dactylifera* L.) BASEADA EM PADRÕES DE ISOENZIMAS

Proponente: *Regina Ferro de Melo Nunes*

Orientadores: *Prof. Dr. Fernando Mendes Pereira*
Prof. Dr. Carlos Ferreira Damião Filho

Projeto apresentado ao Conselho do Curso de Pós-Graduação em AGRONOMIA, Área de Concentração em Produção Vegetal, como parte das exigências do Exame Geral de Qualificação, para obtenção do título de Doutor em Agronomia, da proponente.

JABOTICABAL - SP
Novembro de 1996

Determinação do sexo em
1996 LV-2000.00315



37449-1

Determinação do sexo em plantas de Tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) baseada em padrões de isoenzimas¹

Regina Ferro de Melo Nunes²
Prof. Dr. Fernando Mendes Pereira³
Prof. Dr. Carlos Ferreira Damião Filho³

1. INTRODUÇÃO

A tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) é uma cultura de grande importância no contexto mundial, quanto ao seu aspecto nutritivo (rica em sais minerais e vitaminas), valor medicinal e, utilização da planta como um todo, favorecendo em muito o desenvolvimento sócio-econômico da região onde ela é cultivada (MUNNIER, 1973, TISSERAT e TORRES, 1979).

No Brasil, a tâmara é uma fruta tradicional nas festas natalinas, de início de ano e época de páscoa, em algumas regiões. Contudo, a demanda brasileira, é totalmente dependente de importação, apesar do excelente potencial de cultivo e da utilização do produto (passa) tanto no mercado externo como para exportação (NUNES et al. 1988 e 1989).

¹ Projeto de Pesquisa financiado pelo BIRD III, a executar pela FCAVJ-UNESP e EMBRAPA-CPATSA, em parceria.

² Proponente, pesquisadora EMBRAPA, pós-graduanda em Agronomia, Produção Vegetal - Horticultura, FCAVJ-UNESP.

³ Professores, orientadores, colaboradores. FCAVJ-UNESP.

A procura de mudas e sementes para o aumento de produção de frutos, vem despertando crescente interesse no país nestes últimos tempos, contudo, um sério entrave, para formação de um pomar de alto valor comercial é que a tamareira é uma planta dióica podendo as plantas originadas de sementes, ocasionar no pomar a proporção de 50% de plantas femininas e 50% de plantas masculinas ou mais, as quais não produzem frutos.

O processo que vem sendo utilizado para a formação de um pomar produtivo, é o da espera do florescimento das plantas o que geralmente ocorre entre 2,5 a 3,5 anos após o plantio no campo, para então se realizar o desbaste das plantas masculinas, deixando 1 planta masculina para 17 plantas fêmeas (Em terreno plano e bem preparado, 1 planta macho pode polinizar até 50 fêmeas).

Este método torna uma técnica morosa e dispendiosa, na medida que as plantas são mantidas no pomar por anos, competindo com água, luz, nutrientes em detrimento das plantas femininas de interesse comercial (NUNES, 1989).

Com os avanços biotecnológicos diversas técnicas como a determinação de padrões isoenzimáticos têm sido empregadas na busca de expressões genéticas, variações somaclonais e genéticas, mutações, polimorfismo, entre outras (STUBER, 1990).

O termo 'isoenzima' define um grupo de múltiplas formas moleculares da mesma enzima que ocorre em uma espécie, como resultado da presença de mais de um gene codificando cada uma das enzimas (MOSS, 1982).

O princípio básico da técnica reside no uso de “**eletroforese em gel de amido**” e na visualização do produto enzimático por métodos histoquímicos (HUNTER e MAKKERT, 1957; CHELIAK et al. 1987; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995)

A análise eletroforética de isoenzimas pode ser utilizada para identificação de clones cultivares e linhagens, estudos de citogenética, fisiologia e bioquímica de plantas, entre outras (FOTTREL, 1967; SCANDALIOS, 1969 e 1977; HEIORICH-SOBRINHO, 1982).

A eletroforese consiste na migração de moléculas ionizadas de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares em campo elétrico. Esta técnica em géis de amido é menos onerosa do que em géis de poliacrilamida, mas apresenta a desvantagem de a porosidade de suas lâminas ser menos controlável e resolução ser inferior. Empregam-se para a eletroforese extrato protéicos obtidos por maceração, de tecidos (vegetal ou fúngico) em soluções extratoras apropriadas. Esse extrato é aplicado no gel e submetido a eletroforese (HAMRICK, 1986; GOTTLIEB, 1982; MULLIS, 1990; SHIELDS et al. 1993).

Hipotetiza-se que um dos bons meios para a determinação do sexo da tamareira, baseia-se na eletroforese de isoenzimas da planta, com resultados práticos.

Objetiva-se no presente trabalho:

- determinar através de marcadores bioquímicos, (isoenzimas), plantas masculinas e femininas em mudas das principais variedades cultivadas de tamareira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Informações sobre determinação do sexo da tamareira, através de isoenzimas, são escassas, na literatura consultada, foram encontrados alguns trabalhos no continente asiático e nos Estados Unidos. A nível nacional ainda não se tem conhecimento de pesquisa à respeito. Porém, o desenvolvimento de técnicas e pesquisas na área de marcadores tem sido muito rápido e amplo, sendo vários os trabalhos que são realizados. Baseando-se na variação eletroforética de padrões isoenzimáticos permite se determinar o sexo de muitas espécies e cultivares (BREWER, 1970; STEGEMANN, 1987; KEPHART, 1990).

Nas últimas décadas os marcadores moleculares vem desempenhando importante papel nos estudos genéticos. Além das isoenzimas, técnicas como: Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP), Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso (RADP), Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados (AFLP), têm sido usadas amplamente no mapeamento genético, identificação de marcas que permitem a seleção de caracteres específicos e de interesse, identificação de

cultivares, verificação de pedigree, determinação de níveis na diversidade genética, entre outros (TANKSLEY e ORTON, 1983; VALLEJOS, 1983; WENDEL, 1990).

As isoenzimas têm sido dos marcadores, os mais utilizados não só pela preferência dos diferentes laboratórios por ser uma técnica de fácil manejo, mas principalmente por ser uma técnica de custo relativamente barato, mais acessível e que é eficiente para esse tipo de trabalho (SHAW, 1965; LOOMIS, 1966 e 1969; KHAVHIN, 1991).

Embora em número limitado, vários locos isoenzimáticos podem ser analisados rápida e simultaneamente. Porisso, mesmo com o aparecimento de técnicas moleculares mais modernas, as enzimas continuam sendo uma classe de marcadores muito úteis para análises genéticas que não requeiram uma amostragem ampla de genoma (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

2.1. A cultura da tamareira (*Phoenix dactylifera* L.)

Considerando que quase inexistem informações sobre a tamareira, será feita uma breve descrição botânica da planta, especialmente naqueles aspectos relevantes para conhecimento da cultura, segundo alguns autores, SIMÃO, 1971; MUNNIER, 1973; DEMASON, 1980 e NUNES *et al.*, 1989:

A tamareira é uma das espécies mais importantes da família **Arecaceae** (ex: **Palmaceae**) gênero **Phoenix**, distinguindo-se dos outros gêneros

por suas folhas flexíveis e pela presença de sementes sulcadas. Esta fruteira tem seus tecidos ativos e centralizados na gema terminal da planta da qual resulta a formação das folhas, cachos, crescimento em altura e diâmetro. A perda da gema terminal significa morte da planta.

Raiz: Tem um sistema radicular muito poderoso, atingindo muitos metros de comprimento e profundidade. Em geral, as raízes absorventes ficam em torno de 60 cm. A raiz principal não se desenvolve muito, as demais é que se desenvolvem formando raízes fasciculadas.

Caule: É um estipe de porte ereto, grosso, forte, atingindo, na idade adulta até 30 m de altura. Em torno do caule (estipe), na base, surgem filhotes ou rebentos que devem ser retirados para que não se forme uma grande touceira. Estes filhotes são usados para se propagar a planta vegetativamente. O estipe chega a ter, na planta adulta 2 a 3 m de circunferência, crescendo em altura até 30 m.

Folhas: Possui a planta, de 60 a 180 folhas, cada uma com duração de 1 a 7 anos. O número de cachos depende do número de folhas e há correlação positiva entre este número e a quantidade de frutos. As folhas são pecioladas, possuem bainha e lígula, apresentam um comprimento de 2 a 5 m de largura de 0,40 a 1,0 m. Anualmente, 28 folhas se formam simetricamente ao redor da estipe.

Flores: Com relação às flores, a tamareira classifica-se como uma planta dióica, isto é, cada palmeira só produz um tipo de flor, ou masculina ou

feminina, sendo necessário, a presença de uma planta de cada sexo para que haja frutificação. É usada comumente a “floração” como o único caráter natural de distinção de planta macho e fêmea. As flores se formam na região axilar das folhas originadas no ano anterior, e se reúnem em uma inflorescência espatulada e o seu número está entre 5000 a 8000. O sexo das flores é reconhecido sem dificuldade: as inflorescências masculinas são de cor branco-alva, cerosas com ramificações curtas, cerca de 15 cm de comprimento, estão densamente reunidas no fim da haste, e ao romper das espátulas, despreendem um delicado perfume e apresentam-se como rosinhas abertas, as inflorescências femininas são amareladas ou esverdeadas, se assemelham a botões e são esféricas. As plantas masculinas emitem inflorescências mais cedo que as femininas.

2.2. Utilização de izoenzimas na determinação de sexo de plantas

Entre as técnicas aplicadas ao estudo de proteínas, a da eletroforese tem tido ampla e crescente aplicação em várias áreas da Biologia. Basicamente, consiste na separação de moléculas protéicas por sua carga elétrica, tamanho e forma, através da migração em suportes e tampões adequados, sob a influência de um campo elétrico (LADZINSKY e HUMOWTTZ, 1979; ERLICH et al., 1991).

BAUDOIN (1992) descreveu que a eletroforese de zona constitui a técnica mais usada, seguida pela aplicação de métodos histoquímicos de

coloração, para poder localizar as zonas de atividade enzimática diretamente no meio do suporte.

As diferentes proteínas de um organismo podem ser separadas de conformidade com suas respectivas migrações, constituindo-se nas isozimas*. Estas são praticamente produtos de ação direta de genes e definidas como diferentes formas moleculares de proteína, exibindo a mesma especificidade enzimática num organismo (MARKET e MOLLER, 1959; BROW, 1979; MULUK e PAMIN, 1987).

A mobilidade eletroforética das proteínas possibilita segundo BROWN 1979) e ERLICH (1991) obter informações genéticas mais precisas na detecção de diferenças fenotípicas causadas por substituições alélicas de um único loco e a estimativa de proporções alélicas de um único loco e a estimativa de proporções de locos que mostram variações nas populações (SCANDALIOS, 1969; DRANSFIELD, 1986).

De acordo com LESHEM (1977) e CHAILAKHYAN (1979) a análise genética de isoenzimas de plantas pode ser aplicada na identificação de cultivares e linhagens, marcadores para estudo citogenéticos, genético-bioquímicos e do desenvolvimento, aspectos fisiológicos da heterose e da homeostasia, e ao polimorfismo genético (ERLICH et al., 1991; MARMEY et al., 1991).

* Termo substituído por 'isoenzima' pelo "Standing Committee on Enzymes of the International Union of Biochemistry" (WEBB, 1965).

HAVAGGE et al. (1987) e BUDIANI (1991) informam que isoenzimas alélicas normalmente têm as mesmas especificidades de tecido e substrato, mas poderão mostrar diferenças bioquímicas relacionadas com a alteração nas estruturas primárias, secundárias e terciárias, a condominância, a expressão simultânea de ambos os alelos, é característica de tal loco e os híbridos são distinguíveis pela presença das bandas paternas.

A ausência de uma enzima poderia refletir na ausência de banda, que pode ser devida à produção de proteínas, sem atividade enzimática (BRAC DE LA PERRIÈRE e BENKHALIFA (1989).

De acordo com SUGANUMA e IWASART (1983 e 1984) de um modo geral, o controle genético do polimorfismo enzimático parece ser monogênico. Diferenças genéticas identificáveis nos zimogramas poderão servir como marcadores moleculares e como valioso auxiliar na identificação de cultivares (AL-SALIH et al., 1987; BANNACEUR et al., 1991).

As isoenzimas constituem em ferramentas muito importantes e amplamente utilizadas para ilustrar a diversidade entre indivíduos, de uma mesma espécie (BARRET, 1973; BENDIAB et al., 1993).

BUTH (1984) estudando isoenzimas em tamareira, ressalta que, apesar de seus limites (pouca sensibilidade), a eletroforese constitui um bom método para estudos sobre variação genética e diversidade genética entre populações.

BALLVE et al. (1995) apresentam protocolos para a análise de 32 gêneros vegetais. Muitos sistemas isoenzimáticos são polimórficos.

ATKINSON et al. (1986) utilizaram vinte e quatro sistemas isoenzimáticos na caracterização de diversos genótipos de cacau (*Theobroma cacao* L.) e observaram que sete destes sistemas mostraram variação no padrão de bandas permitindo caracterizar o material.

De WALD et al. (1988 e 1992) e ARADHYA et al. (1994) estudando a variação isoenzimática de abacaxi (*Annanas* spp) incluindo espécies de *Annanas* e *Pseudoananas*, demonstraram que *Ananas* possui cinco grupos geneticamente divergentes e que *Pseudoanana* é bem distinta em sua constituição genética de todas as espécies de *Ananas*.

Isoenzimas tem sido usadas (através de padrões isoenzimáticos) como marcadores genéticos para identificar cultivares de várias frutas: Figo (*Ficus carica*), VALIZADEH (1977); Abacate (*Persea americana*) TORRES et al. (1978); Azeitona (*Cuphea pseudovaccinium*) PONTIKIS et al. (1980); Banana (*Musa* sp), JARRET e LITZ (1986); Mamão (*Carica papaya*), SRIPRASERTASAK et al. (1988) e RAO et al. (1985); Uva (*Vitis* sp), SUBDEN et al. (1987), WOLE e (1976) e WEEDEN et al. (1988); Manga (*Mangifera indica*), DEGANI et al. (1990); Citros (*Citrus* sp) MOON e KO (1991); Maçã (*Malus domestica*), SAMIMY e CUMMINS (1992); WEEDEN et al. (1985), Kiwi (*Actinidia chinensis*), MESSINA et al. (1993); lichia (*Litchi chinensis*), DEGANI et al. (1995), entre outras.

Além de identificação de cultivares, em kiwi e mamão os autores, MESSINA et al (1993) e SRIDRASERTASEK et al. (1988), respectivamente,

conseguiram utilizando o sistema peroxidase, identificar, dos cultivares, os sexos de cada uma das plantas.

GORGOCENA et al. (1989), utilizando a técnica de isoenzimas observaram que esta técnica foi suficiente para caracterizar híbridos sexuais, como somáticos em citrus.

Na palmeira, dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq.) ATAGA e FATOKUN (1989), GAN (1983), GHESQUIERE (1984 1985), SANTOS et al. (1989, 1990 e 1993), observaram, em estudos de polimorfismo realizados, através da análise dos perfis isoenzimáticos, que identificam bem variedade e cultivares. Obtiveram informações sobre a relação filogenética entre os cultivares, (conseguiram relacionar geneticamente as variedades desta cultura). Trabalhos no litoral do Sul da Bahia mostraram um grande número de eletromorfos distribuídos em 5 regiões e as isoenzimas identificadas apresentam baixa reprodutibilidade dos perfis observados. Eletroforese em gel de amido de extratos de pólen mostrou a existência de um novo alelo, IPDH h*5.

A utilização de técnicas isoenzimáticas como marcadores genéticos tem sido amplamente empregada em várias culturas, visando principalmente, determinação de polimorfismo, variações genéticas, variações somaclonais entre outras (CORLEY, 1976; HUTOMO, 1991)

Em tamareira foram realizadas vários trabalhos através de sistemas enzimáticos na tentativa de se determinar o sexo de plantas desta fruteira para,

entre outras, diminuir o custo de implantação do tamareiral, o que seria altamente desejável em plantas de interesse econômico.

Utilizando perfis eletroforéticos na identificação de plantas masculinas e femininas com padrões de zimograma de peroxidase em gel de poliacrilamida, através de extratos de folhas, BAAZIZ e SAAIDI (1988); SALMAL et al. (1988), encontraram padrões semelhantes em algumas plantas, em outras, mais bandas estavam presentes nas plantas femininas que nas plantas masculinas (AL-SIBOURI e ADHAM, 1990).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento será conduzido no Laboratório de Biotecnologia da EMBRAPA-CPATSA em parceria com os Departamentos de Biologia Aplicada (Cultura de Tecidos), Tecnologia e Horticultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (SP) UNESP.

3.1. Material Experimental (Cultivares a serem utilizados)

O material experimental é representado por cinco dentre as dez principais cultivares de tamareira, sendo dois vermelhos: Medjool e Halawy e, três amarelos: Deglet Nour, Zahidi e Khadrawy.

As plântulas desses cultivares serão obtidas de sementes de oito meses de idade, retiradas de plantas matrizes dos tamareirais do CPATSA. A semeadura (150 sementes por cultivar) será feita em recipiente de vidro, de 300 ml, em substrato, meio de cultura de MURASHIGE e SKOOG (1962).

Após a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas (três semanas) serão retiradas das folhas, amostras 1,5 g de tecido de cada uma desses cultivares (trinta por variedade).

3.2. Método de Extração de Enzimas de Folhas

O método usado para o preparo de extrato homogenado do tecido foliar, para uso de eletroforese é relativamente simples, rápido, exeqüível, segue a metodologia descrita por diversos autores: TORRES e TISSERAT (1980); BAAZIZ e SAAIDI (1987); AL JIBOURI e ADHAM (1990) e, ALFENAS et al. (1991). Consiste na trituração manual em almofariz e pistilo de porcelana e envolve as seguintes etapas:

- a. Coloca-se o almofariz e o pistilo previamente congelados sobre uma barra de gelo.
- b. Com o auxílio de uma tesoura corta-se a folha em pequenas tiras (4 x 5 mm), que são colocadas diretamente no almofariz. Tritura-se cerca de 1g de

tecido/ml de solução tampão (que pode variar em função do estágio de desenvolvimento da folha).

c. Tritura-se os fragmentos foliares na solução de extração:

• Fosfato de sódio bibásico (0,034M)	0,6 g
• Sacarose (0,2M)	7 g
• PVP-40 (2,56%)	2,56 g
• DTT(3 mM).	50 mg
• L-Ácido ascórbico (5,7mM).	100 mg
• DIECA (5,8 mM).	100 mg
• Bisulfito de sódio (2,6 mM)	50 mg
• Borato de sódio (Borax) (2,5 mM).	50 mg
• 2-Mercaptoetanol (0,2%)	0,2 ml
• Polietileno glicol- 6000 (1%)	1 g
• Água deionizada (ou destilada) (g.s.p.)	100 ml

Durante a trituração adiciona-se 100 mg/g/tecido de PVPP para remover compostos fenólicos e aumentar a estabilidade das enzimas.

d. Após a trituração, cobrir o macerado com uma tira (60 x 40 mm) de lenço de papel, e com um auxílio de uma pinça cirúrgica absorver o filtrado em tiras (12 x 5 mm), de papel cromatográfico Whatman 3MM, e

e. Transferir as tiras contendo o extrato protéico para tubos Eppendorf ou aplique-as imediatamente no gel. Usar as amostras preparadas pelo menor período de tempo possível para que as enzimas não percam a atividade.

3.3. Eletroforese

Para a análise de isoenzima, o extrato foliar será submetido a eletroforese conduzida a 4° C em tampão Tris-glicina, pH 8,7 a 150 v, constantes e durante 6 a 7 horas, em gel de poliacrilamida 10 %, em condições não desnaturantes.

Após a eletroforese o gel será submetido a coloração para diferentes sistemas isoenzimáticos: Malato desidrogenase, Isocitrato desidrogenase, Fosfoglicomutase, Fosfoglico desidrogenase, Fosfoglico isomerase e Fosfatase Ácida, as enzimas serão detectadas segundo BAAZIZ e SAAIDI (1987); AL-JIBOURI e ADHAM (1990); ALFENAS et al. (1991); AL-HELAL (1988 e 1992) e, ACQUAAH (1992).

3.4. Coloração

Após eletroforese o gel será submetido a coloração para diferentes sistemas isoenzimáticos (ACQUAAH 1992, e ALFENAS et al., 1991).

Esterases (EST-E.C.3.1.1.1.). O gel será incubado em tampão Fosfato 0,1M, pH 6,2 por 30 minutos, com agitação constante. O tampão será descartado e adicionar-se a uma mistura de 80 ml do mesmo tampão e 60 mg de α -naftil acetato e 40 mg de β -naftil acetato (previamente dissolvidos em acetona), incubando-se por um período de 15 minutos, se adicionará posteriormente 100 mg de Fast Blue RR previamente dissolvido em tampão fosfato e filtrado. O gel será mantido nesta solução até as bandas aparecerem. A solução será substituída por uma solução de etanol 30% e ácido acético 5%.

Álcool desidrogenase (ADH-E.C. 1.1.1.1.). O gel será incubado, por 20 minutos a 37°C e no escuro, na seguinte solução: 80 ml de Tris-HCl (0,2M, pH 8), 20 ml de etanol (95%), 20 mg de NAD*. Após este período adicionar-se 20 mg de MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-y]-2-5-Diphenyl Tetrazolium Bromide), 2 mg de PMS (Phenazine Methosulfate) previamente dissolvido em 1 ml de água desionizada. O gel será mantido no escuro nesta solução e no escuro até as bandas aparecerem. A coloração será fixada em solução aquosa de glicerol (10%).

Superóxido dismutase (SOD - E.C. 1.15.1.1.). O gel será incubado no claro, por 15 minutos e a 37°C em uma solução de: 40 ml de Tris-HCl (0,2M pH 8,0) 20 mg de $MgCl_2$ e 10 mg de NAD*. Após este período serão adicionado 10 mg de NBT (Nitro Blue Tetrazolium) e 5 mg de PMS, dissolvidos em H_2O desionizada. Após aparecimento das bandas o corante será descartado e o gel fixado em solução aquosa de glicerol (10%).

Fosfatase ácida (ACP - E.C. 3.1.3.2.). O gel será incubado no escuro, a 30°C por 20 minutos em 50 ml de uma solução de acetato de sódio (0,05M, pH 5,0) e 50 mg de α -naftil fosfato ácido (NAP). Posteriormente serão adicionados 50 mg de Black K previamente dissolvidos com água desionizada. O gel será mantido com esta solução até as bandas aparecerem.

Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6 PDH-E.C. 1.1.1.49). O gel será incubado por 20 minutos a 37°C com uma solução de 100 ml Tampão Tris-HCl (0,2M, pH 8,0) 200 mg Glucose-6-fosfato, 20 mg de NADP, 10 mg de $MgCl_2$. Em seguida será adicionado 20 mg de MTT e 2 mg PMS dissolvidos em água desionizada, incubando-se entre 30 a 60 minutos. O gel será fixado em solução aquosa de glicerol (10%).

Glutamato desidrogenase (GDH-E.C. 1.4.13). Incubar-se-a o gel no escuro por 15 minutos e a 37°C em uma solução contendo 80 ml de Tris-HCl (0,1M, pH 8,0), 20 ml de ácido-L-glutâmico (1M, pH 8,0), 20 mg de NAD^+ e 20 mg de $MgCl_2$. Após este período se adicionará 20 mg MTT e 2 mg de PMS dissolvidos em água desionizada. O gel será mantido durante 60 minutos ou até as bandas aparecerem.

Malato desidrogenase (MDH- E.C. 1.1.1.37). Adicionar-se-á ao gel uma solução contendo 96 ml de Tris-HCl (0,2M, pH 8,0), 4 ml de Ácido Málico (0,5M, pH 8,0) 20 mg de NADP e 20 mg de $MgCl_2$, se incubará o gel por 20 minutos a 30°C e no escuro. Adicionar-se-á 20 mg de MTT e 2 mg PMS dissolvidos em água desionizada, incubando-se novamente o gel durante 30 a 60 minutos.

Enzima Malica (ME - E.C. 1.1.1.40). O gel será incubado por 20 minutos a 30°C e no escuro na seguinte solução: 10 ml de ácido málico (2M, pH 8,0), 90 ml de Tris-HCl (0,2M, pH 8,0) 20 mg NADP, 20 mg MgCl₂. Posteriormente se adicionará 20 mg de MTT e 2 mg de PMS dissolvidos em água desionizada, permanecendo o gel por mais 30 minutos ou até as bandas aparecerem.

Peroxidase (PRX - E.C. 1.11.1.7). O gel será incubado em uma solução contendo 46,25 ml de acetato de sódio (0,05M, pH 5,0) 1 ml de CaCl₂ (0,1M) 0,25 ml de H₂O₂ (3%) 25 mg de 3-Amino 9 etil carbazol (dissolvido em 5 ml dimetil formanide) por um período de 30 a 60 minutos, e a 4°C. Após o aparecimento das bandas o gel será fixado em uma solução de glicerina-água (1:1).

Xiquimato desidrogenase (SKDH-E.C. 1.1.1.25). O gel será incubado a 37°C durante 30 minutos no escuro na seguinte solução: 100 ml de Tris-HCl (0,1M, pH 8,0), 100 mg de ácido xiquímico, 20 mg NADP. Posteriormente serão adicionados 20 mg de MTT ou NBT e 2 mg de PMS deixando-se o gel por mais 30 minutos, esta solução será descartada e o gel fixado com solução aquosa de glicerol (10%).

Xantina desidrogenase (XDH - E.C. 1.2.1.37). Adiciona-se ao gel uma solução contendo 50 ml de tampão Tris-HCl (50 mM, pH 7,5), 350 mg de Hipoxantina e 25 mg de NAD*, incubando-se a 30°C por 20 minutos. Em seguida serão adicionados 10 mg de NBT e 2 mg PMS dissolvidos em água desionizada. A solução será descartada, o gel lavado em água destilada e fixado em glicerol 10%.

3.5. Avaliações dos Resultados

Ao final do ensaio, os resultados obtidos por isoenzimas (esterases, GOT, LAP, peroxidase) serão transformados em matrizes de presença/ausência de bandas, classificando cada banda pelo R.f. (Frequência relativa)

Esta matriz será submetida a um teste de similaridade através do coeficiente de JACCARD.

$$J = a/a + b + c \quad (1)$$

onde:

a = nº de bandas comuns entre os materiais 1 e 2

b = nº de bandas exclusivas do material 1

c = nº de bandas exclusivas do material 2

O coeficiente de Jaccard permite calcular a percentagem de bandas comuns a dois indivíduos, sendo os dados posteriormente agrupados pelo método de UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Mean) para comparação entre todos os indivíduos. Os dados assim obtidos serão analisados com o auxílio do programa NTSYS (Numeric Toxonomical System) Versão 1.70. Será realizado segundo BANZATO e KRONKA (1992), a análise estatística utilizando o 'Teste do Qui-Quadrado (χ^2), para comparação dos resultados obtidos com os resultados esperados.

Para a determinação do sexo serão analisados os perfis eletroforéticos objetivando-se encontrar banda ou bandas que diferenciam os masculinos (δ) das femininas (ϕ).

4. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

ATIVIDADES	ANO																							
	1998												1999											
	MESES																							
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1. Aquisição do material	X	X										X	X											
2. Produção de Mudass “in vitro”			X	X										X	X									
3. Coleta de folhas da tamareira				X	X	X									X	X								
4. Determinação do sexo por padrões enzimáticos							X											X	X					
5. Análise dos resultados										X	X	X									X	X	X	

5. ORGÃO FINANCIADOR/PARceria

A pesquisa será financiada pelo BIRD III (Banco Interamericano de Desenvolvimento) em convênio com a EMBRAPA e terá a parceria da EMBRAPA pela unidade CPATSA, com a FCAVJ-UNESP.

6. LITERATURA CITADA

ACQUAIAH, G. **Practical protein electrophoresis for genetic research.**

Dioscorides Press. Portland, Oregon. 1992. 131p.

ALFENAS, A. C., PETERS, J., BRUNE, W., PASSADOR, G.C. **Electroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais.** Universidade Federal de Viçosa. 1991. 242p.

AL-HELAL, A. A. **Amylase isoenzymes and protein of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit.** **Bot. Bull. Academia Sinica**, v.29, p. 239-244, 1988.

AL-HELAL, A. A. **Electrophoretic analysis of three selected isoenzymes of date palm pollen grains.** **Botanical Bulletin of Academia-Sinica**, v.33, n.3, p. 241-246, 1992.

AL-JIBOURI, A. A. M., ADHAM, K.M. Biochemical classification of date palm male cultivars. **Journal of Horticultural Science**, v.65, n.6, p. 725-729, 1990.

AL-JIBOURI, A. A. M., ADHAM, K.M. Identification of date palm cultivars by isozyme analysis. **Agricoltura Mediterranea**. V.120, n.2, p. 204-210, 1990.

AL-SALIH, A. A. , HUSSAIN, N., AL-JARRAH, E. Chromosomes number of a date palm male: cultivar Ghannamii Akhdar. **Date Palm Journal**, v.5, n.2, p. 128-133, 1987.

ANDREWS, A. T. **Electrophoresis: theory, techniques, and biochemical and clinical applications**. Butler and Tanner Ltd. Frome Somerset 2nd ed. 1988. 452p.

ARADHYA, M.K., ZEE, F., MANSHARDT, R.M. Isoenzyme variation in cultivated and wild pineapple. **Euphytica**, v.79, p. 87-99, 1994.

ATAGA, C.D., FATOKUN, C.A. Disc polyacrylamide gel electrophoresis of pollen proteins in the oil palm (*Elaeis*). **Euphytica**, v.40, p. 83-88, 1989.

ATKINSON, M.D., WITHERS, L.A., SIMPSON, M.J.A. Characterisation of germoplasm using isoenzymas markers. **Euphytica**, v.35, p. 741-750, 1986.

BAAZIZ, M., SAAIDI, M. Preliminary identification of date palm cultivars by esterase isoenzymes and peroxidase activities. **Canadian Journal of Botany**, v.66, p. 89-93, 1988.

BALLVE, R.M.L., MEDINA FILHO, H.P., BORDIGNON, R., LIMA, M.M.A. Methodology for starch gel electroforesis and protocols for isoenzymes of 32 plant genera. **Brazilian Journal of Genetics**, v.18, p. 491-502, 1995.

BANNACEUR, M., LANAUD, C., CHEVALLIER, M.H., BOUNAGA, N. Genetic diversity of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria revealed by enzymie markers. **Plant Breeding**, v. 107, p. 56-69, 1991.

BANZATTO, D.A., KRONKA, S.M. **Experimentação agrícola**. 2 ed. Jaboticabal. FUNEP. 1992. 247p.

BARRET, H.C. Date breeding and improvement in North America. **Fruit Var. Journal**, v.27, p. 50-55, 1973.

BAUDOIN, L. Utilisation des marqueurs moléculaires pour l'amélioration du palmier à huile. I. Marqueurs protéiques use of molecular markers for oil palm breeding. I. Protein markers. **Oléagineux**, v. 47, n.12, p. 681-691, 1992.

BENDIAB, K., BAAZIZ, M., BRAKEZ, Z., SEBRA, M.H. Correlation of isoenzyme polymorphism and Bayoud-disease resistance in date palm cultivars and progeny. **Euphytica**, v.65, p. 23-32, 1993.

BRAC DE LA PERRIÈRE, R.A, BENKHALIFA, A. Identification des cultivars de dattier (*Phoenix dactilifera* L.) du sudouest algérien. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v.78/79, p. 13-20, 1989.

BREWER, G.J., SING, C.F. **An introduction to isozyme techniques**. Academic Press, New York, 1970. 186p.

BROWN, A. H.D. Enzyme polymorphism in plant. **Theor. Popul. Biol.**, v.15, p. 1-42, 1979.

BUDIANI, A., TAHARDI, J.S. Electrophoretic analysis of genetic variability in oil palms derived from leaf tissue culture. **Menara Perkebunan**, v.59, n.3, p. 86-94, 1991.

BUTH, D.G. The application of electrophoretic data in systematic studies. **Annual**

Reviews of Ecology and Systematics, v.15, p. 501-522, 1984.

CHAILAKHYAN, M. Kh. Genetic and hormonal regulation of growth, flowering, and sex expression in plants. **American Journal of Botany**, v.66, p. 717-736, 1979.

CHELIAK, W.M., YEH, F.C.H., PITEL, J.A. Use of electrophoresis in tree improvement programs. **For Chron**, v.63, p. 89-96, 1987.

CORLEY, R.V.H. Sex differentiation in oil palms. Effects of growth regulators. **Journal of Experimental Botany**, v.27, p. 553-558, 1976.

DEGANI, C., BEILES, A., EL-BATSRI, R., GOREN, M., GAZIT, S. Identifying lychee cultivars by isozyme analysis. **Journal American Society Horticultural Science**, v.120, n.2, p. 307-312, 1995.

DEGANI, C., EL-BATSRI, R., GAZIT, S. Enzyme polymorphism in mango. **J. Amer. Soc. Hort. Science**, v.115, p. 844-847, 1990.

DEMASON, D.A., TISSERAT, B. The occurrence and structure of apparently bisexual flowers in the date palm, *Phoenix dactylifera* L. (Arecaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.81, p. 283-292, 1980.

DeWALD, M.G., MOORE, G.A. , SHERMAN, W.B. Identification of pineapple cultivars by isoenzyme genotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.113, p. 935-938, 1988.

DeWALD, M.G., MOORE, G.A. , SHERMAN, W.B. Isozymes in Ananas (Pineapple): Genetics and Usefulness in taxonomy. **Journal American Society Horticultural Science**, v.117, n.3, p. 491-496, 1992.

DRANSFIELD, J., UHL, N.W. An outline of a classification of palms. **Principes**, v.30, p. 3-11, 1986.

ERLICH, A. H., GELFAND, D., SNINSKY, J.J. Recent advances in the polymerase chain reaction. **Science**, v.25, p. 1643-1651, 1991.

FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, G. **Introdução ao curso de marcadores, RAPD e RFLP em análise genética**. EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.

FOTTRELL, P.F. Functions and applications of isoenzymes. **Sciences Progress**, v.55, p. 543-559, 1967.

GAN, Y.Y., ABD-RAMHMAN, A. , TAN, S.G., IDRIS-ABDOL. Identification on oil palm species using electrophoresis. In: **Crop improvement research**. SABRAO University Kebangsaan Malaysia. P. 405-410. 1983.

Ghesquière, M. Enzyme polymorphism in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) I. Genetic control of nine enzyme systems. **Oléagineux**, v.39, p. 12, 1984.

Ghesquière, M. Polymorphisme enzymatique chez le palmer à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) II. Variabilité et structure génétique de sept origines de palmiers. **Oléaginex**, v.4, n.11, p. 529-537, 1985.

Ghesquière, M. Polymorphisme enzymatique chez the palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) I. Contôle génétique de neuf systéms enzymatiques. **Oléagineux**, v.39, n.12, p. 561-571, 1984.

GORGOCENA, Y., ZUBRZGCKI, H.M., ORTIZ, J.M. Identificación de mandarinos y mandarinos híbridos mediante caracteres bioquímicos. **Investigación Agrária, Producción y Proteccción de Vegetales**. v.4, p. 317-331, 1989.

GOTTLIEB, D. Conservation and duplication of isozymes in plants. **Science**, v. 216, p. 373-380, 1982.

HANRICK, J.L., LOVELESS, M.D. Isoenzyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, v.18, p. 201-207, 1986.

HAUAGGE, R., KESTER, D.E., ARULSEKARS, PARFIT, D.E., LIU, L. Isozyme variation among California almond cultivars. II. Cultivar characterization and origen. **Journal American Society Horticultural Science**, v.114, n.4, p. 693-698, 1987.

HEIDRICH-SOBRINHO, E. Isoenzimas como marcadores genéticos na identificação de nove linhagens de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, p. 181-186, 1982.

HUNTER, R.L., MARKERT, C.L. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. **Science**, v.125, p. 1294-1295, 1957.

- HUTOMO, P., SUBPRONTO, S. Isoenzyme analysis for genetic studies on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Bulletin Perkebunam**, v.22, n.3, p. 151-161, 1991.
- JARRET, R.L., LITZ, R.E. Isozymes as genetics markers in banana and plantains. **Euphytica**, v.35, p. 539-549, 1986.
- KEPHART, S.R. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: A comparative analysis of techniques. **Amer. J. Botany**, v.77, p. 693-712, 1990.
- KHAVHIN, E.E. Esterase and peroxidase patterns in leaves of A 188 somaclones. **Maize Genetics Cooperation News Letter**, v.65, p. 88-89, 1994.
- LADIZINSKY, G., HYMOWITZ, T. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. **Theor. Appl. Genet.**, v.54, p. 145-151, 1979.
- LESHEM, Y., OPHIR, D. Differences in endogenous levels of gibberelin activity in male and female partners of two dioecious trees species. **Annals of Botany**, v.41, p. 375-379, 1977.
- LOOMIS, W.D. Removal of phenolic compounds during isolation of plant enzymes. **Methods in Enzymology**, v.13, p. 535-563, 1969.

LOOMIS, W.D., BATTAILE, J. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. **Phytochemistry**, v.5, p. 423-38, 1966.

MARKET, C.L., MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. **Proceeding of the National Academy of Science**, v.45, p. 753-763, 1959.

MARMEY, P., BESSE, J. VERDEIL, J.L. Mise en evidence d'un marqueur protéique différenciant deux types de cals issus de mêmes clones chez le Palmer a Huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). **C.R. Acad. Science**, Paris, t. 313, Série III, p. 333-338, 1991.

MESSINA, R., TESTOLIN, R., MORGANTE, M Isozymes for cultivar identification in Kiwifruit. **HortScience**, v.28, p. 1185-1186, 1993.

MOON, D.K., KO, K.C. Isozymes as genetic markers in citrus growing in cheju and their use for identification of nucellar and zygotic seedlings I. Paroxidase isozymes. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Korean, v.32, n.1, p. 59-65, 1991.

MOSS, D.W. **Isoenzymes**. Capamn e Hall, London e New York, 1982. 241 p.

MULLIS, K.B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, p. 36-43, 1990.

MULUK, C. PAMIN, K. Comparison between oil palm clones and seedlings on the sex ration and some vegetative characteristics. **Buletim-Perkebunam**, v.18, n.1-3, p. 17-28, 1987.

MUNIER, P. **Le palmier dattier**. G.P. Maioseneuve e Larose, 1973. 221p.

NUNES, R.F. de M., QUEIROZ, M.A. de S., SILVA, C.M.M. de S. **Instruções para a produção de mudas e plantio da tamareira**. EMBRAPA-CPATSA. Petrolina - PE. 1989. 36p. (Circular técnica, 21).

NUNES, R.F. de M., SILVA, C.M.M. de S., QUEIROZ, M.A. de, GIACOMETTI, D.C. **Viabilidade do cultivo da tamareira no Vale do São Francisco**. (Pesquisa em And., EMBRAPA-CPATSA, nº 53, 1988. 5p.).

PONTIKIS, C.A. , LOUKAS, M., KOUSOUNIS, G. The use of biochemical markers to distinguish olive cultivars. **Journal of Horticultural Science**, v.55, p. 333-343, 1980.

RAO, O.P., SINGH, R.N., SINGH, R.N., SINGH, B.P. Sex identification um papaya through colorimetric tests and morphological characters of leaf petiole. **Progressive Horticultural**, v. 17, n.4., p. 340-346, 1985.

SALMAN, R.M., AL-JIBOURY, A. A. M., ALQUADHY, W.K., OMAR, M.S. Isozyme and chromosomal analyses of tissue culture derived Date Palms. **Date Palm Journal**, v.6, n.2, p. 401-411, 1988.

SAMIMY, C., CUMMINS, J.N. Distinguishing appel rootstacks by isozyme branding patterns. **Hortscience**, v.27, n.7, p. 829-93, 1992.

SANTOS, M. de M., MESTRINER, M.A. Isozyme extraction from mature oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) leaves for electrophoretic studies. **Revista Brasileira de Genética**, v.12, n.3, p. 655-657, 1989.

SANTOS, M. de M., MESTRINER, M.A. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) isocitrate dehydrogenase* 5: A rare isozyme variant found in a population located in Bahia State, Brasil. **Revista Brasileira de Genética**, v.13, n.3, p. 625-628. 1990.

SANTOS, M. de M., SIMÕES, A.L., MESTRINER, M.A. Oil palm (*Elaeis guineensis*, Jacq.) esterase genetics polymorphism reasealed by isoelectric focusing in polyacrylamide gel. **Revista Brasileira de Genética**, v.1, n.3, p. 679-683, 1993.

SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes a review. **Biochemical Genetics**, v.3, p. 37-79, 1969.

SCANDALIOS, J.G., SORENTIEN, J. Isoenzymes in plant tissue culture. In: *Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture*. Reinert, J.G. e Bajaj, Y.P.S. (Eds.) Springer Verlay, Berlin, p. 719-730. 1977.

SHARMA, D.R., KUMARI, R., CHTOWDHURY, J.B. In vitro culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Euphytica**, v.29, p. 169-44, 1980.

SHAW, C. R. Electrophoretic Variation in enzymes. **Science**, v.149, p. 936-943, 1965.

SHIELDS, C.R., ORTHON, T.J., STUBER, C.W. An out line of general resource needs and procedures for the eletrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. In: **Isozymes in plant genetic and breeding. Part A**. Edited by

S.D. Tanksley S.T.S. Orton. Elsevier Sc. Pub. B.V., Amesterdam, p. 443-468, 1983.

SIMÃO, S. Tamareira. In: **Manual de Fruticultura**. São Paulo. Agr. Ceres. 1977. Cap. 18, p. 509-521.

SRIPRASERTSAK, P., BURIKAW, S., ATTATHOM, S., PIRIYASURAWONG, S. Determination of cultivar and sex of papaya tissues derived from tissue culture. **Jounal Natural Science**, v.22, p. 24-29, 1988.

STEGEMANN, H. Restrospect on 25 years of cultivar identification by protein patterns and prospect for the future. J: S.R. Draper S.R.J. Cook (Eds.) **Proc. Of on ISTA Symp. In Biochem. Test for Cultivar Identification**, p. 20-30. Zurich, The Int'l' Seed Testing Association. 1987.

STEGEMANN, H., AFIFU, A. M.R., HUSSEIN, K.R.F. Identification of date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by protein patterns. **Phytochemistry**, v. 26, p. 149-153, 1987.

STUBER, C.W. Isozymes as markers for studying and manipulating quantitative traits. In: **Isozymes in plant biology**. Edited by Soltis E.D. e Soltis, P.S. Chapman e Hall Ltd. P. 207-220. 1990.

SUBDEN, R.E., KRIZUS, A., LOUGHEED, S.C., CAREY, K. Isozyme characterization of *Vitis* species and some cultivars. **American Journal Enology Viticulture**, v.38, p. 176-181, 1987.

SUGANUMA, H. Studies on plant materials as energy resources. I. Sex identification by an isozyme method in date palm *Phoenix dactylifera*. **Denryoky Chuo Kenkyusho Hokoku**. V.0, p. 1-11, 1984.

SUGANUMA, H., IWASARI, A. Sex identification of dioecious plants by isozyme method date (*Phoenix dactylifera* L.). **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v.27, n.2, p. 75-78, 1983.

TANKSLEY, S.D., ORTON, T.J. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Part B. Elsevier, Amsterdam. 1983. 472p.

TISSERAT, B., TORRES, A. Isozymes as genetic indicators in date palm. **Date Growers Inst. Reprt.**, v.54, p. 24-28, 1979.

TORRES, A. M., DIEDENHOFEN, V., BERGH, B.O., KNIGHT, R.J. Enzyme polymorphism as genetic markers in the avocado. **American Journal of Botany**. V.65, n.2, p.134-139. 1978.

- TORRES, A. M., TISSERAT, B. Leaf isozymes as genetic markers in date palms. **American Journal of Botany**, v.67,n.2, p. 162-167. 1980
- VALIZADEH, M. Esterase and acid phosphatase polymorphism in fig tree (*Ficus carica* L.). **Bioch. Genetic**, v.15, p. 1037-1048, 1977.
- VALLEJOS, E. Enzyme activity staining. In: S.D. Tanksley S.J.S. Orton. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Part A. Amsterdam, Elsevier. P. 469-516. 1983.
- WEEDEN, N.F., REISCH, B.I., MARTENS, M.H.E. Genetic analysis of isozyme polymorphism in grape. **Journal American Society Horticultural Science**, v.113, n.5, p. 765-769, 1988.
- WEEDEN, N.F., ZAMB, R.C. Identification of apple cultivars by isozyme phenotype. **Journal American Society Horticultural Science**, v.110, n.4, p. 509-515. 1985.
- WENDEL, J.F. Genetics of plant isozymes. In: **Isozymes in plant biology**. Soltis, E.D.S. Soltis, P.S. (Eds). Chapman e Hall Ltd. P. 46-63. 1990.

WOLFE, W.H. Identification of grape varieties by isozyme banding patterns.

American Journal Viticulture, v. 272, p. 68-73, 1976.

Jaboticabal (SP) dezembro de 1996

Regina Ferro de Melo Nunes
Regina Ferro de Melo Nunes

ANÁLISES CRÍTICAS DE ARTIGOS CIENTÍFICOS

SELEÇÃO DE CENOURA COM RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES DE GALHAS (*Meloidogyne* spp)

João M. CHARCHAR

Jairo V. VIEIRA

Horticultura brasileira, v.12, n.2, p. 144-148. 1994.

O trabalho consiste no estudo de seleção de cenoura com resistência a nematóides de galhas.

O **título** expressa a intenção da pesquisa em se obter uma seleção com resistência ao *Meloidogyne* spp. No entanto, seria fundamental os autores citarem a espécie botânica (cultura) com o nome científico (*Daucus carota* L.), pois o título é uma importante fonte de referência.

Os **termos indexados** são representativos do trabalho. Permitem a sua recuperação através de bancos de dados.

O **resumo** está inserido de forma sintética, dando uma visão geral do que foi realizado no trabalho. Porém, esta incompleto, não dispõe dos tópicos básicos como por exemplo, objetivos, período e local de execução, principais conclusões. Os autores concentraram mais as informações sobre os parâmetros avaliados e os resultados obtidos.

No **abstract** seguiram o mesmo modelo do resumo.

A **introdução** está bem elaborada e redigida em seqüência lógica, estabelecendo com clareza a importância, justificativa e os objetivos da pesquisa, respaldados na literatura. Principalmente quando ressalta a importância da seleção, testando genótipos de cenoura, quanto a resistência, em vez do uso de produtos químicos para controle de *Meloidogyne* spp, que são tóxicos, antieconômicos, entre outros, e não podem ser recomendados.

A **metodologia** é escrita em seqüência onde se apresenta em forma clara, cada um dos experimentos realizados, citando as fontes de referência quanto a forma de procedimento do trabalho.

A descrição dos **resultados** junto a **discussão**, são apresentados em forma de três tabelas, é feita de forma comparativa, tanto quanto se refere ao estudo das épocas (seca e chuvosa), das etapas de seleção, como quando se analisam dados de eficiência da resistência das progênies de cenoura, demonstrando que as progênies selecionadas apresentam diferentes graus de resistência a *Meloidogyne* spp. Os autores deveriam ter feito estes experimentos, na mesma quantidade de anos (fizeram uma etapa em 4 anos e a outra em 3 anos) e também em períodos semelhantes (seco e chuvoso).

As tabelas deste trabalho não estão bem apresentadas. Nas tabelas 1 e 2, trocaríamos os termos abaixo delas por: Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). A tabela 3 está totalmente fora de estética, precisaria fazer nela,

um alinhamento. Nesta tabela o dado da progênie CNPH-108, está incorreto, faltam algarismos e letra. Nas três tabelas faltam a linha abaixo delas, que indica final da tabela .

As **referências** apresentam uma ampla revisão sobre o tema, estando totalmente inseridos dentro da proposta de trabalho.

A pesquisa é interessante, cujo tema tem sido alvo de pesquisas a nível mundial, conforme literatura consultada. Apesar das críticas em função da organização, entre outras, trás este trabalho, grandes contribuições científicas para os estudos relacionados a seleção de cultivares de cenoura com resistência a nematóides de galhas.

Trabalho indicado pelo Prof. Dr. João Carlos de Oliveira.

**CONTROLE DO MAL-DE-SIGATOKA EM BANANEIRA DA CV. PRATA
COM TRIADIMENOL VIA SOLO EM FUNÇÃO DA INCIDÊNCIA DA DOENÇA**

J.A. VENTURA; J.R. GALINDO ALVAREZ; L. ZAMBOLIM & F.X. RIBEIRO DO VALE

Fitopatologia brasileira, v.19, n.3, p. 370-376. 1994.

O trabalho é um estudo sobre o controle químico do Mal-de-Sigatoka (*Mycosphaerella musicola*) com o fungicida sistêmico triadimenol (Bayfidam 106), via solo, em bananeira (*Musa spp*) cultivar Prata (AAB).

O **título** no geral, expressa o objetivo e o conteúdo do trabalho. Apesar de refletir com precisão o que é abordado na pesquisa, os autores cometem um erro ao fazer uma abreviação, no caso, o termo '.cv.' que deve ser por extenso 'cultivar'.

O **resumo** sintetiza bem o que veio ser o trabalho, apresentando de forma clara e concisa os aspectos relevantes dessa pesquisa, esquecendo apenas de citar o delineamento experimental utilizado. Os demais itens foram enfocados (objetivos, material e métodos, principais conclusões).

As **palavras chaves** foram bem indexadas, apenas acrescentaria a cultivar de bananeira (Prata, AAB), visto ser um termo importante para recuperação dos trabalhos através de bancos de dados.

Seguiram o mesmo modelo do resumo para o **Abstract**.

Na **introdução** faz-se uma apresentação clara da necessidade da pesquisa. Destaca-se entre os principais problemas encontrados pelos autores, uma medida ideal para controle do Mal-de-Sigatoka, demonstrando por diversos trabalhos, o uso do triadimenol como medida recomendada.

O **objetivo** incluso na introdução reflete claramente a proposta do trabalho.

A **metodologia** é escrita com clareza citando as fontes de referência quanto a forma de controle dessa doença em bananeira, com informações suficientes para a sua reprodução por outras pessoas interessadas nesta pesquisa.

A seqüência deste item (materiais e métodos) não está lógica, os autores deveriam colocar após o local de execução, as condições climáticas, os tratamentos, o delineamento experimental, como e quanto aplicar o fungicida e por último, como fazer a avaliação dos tratamentos, o que não ocorre, eles trocaram os itens.

Os **resultados** são apresentados em forma de quatro tabelas, avaliadas separadamente para cada geração de plantas, e representam os valores de 'Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD)' obtidos pela severidade do Mal-de-Sigatoka (2 tabelas); produção obtida pelo peso de cachos e produção de pencas comerciais. Segundo os autores, houve diferença entre o efeito da aplicação de uma vez e a testemunha, para as demais aplicações do fungicida e, que os tratamentos nos quais o fungicida é aplicado uma vez, apresentaram médias iguais a AACPD da testemunha, o que não é verdade como se observa na tabela 2. A tabela 1, as letras apresentadas que compõe as diferenças estatísticas estão em ordem

invertida. Em todas as quatro tabelas, os itens explicativos abaixo, não estão corretos os termos: Médias de quatro repetições, médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), deveriam ficar logo abaixo da Tabela, sem numeração. Os outros itens, numera-se com chamamento abaixo da tabela.

A frase: "Os tratamentos que receberam seis, cinco do fungicida, de acordo com o PFN e o tratamento com três aplicações..." é repetida no trabalho.

A **discussão** é feita de maneira correta, amarrando os resultados obtidos com os realizados por outros autores. Destacam-se que estudos como estes são importantes, considerando que estes são implicados conjuntamente tanto na pesquisa básica como na aplicada.

As **conclusões** inclusas nos resultados e discussão condizem com os resultados obtidos nas condições do trabalho, que o controle com três aplicações do fungicida triadimenol pode ser recomendado em virtude de apresentar resultados semelhantes aos obtidos com maior número de aplicações, tanto em produção, como em qualidade para a bananeira.

Todos os trabalhos apresentados no texto foram citados na referência e vice-versa e, estão citados de acordo com as normas da Revista de Fitopatologia brasileira estando principalmente, condizentes com a pesquisa.

Trata-se de um assunto interessante de alto nível técnico, bem redigido e que oferece reais contribuições aos estudos referentes ao uso de controle de doença em bananeira.

No Brasil, existem poucas pesquisas nessa área, portanto as informações contidas no presente trabalho são valiosas pois fornecem subsídios para a orientação e geração de novas pesquisas.

Trabalho indicado pelo Prof. Dr. Kazuio Nakamura.

COMPORTAMENTO DO MARACUJAZEIRO 'AMARELO' (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) ENXERTADO SOBRE DIFERENTES PORTA-ENXERTOS.

Neuza Maria Colauto STENZEL e Sergio Luiz Colucci de CARVALHO

Revista Brasileira de Fruticultura, v.14, n.3, p. 183-186. 1992.

O trabalho é uma contribuição no intuito de melhorar o maracujazeiro através de propagação vegetativa, utilizando a técnica da enxertia.

O **título** está bem situado sintetizando o conteúdo do trabalho.

No **resumo** os autores conseguiram apresentar de forma clara e sucinta uma versão perfeita do trabalho enfocando os objetivos, metodologia, delineamento experimental e principais conclusões.

Junto as **palavras chaves**, apenas acrescentaria o nome científico do maracujá *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, visto ser um termo importante para encontrar o trabalho no banco de dados.

No **summary**, os autores seguiram o mesmo modelo do resumo.

Quanto a **introdução** os autores se preocuparam em citar uma lista de trabalhos de pesquisa em porta-enxerto para maracujazeiro se empenhando em discutir que o uso de porta-enxertos adequados na longevidade da cultura.

A **metodologia** do trabalho apesar de apresentar os tratamentos, local, delineamento, entre outros, é exposta de forma limitada não sendo citada, nenhuma referência bibliográfica, principalmente no que diz respeito a preparação do material.

Os autores não seguiram uma seqüência lógica na descrição da metodologia, citaram por último os tratamentos a serem utilizados, enquanto deveriam seguir o roteiro: primeiro os tratamentos, depois o delineamento experimental, o processo de semeadura, e de condução da pesquisa e por último a avaliação. Quanto a avaliação não citaram a análise estatística, deveriam relatar que: os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F e as diferenças entre média comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Os **resultados** são colocados junto com a **discussão** tendo os autores a preocupação em buscar explicações e respostas sobre os resultados obtidos. Esta parte do trabalho não está bem clara, faltam apresentar dados obtidos. Os autores descrevem que serão avaliados na metodologia, falam sobre os mesmos nos resultados, porém não citam em tabelas e outros meios: distribuição mensal da colheita, vigor, % de suco, SST e pH, não constam no trabalho. Tem apenas uma tabela (Tabela 1) onde os autores, apenas apresentam o peso, número de frutos por hectare e peso de fruto em grama. Os parâmetros avaliados deveriam receber maiores destaques.

Os autores pedem para observar a produção na distribuição mensal da colheita, porém não há como observar porque os dados não são apresentados. Relatam que não houve diferença quanto aos teores médios de suco nos diferentes

tratamentos, porém, acredita-se que houve devido a variação ser entre 21,5 a 44,5%. Como também, com relação ao pH que variou de 11,76 a 14,66 (Como não há diferença ?). Os resultados que não diferiram podem ser apenas citados, mas outros deveriam ser apresentados: distribuição mensal da colheita, variação dos teores de suco, vigor. A única tabela apresentada (Tabela 1) no final do trabalho, não está correta a posição das letras, resultando numa análise estatística, talvez incompleta. Nesta tabela, o último parâmetro avaliado, como não foi significativo para todos os tratamentos, deveriam colocar apenas **ns**. Abaixo do traço da tabela, deveriam ter colocado: Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Nas **conclusões** os autores conseguiram condensar os principais resultados.

As conclusões dependem da análise estatística correta. Para a *Passiflora giberti* os parâmetros avaliados apresentaram valores menores, mas pode não diferenciar dos outros tratamentos.

As **referências** são condizentes com o trabalho, porém algumas delas como RUGGIERO (1987) e OLIVEIRA (1984) não estão citados no texto.

De um modo geral o trabalho é de grande importância para o aumento de pomares comerciais produtivos de maracujá, em várias regiões do país, podendo ser reproduzido em locais onde se faz bastante necessário a enxertia desta espécie.

Trabalho indicado pelo Prof. Dr. Carlos Ruggiero.

HUMAN APPROPRIATION OF RENEWABLE FRESH WATER

Sandra. L. POSTEL; Gretchen C. DAILY, Paul R. EHRLICH

Science, v.271, p. 785-788, 1996.

O trabalho não é um artigo técnico-científico, é uma reportagem que trata de caracterizar o uso da água no mundo: "**Apropriação do homem de água fresca renovável**".

O resumo é apresentado de forma explícita indicando o assunto do trabalho, o suprimento de água no mundo.

A reportagem é apresentada, em parte, em forma de duas figuras e em quatro tabelas, ressaltando o uso de água fresca pela humanidade. Para sobrevivência do planeta precisa-se de água doce, temos apenas 3% dessa água, 97% é de água salgada (oceanos, mares, etc). E, apenas 0,77 (10.665.000 km³) de água fresca do planeta, é potável, doce, e líquida, 99% é freática, dada em profundidade, precisa perfurar para se obtê-la. A água em superfície é barata mas está em extinção. É impraticável o transporte de grande quantidade de água necessária na agricultura e na indústria, de centenas de quilômetros de distância.

A água fresca é agora escassa em muitas regiões do mundo resultando numa severa degradação ecológica, limitando a produção da agricultura e da

indústria, ameaça para a saúde do homem em potencial aumento para o conflito internacional de seus utilizadores, ressaltam os autores.

Nesta reportagem estima-se claramente quanto de água, fresca, renovável da terra é realisticamente acessível para a humanidade, quanto usa diretamente dentro do sistemas dominados ou apropriados pelo homem. A estimativa do balanço global de água são derivados de interpolação climática, vegetação, solo, entre outros, para diferentes zonas geográficas.

De forma simples os autores mostram na Figura 1, o ciclo hidrológico global, que dividem em dois segmentos, ressaltando a Evapotranspiração (ET), demonstram que somente a água fresca é renovável. Na Tabela 1, os autores ressaltam a estimativa de ET apropriada para o uso da atividade humana, lembrando que a Produção Primária Líquida (NPP - net primary production) é de 40,6 bilhões de toneladas por metros cúbicos, mas que corresponde apenas 30% da total mundial.

A distribuição de água para os continentes é totalmente desigual, a Ásia com 60% de população contém 35% de água global de rios (Tabela 2).

Aproximadamente 16% das terras produtivas do mundo é irrigada para suplementar a chuva do local.

Na Tabela 3, mostrando a corrente de água dos grandes rios do mundo os autores ressaltam o nosso Rio Amazonas.

Na Tabela 4, os autores demonstram a estimativa global de água no consumo nas diversas atividades ressaltando a agricultura e as perdas desse precioso líquido. O consumo doméstico, a criação de gado, numa menor escala a

indústria, têm igualmente necessidade crescente de água. Os 'rios' são fontes abundantes e generosas de vida para uma população imensa de pessoas, animais e plantas, são os 'maiores ecossistemas de água doce' para a humanidade.

Os autores alertam claramente sobre os principais responsáveis da contaminação desses ecossistemas: despejos industriais, detritos de esgotos urbanos, contaminação pela agropecuária, principalmente agrotóxicos, fertilizantes e detritos animais. Alertam também, sobre as maiores poluições térmicas, as hidroelétricas.

Esta reportagem, trata-se de um assunto interessante, de grande importância, de alta preocupação para a humanidade - A 'água'. Contém informações valiosas, fornecem subsídios para a orientação e geração de pesquisas, para que num futuro bem próximo não tenhamos sérios conflitos da parte dos utilizadores dessa substância que é vida - a **ÁGUA**.

Trabalho indicado pelo Prof. Dr. Mário Benincasa.

SELEÇÃO DE CENOURA COM RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES DE GALHAS (*Meloidogyne* spp.)

Palavras-chave: cenoura (*Daucus carota*), seleção, resistência, *Meloidogyne* spp.

Key-words: carrot (*Daucus carota*), selection, resistance, *Meloidogyne* spp.

João M. Charchar

Jairo V. Vieira

Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças/EMBRAPA

C. Postal 0218

70359-970 Brasília - DF

RESUMO

Foram avaliadas 384 linhagens de cenoura quanto a resistência a nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.), em condições de campo naturalmente infestado. A infestação de campo foi mantida permanentemente com o plantio do quiabeiro cv. Santa Cruz inoculada com 1000 ovos e juvenis do segundo estágio (J2) da mistura populacional de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* por planta. Dois experimentos foram montados anualmente, compreendendo o período seco (maio a agosto) e chuvoso (janeiro a abril). O delineamento foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Cada linhagem foi casualizada em blocos com parcelas de 2m², composta de quatro linhas de 2m, 20 plantas/linha, espaçadas 0,25m entre si. Na parcela, cada fileira da linhagem foi alternada com uma fileira e uma variedade suscetível (Nantes ou Kuroda). A avaliação foi baseada na presença de galhas na raiz principal, raízes secundárias e prolongamento da raiz principal. Após quatro ciclos de seleção, foram obtidas seis linhagens com infecção variando entre 3,7 e 25,2%. Em uma segunda etapa de experimentos, foram selecionadas 27 linhagens com infecção entre 5,8 e 23,7%.

ABSTRACT

Screening of carrot for resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)

Carrot (384 lines) were tested for root-knot nematode resistance (*Meloidogyne* spp.) in a naturally infested field, maintained with the cultivation of okra cv. Santa Cruz 47. Each plant was inoculated with 1000 eggs and second stage juveniles (J2) of a mixture of *M. incognita* race 1 and *M. javanica*. Two experiments per year were carried out corresponding to the dry period (May to August) or to the rainy period (January to April). The experimental design was a completely randomized block with four replications and a check. Each line was randomized in blocks with plots of 2m² composed of four rows of 2m, each one 0,25m apart and 20 plants/row. In the plots, each row of the carrot lines was alternated with a row of the susceptible variety (Nantes or Kuroda). The evaluation was based on the presence of galls on the tap root, feeder roots and tap root extension. After four selection cycles six lines were selected with the root-knot nematode infection ranging from 3,7 to 25,2%. In a second step of experiments, 27 lines were selected with a nematode infection from 5,8 to 23,7%.

(Aceito para publicação em 30/09/94).

As mais importantes espécies de nematóides de galhas em cultivos de cenoura (*Daucus carota* L.) no Distrito Federal são *Meloidogyne incognita* spp (Kofoid & White) Chitwood, 1949 raça 1 e *M. javanica* (Treub) Chitwood, 1949, encontrados numa frequência aproximada de 47 e 40%, respectivamente (Charchar, 1988). A infecção por nematóides do gênero *Meloidogyne* em cenoura resulta em raízes bifurcadas, deformadas e com ramificações excessivas além da presença de galhas que comprometem a qualidade e o valor comercial do produto (Huang & Charchar 1982; Huang *et al.*, 1986). O controle de nematóides de galhas em solos infestados é essencial para uma produção comercial satisfatória de cenoura (Brzeski & Bujda, 1974; Huang, 1983; Santo *et al.*, 1988), pois mesmo com baixas infestações a produção pode ser comprometida em até 25% (Huang &

Charchar, 1982). Alguns produtos químicos foram utilizados para o controle de *Meloidogyne* spp. em cenoura (Riedel & Nickeson, 1974; Ikuta *et al.*, 1976; Myers, 1977; Vrain *et al.*, 1979; Vrain, 1982; Belair, 1984; Townshend, 1990). Entretanto, são altamente tóxicos e antieconômicos quando aplicados extensivamente, sendo que a maioria deles não estão disponíveis ou mesmo registrados para serem utilizados no cultivo da cenoura no Brasil e, portanto, não podem ser recomendados.

Variedades comerciais de cenoura têm sido continuamente avaliadas quanto à resistência ou tolerância a *M. hapla* em outros países (Clark, 1969; Brzeski & Bujda, 1974; Vrain & Barker, 1980; Yarger & Barker, 1981). No Brasil, a coleção de progênies e variedades comerciais de cenoura, pertencente ao CNPH/EMBRAPA, vem sendo avaliada desde 1978

F. Ch. de Pegina Ferro de Melo Nunes

Rev. João Carlos de Oliveira

quanto a resistência à *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* (Charchar *et al.*, 1982; Huang *et al.*, 1986; Charchar & Vieira, 1990; Charchar & Vieira, 1991). Tradicionalmente, a seleção é feita em casa-de-vegetação, o que na maioria das vezes demanda muito tempo em decorrência da limitação de espaço, principalmente na avaliação de um grande número de germoplasmas, que requer recipientes com grande capacidade de volume de solo para o desenvolvimento adequado das raízes.

O presente estudo teve como objetivo testar 384 genótipos de cenoura, em condições de campo naturalmente infestado, quanto a resistência à nematóides de galhas *M. incognita* raça 1 e *M. javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no campo experimental do Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças-CNPq/EMBRAPA, em latossolo vermelho escuro, com 12,5% de areia, 27% de silte, 60,5% de argila e pH 5,5.

Uma área medindo 20 x 100m foi cultivada permanentemente com quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) cv. Santa Cruz em espaçamento de 0,50 x 0,50m. Trinta dias após a germinação do quiabeiro, plântulas com 3 a 5 folhas foram inoculadas com 5 l da concentração contendo 1000 ovos e juvenis do segundo estágio (J2) de uma mistura, em partes iguais, de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*, para multiplicação e posterior uniformização da infestação dos inóculos na área. Noventa dias após, eliminou-se o quiabeiro pelo corte da parte aérea na região do colo da planta e, com auxílio de arado e grade, as raízes infectadas foram desenterradas e uniformemente incorporadas a uma profundidade de até 20 cm. Após estas operações, realizadas no horário mais fresco do dia, toda a área foi irrigada por aspersão, para evitar o dessecação excessivo do solo. Cinco dias após, parcelas medindo 1 x 2 m foram estabelecidas em blocos de 1 x 100 m em quatro repetições, com auxílio de encanteirador. Foi mantida uma distância de 0,50 m entre parcelas no bloco e 1 m entre blocos. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados.

Foram avaliadas 384 progênes de cenoura, sendo que 249 em uma primeira etapa de experimentos, em quatro ciclos de seleção, correspondendo aos anos de 1979 a 1982, e as 135 restantes em uma segunda etapa, em dois ciclos de seleção, nos anos de 1988 a 1990. Cada ciclo de seleção constou de dois experimentos anuais, sendo um no período seco (maio a agosto) e outro no chuvoso (janeiro a abril). Cada linhagem de cenoura testada foi casualizada em parcelas de 2 m² composta de quatro linhas de 2 m com 20 plantas por linha, espaçadas entre si por 0,25 m. Na parcela, cada fileira da linhagem foi alternada com uma fileira da cultivar suscetível Nantes, nos experimentos de época seca, e Kuroda, nos experimentos de época chuvosa, de modo que cada parcela ficou constituída de duas fileiras da linhagem em teste e duas fileiras da variedade suscetível, dispostas alternadamente. As cultivares suscetíveis foram utilizadas com o propósito de com-

paração e controle de infestação da área. Foram aplicadas 300g/m² de NPK 10-10-10, como adubo básico, e 80g/m² de NPK 10-10-10 em cobertura, 40 dias após a emergência e desbaste da cenoura. A irrigação adotada foi por aspersão.

Após a colheita (ciclo vegetativo de 110 dias), a avaliação da infecção de raízes comerciais foi baseada na presença de galhas na raiz principal, raízes secundárias e prologamento da raiz principal de cenoura, utilizando-se a escala com os seguintes graus de infecção: 0 = ausência de galhas; 1 = presença de uma galha; 2 = duas galhas; e 3 = mais de duas galhas. Após as avaliações, as raízes de cenoura foram classificadas em três categorias distintas: a) raiz comercial com galhas; b) raiz comercial sem galhas; e c) refugo. A percentagem de raízes comerciais com galhas foi determinada dividindo-se o valor correspondente ao peso de raízes comerciais com galhas pela produção total de raízes por parcela multiplicado por 100. A produção total de raízes comerciais por parcela, foi determinada pela somatória dos valores correspondentes aos pesos de raízes comerciais com galhas e sem galhas. Os níveis de infestação da mistura de espécies de nematóides no solo foram estimados após o plantio do quiabeiro e monitorados individualmente por parcela, pelo cálculo da percentagem de infecção de raízes nas cultivares suscetíveis Nantes ou Kuroda que serviram como indicadoras.

Para estimar os níveis de infecção das parcelas após o cultivo do quiabeiro, amostras de aproximadamente 2 kg de solo foram coletadas de pontos distintos, a uma profundidade de até 20 cm, e misturadas para fazer uma amostra composta. A extração dos nematóides foi feita pelos processos de flutuação, sedimentação e peneiramento (Flegg & Hooper, 1970), e flutuação por centrifuga em solução de açúcar (Jenkins, 1964), para clareamento das amostras e posterior contagem do número de juvenis do segundo estágio. O nível de infestação após o cultivo da cenoura foi monitorado através da cálculo da percentagem de infecção de raízes das cultivares suscetíveis, determinado da mesma maneira descrita para as linhagens de cenoura selecionadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A época seca (maio a agosto) foi inadequada para as avaliações de resistência em progênes de cenoura, em função da incidência de baixas temperaturas (Tabela 1), que proporcionaram o retardamento da reprodução, bem como indefinição na expressão de sintomas pelas espécies de nematóides, mesmo nas variedades suscetíveis. Devido à inconsistência dos dados obtidos, estes não foram considerados no presente trabalho. Já na época chuvosa (janeiro a abril), ocorreram temperaturas mais favoráveis (acima de 28°C) para infecção, desenvolvimento, reprodução e expressão de sintomas pelas espécies de nematóides (Tabela 1), sendo mais adequada para a avaliação da resistência.

Na primeira e segunda etapa de experimentos, o cultivo do quiabeiro por quatro meses antes do plantio resultou em infestação uniforme, com níveis elevados da mistura de espécies de *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* em toda a área,

Tabela 1 - Ciclos de seleção de cenoura para resistência à *Meloidogyne* spp. CNPH, Brasília-DF, 1991.



1	1979	249	51	13,0	21,0	19,0	28,0
2	1980	51	6	14,5	23,0	19,0	29,5
3	1981	6	6	14,0	21,5	19,0	29,0
4	1982	6	6	12,0	22,5	19,5	31,5
1	1989	135	27	13,5	24,0	18,0	29,5
2	1990	135	27	12,0	22,0	18,0	31,5

¹ Avaliações realizadas nos anos de 1979 a 1982 correspondentes a primeira etapa de experimentos e dos anos de 1989 e 1990 referentes à segunda etapa.

² Médias de temperaturas mínimas e máximas de solo coletadas a 20 cm de profundidade, com auxílio de termômetro automático (médias diárias de três repetições).

não havendo diferenças significativas entre os números de juvenis do segundo estágio (J2) extraídos do solo por parcela (Tabela 2 e 3).

Após o quarto ano de avaliação (quarto ciclo) das progênies de cenoura, na primeira etapa de experimentos, foi possível selecionar 6 entre as 249 testadas, com resistência tanto a *M. incognita* raça 1 quanto à *M. javanica*. As seis progênies foram selecionadas com graus de infecção entre 0

Tabela 2 - Avaliação final de seleção de progênies de cenoura com resistência à *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*, da primeira etapa de experimentos, na época chuvosa (janeiro a abril). CNPH, Brasília-DF, 1982.



CNPH-14	1410 a*	8,8 A a	3,2 B a	10,9 A c	95,2 B a
CNPH-12	1600 a	6,6 A a	3,2 A a	25,2 A a	96,6 B a
CNPH-12	1700 a	5,5 A bc	3,7 B a	14,5 A bc	98,6 B a
CNPH-12	1480 a	5,2 A bc	4,0 B a	8,9 A c	97,1 B a
CNPH-14	2160 a	4,6 A bc	4,4 A a	3,7 A c	98,3 B a
CNPH-13	1880 a	4,2 A c	4,1 A a	20,5 A ab	98,1 B a

* Os valores seguidos pela mesma minúscula na vertical e valores seguidos pela mesma letra maiúscula na horizontal não apresentam diferenças significativas pelo teste de Duncan ($P=0,05$), respectivamente. Os valores são médias de quatro repetições.

¹ Após o plantio com quiabo

(raízes isentas de galhas) e 2 (no máximo 2 galhas por raiz principal, raízes secundária e prolongamento da raiz principal). Progênies que apresentaram raízes com grau de infecção acima de 2 (mais de duas galhas) foram descartadas. Nesta etapa, as progênies CNPH 1437 e CNPH 1299 foram as mais produtivas entre as seis selecionadas, diferindo estatisticamente das demais; CNPH 1303 foi considerada como a menos produtiva entre as seis selecionadas, embora não tenha diferido estatisticamente das progênies CNPH 1216, 1285 e 1430 (Tabela 2). Não houve diferenças significativas entre as produtividades de "Kuroda" (susceptível), utilizada para comparação com as demais progênies. As produtividades das progênies CNPH 1437, 1299, 1216 e 1285 foram, em média, de 1,3 a 2,7 vezes superior e diferiram estatisticamente das produtividades de "Kuroda", enquanto que, nas mesmas condições, as produtividades médias das progênies CNPH 1430 e 1303 não diferiram e mantiveram o mesmo padrão de produtividade observado em "Kuroda". Com relação à percentagem de infecção de raízes comerciais pelos nematóides, verificou-se que as progênies CNPH 1299 e 1303 foram as mais suscetíveis, sendo que CNPH 1303 não diferiu estatisticamente de CNPH 1216. Não houve diferença significativa entre percentagens de infecção entre as demais progênies (CNPH 1437, 1216, 1285 e 1430), que tiveram percentagens de infecção de raízes comerciais variando entre 3,7 a 14,5% (Tabela 2). Não houve também diferenças significativas entre percentagens de infecção em "Kuroda", que teve aproximadamente 100% de suas raízes comerciais afetadas pelos nematóides. Estas diferiram estatisticamente das percentagens de infecção das progênies, onde foram observadas infecções pelos nematóides de no máximo 25,2% nas mesmas condições experimentais. A baixa produtividade de "Kuroda" deveu-se à grande incidência de raízes de tamanho reduzido, bifurcadas ou rachadas pela infecção dos nematóides, sendo então consideradas como refugos (Tabelas 2 e 3).

Na segunda etapa de experimentos não houve diferenças significativas entre produtividades das progênies, que variou entre 12,0-17,0 kg/2m² (Tabela 3). Nas mesmas condições experimentais, a produtividade mínima de "Kuroda" (3,1 kg/2m²) de raízes comerciais, diferiu estatisticamente da produtividade máxima (6,7 kg/2m²). Não houve diferenças entre as demais produtividades de "Kuroda". Porém, estas diferiram significativamente quando comparadas com as produtividades das progênies de cenoura selecionadas (Tabela 3). Entre as 135 progênies de cenoura testadas, selecionaram-se as 27 com percentagens de infecção de raízes comerciais entre 5,8 a 23,7%, com produtividades médias entre 12 a 17 kg/2 m². Foram descartadas aquelas com percentagens de infecção superior a 25,2%. As análises estatísticas indicaram diferenças entre as percentagens de infecção das progênies selecionadas com níveis de significância assim caracterizados: a) progênies com grau de resistência 1 - CNPH 4 e 147 (mais resistentes) com percentagens de infecção até 6,9%; b) progênies com resistência 2 - CNPH 196, 83, 130 e 132 (resistência média) com infecção entre 10,1 e 25,0%. A percentagem de infecção de raízes comerciais das progênies

Tabela 3 - Avaliação final de seleção de progênies de cenoura com resistência à *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*, da segunda etapa de experimentos, na época chuvosa (janeiro a abril). CNPH, Brasília-DF, 1990.

Progenies	Plantos	Resistência (%)	Resistência (%)	Resistência (%)	Resistência (%)
CNPH-4	1703 a*	17,0 A a	3,4 B ab	5,8 A f	100 B a
CNPH-147	1902 a	13,0 A a	5,8 B ab	6,7 A ef	100 B a
CNPH-196	2001 a	12,0 A a	6,2 B ab	8,3 A def	100 B a
CNPH-83	1601 a	12,1 A a	6,7 B a	9,1 A def	97 B a
CNPH-120	1723 a	14,9 A a	5,7 B ab	9,4 A def	98 B a
CNPH-132	1290 a	12,4 A a	6,2 B ab	9,7 A cdef	100 B a
CNPH-165	1360 a	12,4 A a	4,8 B ab	10,5 A bcdef	96 B a
CNPH-66	1400 a	13,3 A a	3,3 B ab	10,9 A abcdef	100 B a
CNPH-174	1703 a	12,8 A a	3,6 B ab	11,7 A abcdef	98 B a
CNPH-14	1703 a	12,1 A a	3,3 B ab	14,4 A abcdef	92 B a
CNPH-161	1800 a	13,1 A a	3,3 B ab	14,5 A abcdef	100 B a
CNPH-29	1920 a	14,2 A a	4,5 B ab	15,5 A abcdef	100 B a
CNPH-149	2023 a	14,2 A a	4,3 B ab	18,3 A abcde	100 B a
CNPH-71	1403 a	13,4 A a	4,2 B ab	19,0 A abcd	100 B a
CNPH-152	1600 a	12,3 A a	3,6 B ab	19,5 A abcd	100 B a
CNPH-108	1721 a	12,7 A a	3,1 b	19,7 A abcd	98 B a
CNPH-198	1346 a	13,1 A a	3,7 B ab	19,8 A abcd	97 B a
CNPH-197	1709 a	15,0 A a	4,2 B ab	20,0 A abcd	96 B a
CNPH-112	1300 a	14,8 A a	4,6 B ab	20,3 A abcd	100 B a
CNPH-34	1724 a	15,7 A a	4,7 B ab	20,4 A abcd	96 B a
CNPH-180	1907 a	14,8 A a	5,2 B ab	20,9 A abcd	100 B a
CNPH-93	1306 a	15,3 A a	4,7 B ab	22,2 A abc	92 B a
CNPH-7	1642 a	13,3 A a	5,8 B ab	22,6 A ab	100 B a
CNPH-49	1774 a	13,3 A a	5,1 B ab	22,6 A ab	100 B a
CNPH-91	1800 a	16,6 A a	3,8 B ab	22,9 A ab	100 B a
CNPH-120	1906 a	15,2 A a	4,2 B ab	23,0 A ab	100 B a
CNPH-119	1500 a	13,1 A a	4,1 B ab	23,7 A a	100 B a
Brasília	1810 a	16,8 A a	4,3 B ab	18,7 A abcde	100 B a

* Os valores seguidos pela mesma letra minúscula na vertical e valores seguidos pela mesma letra maiúscula na horizontal não apresentam diferenças significativas ($P=0,05$) pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), respectivamente. Os valores são médias de 2 repetições.

^a Após o plantio com quiabo

selecionadas, também não diferiram estatisticamente da percentagem de infecção da variedade comercial "Brasília" utilizada para comparação (Tabela 3). Não houve diferenças significativas entre percentagens de infecção da cultivar Kuroda, que variaram em média de 92 a 100%. Porém, diferiram significativamente quando comparadas com todas as progênies selecionadas com percentagens médias de infecção entre 5,8 a 23,7% (Tabela 3).

As progênies selecionadas com resistência à nematóides de galhas na primeira e segunda etapas de experimentos foram originadas de cruzamentos envolvendo populações brasileiras de cenoura 'Nacional' ou 'Tropical'. É possível que 'Brasília' e 'Nacional ou Tropical', com boa resistência, te-

tenham sido selecionadas em outros programas (Costa, 1974; Vieira *et al.*, 1983) sem que a resistência tenha sido caracterizada. A resistência à nematóides de galhas foi confirmada em "Brasília" e "Tropical" e reconfirmada na progênie CNPH 1437 por Huang *et al.* (1986), que observaram que estas possuem o mesmo grau de resistência. Progênies de cenoura originárias do mesmo programa de seleção foram reavaliadas para resistência à nematóides de galhas em Dinuba, Califórnia (EUA), e apresentaram o mesmo grau de resistência observados no Brasil (Roberts *et al.*, 1990).

A resistência à nematóides de galhas *Meloidogyne* spp. foi aditiva ao longo dos ciclos de seleção, e acumulou-se gradativamente através da seleção massal recorrente realiza-

da em cada ciclo de seleção. Estes podem ser considerados como testes de herdabilidade, que comprovam a dominância da resistência.

Não houve correlação entre produtividade e resistência a nematóides nas progênes selecionadas, (Tabela 2 e 3). As diferenças entre percentagens de infecção, indicam haver diferenças genotípicas entre progênes, o que facilita e viabiliza o desenvolvimento de um programa de melhoramento genético visando a obtenção de cultivares comerciais de cenoura com resistência a nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) de melhor adaptação às condições brasileiras. As progênes selecionadas apresentam diferentes grau de resistência a *M. incognita* raça I e *M. javanica*. Testes em casa-de-vegetação com as progênes CNPH 4, 147, 196 e 1437 indicaram também evidências de resistência a *M. arenaria*. Resistência a *M. hapla* não foi ainda confirmada, e testes adicionais de seleção de progênes com resistência a *M. hapla* estão em andamento no CNPH/EMBRAPA.

LITERATURA CITADA

- BELAIR, G. Nonfumigant nematicides for controle of northern root-knot nematode in muck-grown carrots. *Can. J. Plant Sci.*, v.64, p.175-179, 1984.
- BRZESKI, M.W. & BUJDA, Z. The northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla* Chitwood) on carrot, pathogenicity and control. *Zeszyty Problemowe Postepow Nak Plniczych NR*, v.154, p.159-172, 1974.
- CHARCHAR, J.M.; VIEIRA, J.V. & HUANG, C.S. Ciclos de seleção em cenoura para resistência a *Meloidogyne*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. 22. Vitória, ES. *Resumos...* Vitória, Sociedade de Olericultura do Brasil, p.216, 1982. (Resumo).
- CHARCHAR, J.M. & VIEIRA, J.V. Seleção de linhagens de cenoura para resistência a nematóides de galhas *Meloidogyne* spp. *Fitopatol. Bras.*, v.15, n.2, p.130, 1990.
- CHARCHAR, J.M. & VIEIRA, J.V. Metodologia para seleção de cenoura com resistência a nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) em condições de campo. *Fitopatol. Bras.*, v.16, n.2, p.22, 1991.
- CLARK, R.L. Resistance to northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla* Chitwood) in plant introduction. *FAO Plant Protection Bulletin*, v.17, n.136-137, 1969.
- COSTA, C.P. Cenoura "Nacional", um germoplasma para as condições de dias curtos nas regiões tropicais e subtropicais. *Revista de Olericultura*, v.16, p.30-31, 1974.
- FLEGG, J.J. & HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: J.F. SOUTHEY (ed.). *Laboratory Methods for Working With Plant and Soil Nematodes*. Tech. Bull. n° 2 of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, England, London, 148 p. 1970.
- HUANG, C.S. & CHARCHAR, J.M. Período de permanência de *Crotolaria spectabilis* no campo influenciando no controle de meloidoginose em cenoura. *Fitopatol. Bras.*, v.6, n.3, p.538-539, 1981.
- HUANG, C.S. & CHARCHAR, J.M. Preplanting inoculum densities of root-knot nematode related to carrot yield in greenhouse. *Plant Dis.*, v.66, n.11, p.1064-1066, 1982.
- HUANG, S.P. Inoculação artificial de *Meloidogyne javanica* em cenoura (*Daucus carota* L.). *Fitopatol. Bras.*, v.9, n.3, p. 642, 1983.
- HUANG, S.P.; DELLA VECCHIA, P.T. & FERREIRA, P.E. Varietal response and estimates of heritability of resistance to *Meloidogyne javanica* in carrots. *J. Nematol.*, v.18, n.4, p.406-501, 1986.
- IKUTA, H.; LORDELLO, L.G.E. & OGAWA, T. Nota sobre o controle químico do nematóide *Meloidogyne javanica* em cultura de cenoura. *O Solo*, v.68, n.1, p.32-34, 1976.
- JENKIS, W.R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematode from soil. *Plant Dis. Rep.*, v.48, p.62, 1964.
- MYERS, R.F. Control of nematodes on fresh market carrots. *Fungicide and Nematicide Tests*, v.33, p.344, 1977.
- RIEDEL, R.M. & NICKESON, R.L. Control of root-knot nematode *Meloidogyne hapla*, on carrot (*Daucus carota*). *Fungicide and Nematicide Tests*, v.30, p.285, 1974.
- ROBERTS, P.A.; OMWEGA, C.O. & SIMON, P.W. Identification of gene sources for resistance to root-knot nematodes attacking carrots in California (ROB-90). In: *Annual Research Report to California Fresh Carrot Advisory Board - April 1990 to March 1991*, 1990. Dinuba, California, p.44-50.
- SANTO, G.S.; MOJTAHEDI, H. & WILSON, H. Host-parasite relationship of carrot cultivars and *Meloidogyne chitwood* races and *M. hapla*. *J. Nematol.*, v.20, n.4, p.555-564, 1988.
- TOWNSHEND, J.L. Growth of carrot and tomato from oxamyl-coated and control of *Meloidogyne hapla*. *J. Nematol.*, v.22, n.2, p.170-175, 1990.
- VIEIRA, J.V.; DELLA VECCHIA, P.T. & IKUTA, H. Cenoura "Brasília". *Hort. Bras.*, v.1, n.2, p.42, 1983.
- VRAIN, T.C. Relationship between *Meloidogyne hapla* density and damage to carrots in organic soils. *J. Nematol.*, v.14, n.1, p.50-57, 1982.
- VRAIN, T.C. & BARKER, K.R. Reaction of hybrid carrot cultivars to *Meloidogyne hapla*. *Can. J. Plant Pathol.*, v.2, p.163-168, 1980.
- VRAIN, T.C.; BELARI, G. & MARTEL, P. Nonfumigant nematicide for control of root-knot nematode to protect carrot root growth in organic soils. *J. Nematol.*, v.11, n.4, p.328-333, 1979.
- YARGER, L.W. & BARKER, K.R. Tolerance of carrot to *Meloidogyne hapla*. *Plant Dis.*, v.65, p.337-339, 1981.

Quelques jours
De: Kazuio Nakamura

CONTROLE DO MAL-DE-SIGATOKA EM BANANEIRA DA CV. PRATA COM TRIADIMENOL VIA SOLO EM FUNÇÃO DA INCIDÊNCIA DA DOENÇA

J.A. VENTURA¹; J.R. GALINDO ALVAREZ²; L. ZAMBOLIM³ & F.X. RIBEIRO DO VALE³

¹EMCAPA, Caixa Postal 391, 29010-901, Vitória, ES. ²ICA, San. Vegetal, A.A. 7894, Bogotá, Colômbia;

³Depto. de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570, Viçosa-MG.

(Aceito para publicação em 30/05/94)

VENTURA, J.A.; GALINDO ALVAREZ, J.R.; ZAMBOLIM, L. & RIBEIRO DO VALE, F.X. Controle do Mal-de-Sigatoka em bananeiras da cv. prata, com triadimenol via solo em função da incidência da doença. Fitopatol. bras. 19: 370-376. 1994.

RESUMO

Foi estudado o controle químico do Mal-de-Sigatoka, com o fungicida triadimenol em formulação granulada, aplicado via solo, na dose de 0,75g p.a. por touceira, seguindo um cronograma de aplicações com base na incidência da doença a nível da 5ª e 7ª folha respectivamente, e em época coincidente com os meses de chuva. A eficiência do controle da doença foi determinada pela Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), a posição da Primeira Folha Necrosada (PFN), a produção em peso do cacho e o número de pencas comerciais.

Os menores valores da AACPD e maiores números da PFN foram obtidos nos tratamentos com três ou mais

aplicações do fungicida. Estes tratamentos foram os que apresentaram também as melhores produções em peso do cacho e número de pencas comerciais.

A eficiência do fungicida triadimenol, via solo, para o controle da doença, sugere que, nas condições de Viçosa, o mesmo seja aplicado em três vezes nos meses de outubro, janeiro e março ou de acordo com a PFN.

A emissão de folhas não foi afetada pela aplicação do fungicida em nenhum dos tratamentos, evidenciando não haver aparentemente efeito fitotóxico do produto para a planta.

Palavras chave: Bananeira, Mal-de-Sigatoka, Controle, *Mycosphaerella musicola*, Triadimenol.

ABSTRACT

Control of the Sigatoka disease of banana cv. Prata (AAB) with Triadimenol via soil according to the level of the disease.

The objective of this experiment was to evaluate the efficiency of granulated triadimenol formulation at 0.75 g of a.i. per mat applied to the root zone, based on the incidence of the disease on the fifth and seventh leaf with pre-determined schedule during the rainy season on the control of Sigatoka disease of banana cv. Prata (AAB). The efficiency of disease control was measured using Area Under Disease Progress Curve (AUDPC), position of the Youngest Spotted Leaf (YSL), weight of bunch, and the number of commercial hands.

The disease was controlled efficiently when triadimenol was applied more than three times during the rainy season. The best weight of the bunch and the number of commercial hands were obtained also with these treatments. These results suggest that the disease can be controlled efficiently with triadimenol applied to the soil three times: in October, January and March, or based on the incidence of the disease on the youngest spotted leaf. There was not any evidence of phytotoxicity of the fungicide on the plants, even with six applications.

INTRODUÇÃO

Dentre as doenças da bananeira, uma das mais prejudiciais, economicamente, e que afeta a produção com perdas que podem ser superiores a 50% é o Mal-de-Sigatoka, causado pelo fungo *Mycosphaerella musicola* (Leach.) Mulder, sendo *Pseudocercospora musae* (Zim.) Deighton, o seu estágio anamórfico (Deighton, 1976; Martinez, 1973; Meredith, 1970 e Stover, 1972).

O controle do Mal-de-Sigatoka no mundo é feito basicamente de três formas: uso de cultivares resistentes; (Bendezú *et al.*, 1986; Pardo, 1987; Nobrega *et al.*, 1988); emprego de produtos químicos e pela integração das duas medidas anteriores completadas com a utilização de técnicas incorporadas às práticas culturais adequadas (Meredith, 1970; Stover, 1972).

Entretanto, a medida de controle mais recomendada para o Mal-de-Sigatoka é a pulverização sistemática com diferentes formulações de fungicidas e óleo agrícola (Stover, 1972). Esta prática, usada em plantações extensivas, é difícil de ser adotada pelos pequenos produtores, em regiões onde a topografia não possibilita a utilização de tecnologias e equipamentos adequados para o controle da doença (Ventura, 1984; Moulion & Fouré, 1988).

O uso de fungicidas sistêmicos misturados com óleo teve início em 1970, quando os produtos, à base de tiabendazol foram empregados pela primeira vez no controle do Mal-de-Sigatoka, sem causarem fitotoxicidade nas plantas (Pons, 1987). O número de aplicações de fungicidas pode variar de 15 a 30 por ano, de acordo com as condições climáticas da região e níveis da doença (Pons, 1987).

A ocorrência de resistência em condições de campo do agente etiológico do Mal-de-Sigatoka aos fungicidas do grupo dos benzimidazóis tem levado os pesquisadores a desenvolverem pesquisas com outros compostos (Beugnon *et al.*, 1982 Bureau *et al.*, 1982; Laville, 1983; Pons, 1987; Stover, 1979).

Na procura de novas moléculas efetivas para o controle do Mal-de-Sigatoka, tem-se destacado o triadimenol que é um fungicida sistêmico do grupo dos triazóis (Oliveira *et al.*, 1989; Mourichon, 1982; Laville, 1984; Fouré, 1984, 1988; Martinez & Yamashiro, 1989; Moulion & Fouré, 1988; Ventura *et al.*, 1988).

Moulion & Fouré (1988) determinaram que o triadimenol aplicado no solo em forma de grânulos ao redor do pseudo-caule demonstrou boa eficiência no controle de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da Sigatoka-negra. Três aplicações no ano, nas condições da República de Camarões, foram suficientes para o controle da doença em bananeira do Grupo AAB, subgrupo terra, cultivadas sem a utilização das técnicas empregadas nos bananeais com a produção destinada para exportação.

No Brasil, Ventura *et al.*, (1988) encontraram resultados altamente promissores avaliando o efeito de triadimenol em plantas da cv. Prata, nas doses de 1,0 e 2,0 g p.a./touceira, não havendo em certas épocas do ano, diferença significativa entre as doses testadas. Eficiência equivalente foi obtida por Martinez & Yamashiro (1989),

em bananeiras da cv. Nanica (AAA), com o triadimenol na dose de 0,75g de i.a. por planta, aplicado em 3 vezes de novembro a março.

Pesquisas recentes têm demonstrado que o conhecimento epidemiológico da doença possibilita a adoção de sistemas racionais da aplicação dos fungicidas na época adequada, o que contribui para diminuir consideravelmente os custos de produção devido a redução do número de aplicações, (Ganry & Laville, 1983; Martinez, 1973; Ventura, 1984).

Vários modelos para a previsão do Mal-de-Sigatoka em bananeiras da cv. Prata foram testados no Estado do Espírito Santo, sugerindo que o controle da doença deveria ter início nos meses de agosto ou setembro em função das condições climáticas e da sua evolução (Ventura, 1984). Entretanto, torna-se necessário a avaliação dos modelos propostos em outras regiões visando sua comprovação, bem como a eficiência do triadimenol via solo, no controle da doença.

No presente trabalho procurou-se estudar a eficiência do fungicida triadimenol no controle do Mal-de-Sigatoka em bananeira da cv. Prata quando aplicado via solo, com diferentes frequências de aplicação, previamente definidas, por variáveis climáticas e epidemiológicas e com base na incidência da doença na planta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em um bananal da cv. Prata (AAB), com aproximadamente 4 anos de idade, localizado no Município de Viçosa, MG. Para controle da doença foi usado o fungicida sistêmico triadimenol (Bayfidan 10 G) pertencente ao grupo dos triazóis. O fungicida foi aplicado via solo, a 50 cm aproximadamente ao redor da touceira e incorporado entre 5 e 10 cm de profundidade, na dose de 0,75 g p.a. por touceira, utilizada com base nos resultados dos experimentos desenvolvidos por Ventura *et al.*, (1988); Martinez & Yamashiro (1989) e Oliveira *et al.*, (1989). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições, utilizando-se 10 plantas por parcela. As aplicações do fungicida foram estabelecidas pela severidade da doença e condições climáticas, tendo como base dados de valores da soma de velocidade de desenvolvimento diário do patógeno obtidos pela temperatura máxima e mínima diária, determinada por Ventura (1984). Ainda com base nestes resultados foi programado um calendário das aplicações feitas nas plantas mães e no primeiro seguidor (planta filha), corrigido pelos dados climáticos de Viçosa.

Os sete tratamentos aplicados na primeira geração foram: 1. testemunha (sem controle); 2. aplicado somente quando houve necrose a nível da 5ª folha determinada pela PFN; 3. aplicado em novembro (uma vez); 4. aplicado em fevereiro (uma vez); 5. aplicado em novembro e em abril (duas vezes); 6. aplicado em novembro, fevereiro e abril (três vezes); 7. aplicado somente quando houve necrose na 7ª folha determinada pela PFN.

Na segunda geração as aplicações foram feitas de acordo com o seguinte programa: 1. testemunha (sem

controle); 2. aplicado somente quando houve necrose a nível da 5ª folha; determinada pela PFN; 3. aplicado em fim de outubro (uma vez); 4. aplicado em janeiro (uma vez); 5. aplicado em outubro e em março (duas vezes); 6. aplicado em outubro, janeiro e março (três vezes); 7. aplicado somente quando houve necrose na 7ª folha determinada pela PFN.

Na avaliação dos tratamentos foram utilizados, como parâmetros quantitativos de produção, o peso do cacho (kg), o número de pencas comerciais avaliadas em duas gerações de plantas nas mesmas touceiras (planta mãe e filha), sendo consideradas pencas não comerciais aquelas em que as bananas não atingiram 5cm de comprimento. Também foi determinado o efeito dos tratamentos sobre a severidade da doença na 5ª folha (SDQF) e a severidade média na 5ª 6ª e 7ª folha (SDQSSF). Estes valores serviram de base para o cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), obtida pela equação proposta por Shaner & Finney (1977), calculada pelo programa AVACPD (Torres & Ventura, 1991).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), obtidos para a severidade da doença na 5ª folha, os tratamentos com três, cinco e seis aplicações foram os que apresentaram a menor área nas duas gerações avaliadas, não diferindo entre si (Tabela 1).

Pela comparação das médias nas duas gerações (mãe e filha), pode-se admitir que os tratamentos apresentaram resultados similares sobre a severidade da doença, sendo que qualquer dos dois calendários de aplicações testados para o tratamento com três aplicações do produto, pode ser tomado como base para o controle da doença (Tabela 1).

Através das observações feitas a intervalos de quinze dias, determinou-se que a tendência do comportamento da AACPD foi similar nos tratamentos monitorados pela posição da PFN na 5ª e 7ª folha, respectivamente, e o tratamento com apenas três aplicações, em novembro, janeiro e abril.

Os valores da AACPD, para a severidade média do Mal-de-Sigatoka na 5ª, 6ª, e 7ª folhas, das plantas mãe e filha são apresentados na Tabela 2. A severidade média da doença nestas folhas, tanto na planta mãe como na planta filha, foi menor nos tratamentos efetuados com a presença da doença a nível da 5ª e 7ª folha, onde o fungicida foi aplicado cinco e seis vezes, respectivamente. O tratamento que recebeu três aplicações do fungicida, apresentou a AACPD maior na planta filha, do que os tratamentos com cinco e seis aplicações de acordo com a posição da PFN na 5ª e 7ª folha respectivamente. Os tratamentos nos quais o fungicida foi aplicado apenas uma vez, apresentaram médias iguais à AACPD da testemunha (Tabela 2).

Posição da Primeira Folha Necrosada

A posição da PFN contada em sentido descendente na planta, apresentou valores mais elevados nos tratamentos que receberam cinco e seis aplicações do

TABELA 1 - Valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) obtidos na 5ª folha das plantas de Bananeira cv. Prata com Diferentes Tratamentos de Triadimenol, Via Solo, para o controle do Mal-de-Sigatoka.

Nº Aplicações (Triadimenol)	AACPD	
	Mãe	Filha
Três vezes ¹	7244,28a ²	12817,01a
Aplicado quando houve necrose a nível da 5ª folha (5 vezes)	7294,69a	12171,16a
Aplicado quando houve necrose a nível da 7ª folha (6 vezes)	7351,15a	12040,68a
Testemunha (sem aplicação)	8842,60 b	15037,01 b
Uma vez ³	8845,93 b	14874,01 b
Duas vezes ⁴	8999,74 b	15133,01 b
Uma vez ⁵	9060,93 b	15571,20 b

¹ Aplicado em novembro, fevereiro e abril na planta mãe e em outubro, janeiro e março na planta filha.

² Médias de 4 repetições. Médias seguidas pelas mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

³ Aplicado em novembro na planta mãe e em outubro na filha.

⁴ Aplicado em novembro e abril na planta mãe e em outubro e março na filha

⁵ Aplicado em fevereiro na planta mãe e em janeiro na filha.

TABELA 2 - Valores de Área abaixo da Curva de Progresso da Doenças (AACPD) obtidos pela Severidade do Mal-de-Sigatoka na 5ª, 6ª, 7ª folhas de bananeira da cv. Prata, com Diferentes Tratamentos de Triadimenol, Via Solo.

Nº aplicações (Triadimenol)	AACPD (5ª, 6ª e 7ª Folha)	
	Mãe	Filha
Uma vez ¹	10241,6a ²	16976,5a
Duas vezes ³	10236,8a	16857,1a
Testemunha (sem aplicação)	10165,3a	16672,4 b
Uma vez ⁴	10043,9 b	16630,8 b
Aplicado três vezes ⁵	8401,5 c	14630,2 c
Aplicado quando houve necrose a nível da 5ª folha	8242,7 d	14219,0 d
Aplicado quando houve necrose a nível da 7ª folha	8246,6 d	14077,5 d

¹ Aplicado em fevereiro na planta mãe e em janeiro na filha.

² Médias de quatro repetições. Médias seguidas pelas mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

³ Aplicado em novembro e abril na planta mãe e em outubro e março na filha.

⁴ Aplicado em novembro na planta mãe e em outubro na filha.

⁵ Aplicado em novembro, fevereiro e abril na planta mãe e em outubro, janeiro e março na planta filha.

fungicida de acordo com a posição da doença na 5ª e 7ª folhas, respectivamente e no tratamento aplicado por três vezes, com valores médios variando de 4,5 a 5,0, sendo os maiores valores obtidos após três aplicações do fungicida. Constatou-se que houve uma redução da doença com a aplicação do fungicida em todos os tratamentos, sendo relevante observar que só foi possível manter a doença em níveis baixos nos tratamentos que receberam respectivamente três, cinco e seis aplicações do fungicida.

Os tratamentos em que foi aplicado o triadimenol uma vez, no mês de novembro, na planta mãe e em outubro na filha, e o tratamento em que o fungicida foi aplicado apenas uma vez em fevereiro na planta mãe e em janeiro na filha, apresentaram, um mês após a aplicação, aumento no valor da PFN; posteriormente, a posição da PFN decresceu, ficando igual à testemunha durante o resto do período vegetativo. Esses resultados mostram que uma só aplicação de triadimenol no solo não é suficiente para o controle da doença.

O tratamento com duas aplicações apresentou a mesma tendência dos tratamentos que receberam uma aplicação só. Para cada aplicação do fungicida, a posição da PFN aumentou decrescendo posteriormente até obter comportamento igual à testemunha (sem fungicida).

A utilização da PFN foi um método recomendado por Ventura (1984), para o controle do Mal-de-Sigatoka em bananeira da cv. Prata. No entanto, sugere que os valores devem ser melhor ajustados para a utilização em diferentes regiões produtoras de bananeira 'Prata'. Este método, proposto inicialmente por Stover (1972), para a execução dos programas de controle da doença em bananeiras do grupo AAA na América Central, mostrou-se prático e de fácil aplicação.

Ventura *et al.*, (1983), para a bananeira "Prata", grupo AAB, não encontraram diferença na produção quando a doença ocorria acima da 5ª ou 6ª folha, sendo esses resultados semelhantes aos obtidos neste experimento, onde as plantas com a doença acima da 5ª folha apresentaram produções iguais (Tabela 3). No tratamento onde foi aplicado o fungicida três vezes, a PFN esteve em torno da 5ª folha, após a aplicação do fungicida.

Nas condições do experimento, o maior valor da PFN foi obtido pelos tratamentos com três ou mais aplicações do fungicida refletido na melhor produção. Os tratamentos com valores da PFN abaixo de 4,3 resultaram em menor peso do cacho.

Stover (1972) determinou, para as cvs, do subgrupo Cavendish (*Musa* AAA), a 7ª folha como limiar econômico para se obterem cachos de qualidade comercial. Estes valores são diferentes dos determinados para a cv. Prata, tanto neste trabalho, quanto nos dos outros autores citados, possivelmente em função do maior peso do cacho nas cvs. do subgrupo Cavendish.

Emissão de Folhas

Não se observou diferença na emissão de folhas entre os diferentes tratamentos, tanto na fase de avaliação das plantas mães, quanto nas filhas. O número total de folhas emitidas foi em média de 29 folhas/planta. Este número

total não difere do número total esperado para variedades de porte alto, do grupo AAB, que segundo Soto (1985), varia entre 25 e 35 folhas por ciclo vegetativo. Champion (1969) afirma que as bananas do grupo AAB (*Plantain*), antes da floração, emitem entre 25 a 30 folhas funcionais.

A taxa de emissão de folhas, em ambas as gerações, foi menor nos meses de seca e/ou com temperatura baixas, tendo início a menor emissão no final do mês de abril e aumentando o ritmo de emissão no final de outubro. Comportamento semelhante ao obtido no presente trabalho foi relatado por Allen *et al.*, (1988); Aubert (1973), Martinez (1973) e Mayorca (1983).

Pelos resultados da emissão de folhas nos diferentes tratamentos nas duas gerações, em comparação com a testemunha (sem fungicida), conclui-se que os tratamentos com triadimenol não afetaram a taxa de emissão foliar.

Efeito dos Tratamentos na Produção

Os resultados da produção foram avaliados separadamente para cada geração de plantas, determinado-se o peso do cacho, e número de pencas comerciais.

Peso do Cacho da Planta Mãe: A colheita da planta mãe foi efetuada em média oito meses após a instalação do experimento e em média 126 dias após a emissão da inflorescência. Este intervalo médio foi obtido em todas as plantas tratadas com fungicidas e na testemunha (sem fungicida), verificando-se que não houve efeito do fungicida no intervalo em dias entre a emissão da inflorescência e a colheita.

A produção do primeiro ciclo (planta mãe) nas parcelas tratadas com triadimenol quando houve necrose a nível da 5ª e 7ª folha e quando o tratamento foi aplicado três vezes durante o ano, apresentaram produção superior aos demais, sendo as médias desses três tratamentos iguais (Tabela 3).

A produção do tratamento que recebeu a aplicação do fungicida duas vezes em novembro e abril e dos tratamentos que receberam uma aplicação em novembro ou fevereiro, respectivamente, bem como da testemunha (sem fungicida) não diferiram entre si (Tabela 5).

Verificou-se que a maior produção relacionou-se diretamente com o menor valor encontrado para a AACPD, isto porque a planta, ao apresentar maior área foliar necrosada, tem menor capacidade fotossintetizadora e, conseqüentemente, a fotoassimilação é reduzida, produzindo frutos de menor tamanho e peso (Champion, 1969 e Soto, 1985).

A perda referente ao peso do cacho na testemunha comparada ao tratamento com três aplicações foi de 59%. O tratamento que recebeu três aplicações, em novembro, fevereiro e abril, foi o que melhor resultado apresentou, tendo em vista que, nos tratamentos onde o fungicida foi aplicado cinco e seis vezes, de acordo com a presença de necrose na 5ª e 7ª folhas, as médias foram iguais ao tratamento com três aplicações. O rendimento dos tratamentos realizadas de acordo com a posição da PFN, 5ª e 7ª a folha, respectivamente, foi considerada excelente, mas teve um maior número de aplicações do fungicida.

TABELA 3 - Produção Obtida pelo Peso do Cacho de Bananeira da cv Prata nos Diferentes Tratamentos com Triadimenol, Via Solo, para o controle do Mal-de-Sigatoka.

Nº Aplicações (Triadimenol)	Produção (kg) ¹		% de Aumento em Relação à testemunha	
	Mãe	Filha	Mãe	Filha
Aplicado quando houve necrose a nível da 7ª folha (seis vezes)	7,88a ¹	8,52a	74,3	102,8
Aplicado quando houve necrose a nível da 5ª folha (cinco vezes)	7,87a	7,90a	74,0	88,1
Três vezes ²	7,19a	8,05a	59,0	91,6
Duas vezes ³	5,65 b	5,77 b	25,0	37,3
Uma vez ⁴	4,77 b	4,95 bc	5,5	17,8
Uma vez ⁵	4,54 b	4,63 c	0,4	10,2
Testemunha (sem fungicida)	4,52 b	4,20 c	0,0	0,0

¹ Médias de quatro repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Aplicado em novembro, fevereiro e abril na planta mãe e em outubro, janeiro e março na filha.

³ Aplicado em novembro e abril na planta mãe e em outubro e março na filha.

⁴ Aplicado em fevereiro na planta mãe e em janeiro na filha.

⁵ Aplicado em novembro na planta mãe e em outubro na filha.

O tratamento com três aplicações do fungicida teve a primeira aplicação coincidindo com o início das chuvas, o que parece ter favorecido a absorção do fungicida.

Peso do Cacho na Planta Filha: A produção da planta filha, foi efetuada nos meses de maio a junho de 1990, sendo os cachos colhidos em média com 124 dias após a floração. Não foi observado efeitos dos tratamentos no intervalo de tempo entre a inflorescência e a colheita.

A maior produção foi obtida nos tratamentos, com três aplicações do fungicida, e dos efetuados sempre que houve doença a nível da 5ª folha e na 7ª folha. A produção dos tratamentos com uma e duas aplicações do fungicida foi menor do que a dos tratamentos com aplicações de acordo com a posição da PFN, e do tratamento com três aplicações, em outubro, janeiro e março, mas foi maior que a do tratamento com uma única aplicação em outubro, e do que a do tratamento sem fungicida (Tabela 3).

Pelo número de aplicações do fungicida verificou-se que o tratamento com três aplicações feitas em outubro, janeiro e março apresentou desempenho igual ao dos tratamentos efetuados de acordo com a posição da PFN, considerando-se como uma boa alternativa para o controle do Mal-de-Sigatoka. A perda da produção da testemunha foi de 91,6% em comparação com este tratamento (Tabela 3).

A média de produção dos cachos nos três melhores tratamentos encontra-se acima da média do peso do cacho da cv. Prata, estimada na faixa de 7,5 kg.

Produção de Pencas Comerciais

Planta Mãe: O controle do Mal-de-Sigatoka com o fungicida triadimenol aplicado via solo, com três aplicações e/ou de acordo com a PFN possibilitou o aumento no número de pencas comerciais (Tabela 4).

Os tratamentos que receberam seis e cinco aplicações do fungicida, de acordo com PFN e o tratamento com três

aplicações em novembro, fevereiro e abril, apresentaram o maior número de pencas comerciais.

O tratamento com duas aplicações do fungicida em novembro e abril, e o tratamento aplicado uma vez em fevereiro, tiveram médias do número de pencas comerciais iguais. Este comportamento pode ser atribuído à época de aplicação do fungicida, pois a segunda aplicação do tratamento que recebeu duas aplicações coincidiu com a

TABELA 4 - Produção de Pencas Comerciais em Bananeiras da cv. Prata, Submetidas a Diferentes Tratamentos de Triadimenol para o controle do Mal-de-Sigatoka

Nº Aplicações (Triadimenol)	Pencas Comerciais (nº)	
	Mãe	Filha
Aplicado quando houve necrose a nível da 7ª folha (seis vezes)	77,25a ¹	77,50a
Aplicado quando houve necrose a nível da 5ª folha (cinco vezes)	74,00a	78,00a
Três vezes ²	68,00a	72,25a
Duas vezes ³	49,50 b	50,75 b
Uma vez ⁴	41,25 bc	37,00 c
Uma vez ⁵	36,75 c	35,50 c
Testemunha (sem aplicação)	35,00 c	32,25 c

¹ Médias de quatro repetições. Médias seguidas pelas mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Aplicado em novembro, fevereiro e abril na planta mãe e em outubro, janeiro e março na planta filha.

³ Aplicado em novembro e abril na planta mãe e em outubro e março na filha.

⁴ Aplicado em fevereiro na planta mãe e em janeiro na filha.

⁵ Aplicado em novembro na planta mãe e em outubro na filha.

aplicação efetuada em fevereiro, próximo à época de enchimento dos cachos. Entretanto, o tratamento que também foi aplicado uma única vez em novembro, apresentou uma média menor do que os outros tratamentos e igual à da testemunha.

Como o rendimento é função direta da área foliar que determina a taxa assimiladora líquida, pode-se admitir que a maior disponibilidade de área fotossintética na época de enchimento dos frutos no cacho provoca um efeito favorável que resulta em maior número de pencas comerciais.

Planta Filha: A produção de pencas comerciais na planta filha apresentou um comportamento similar ao obtido para a planta mãe (Tabela 4). A média de pencas comerciais dos melhores tratamentos foi de 7,8 pencas/cacho, sendo considerada alta, quando comparada com a média normalmente obtida na cultivar que é em torno de seis pencas/cacho. As médias do tratamento com aplicações em outubro e março na planta filha foi considerada regular, podendo ser atribuído este comportamento ao possível efeito residual do triadimenol nos dois ciclos.

A boa performance dos melhores tratamentos mostra que o controle com três aplicações de fungicidas pode ser recomendado em virtude de apresentar resultados idênticos em produção e qualidade, aos obtidos com maior número de aplicações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, R.N.; DETTMANN BELINDA, E.; JOHNS, G.C. & TURNER, D.W. Estimation of leaf emergence rates of banana. *Australian Journal Agricultural* 39:53-62. 1988.
- AUBERT, B. Particularités anatomiques liés au comportement hydrique des bananeiers. *Fruits* 28(9): 589-604. 1973.
- BENDEZÚ, J. M.; RAMIRÉZ R; SILVA, C. & GODINHO, F. de P. Cultivares de bananeiras. *Informe Agropecuário* 12(133):8-10. 1986.
- BEUGNON, M.; BUREU, E.; FOURE, E.; GANRY, J.; LACHENAUD, J. L.; MALLESSARD, R.; MELIN, P.H.; MOURICHON, X.; MONTCEL, H.T. du & LAVILLE, E. Les cercosporiosis du bananier et leurs traitements. Situation de molécules fongicides nouvelles. *Fruits* 37(11):673-697. 1982.
- BUREAU, E.; GANRY, J.; ZAPATER, M.F. & LAVILLE, E. Les Cercosporiosis du bananier et leurs traitements, évolution des populations. *Fruits* 37(11): 665-672. 1982.
- CHAMPION, J. El Plátano. Blume, Madrid. 1969. 247p.
- DEIGHTON, F.C. Studies on *Cercospora* and allied genera. VI *Pseudocercospora* Speg; *Pantospora* Cif and *Cercoseptoria* Petn., Surrey. CMI. 1976. 168p. (Mycological papers, 140).
- FOURÉ, E. Activités comparées de différentes molécules sur *Mycosphaerella fijiensis*. MORELET. Agent de la maladie des raies noires des bananiers et des plantains au Gabon. *Fruits* 39(7-8): 427-440. 1984.
- FOURÉ, E. Les cercosporiosis du bananier et leurs traitements, efficacités comparées du Pyrazophos e du Triadimenol sur *Mycosphaerella fijiensis* MORELET. Agent de la cercosporiose noire des bananiers et des plantains au Cameroun lors de traitements sur grandes surfaces. *Fruits* 43(3): 143-147. 1988.
- GANRY, J. & LAVILLE, E. Les cercosporioses du bananier et leur traitements evolución des metodes de traitement. *Fruits* 38(1): 3-20. 1983.
- LAVILLE, E. Evolutions des populations patogens. *Fruits* 38(2): 129-133. 1983.
- LAVILLE, E. Les Cercosporiosis du bananier et leurs traitements, evalutions et perspectives. *Fruits* 39(3): 160-164. 1984.
- MARTINEZ, J.A. Epidemiologia do agente causal do Mal-de-Sigatoka, (*Mycosphaerella musicola*) LEACH. na região produtora de banana do Estado de São Paulo, e sua importância no desenvolvimento e intensidade da doença. Botucatu, SP, FCMBB, 1973. 47p. (tese de doutorado).
- MARTINEZ, J.A. & YAMASHIRO, T. Novas técnicas de aplicação de defensivos utilizados no controle do patógeno causador da Sigatoka amarela da bananeira. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 10., Fortaleza-CE, SBF. Anais. Fortaleza-CE, 1989. p. 41-47.
- MAYORCA, M. Ciclo de vida de la *Mycosphaerella* en la zona de Uraba. In: Seminário Internacional de Plantano, 1, Manizales, Colômbia, 1983. Memórias. Manizales, Colômbia, Universidade Caldas, 1983. p.35-37.
- MEREDITH, M.A. Banana leaf spot disease (Sigatoka) caused by *Mycosphaerella musicola*. LEACH. Surrey, C.M. I, 1970. 147p. (Phytopathological Papers nº 11).
- MOULION, P.A. & FOURÉ, E. Efficacités comparées de diferentes formulations de triadimenol appliquées au sol sur *Mycosphaerella fijiensis*. MORELET. (Agent de la Cercosporiose noire des bananiers et des plantains au Cameroun lors de traitements sur grandes surfaces. *Fruits* 43(3): 201-209. 1988.
- MOURICHON, X. Efficacité du Bayleton 1 Gr sur l'évolution de la cercosporiose du bananier em Côte d'Ivoire. *Fruits* 37(5): 291-293. 1982.
- NOBREGA, A.C.; VENTURA, J.A.; GOMES, J.A. ARLEU, R.J. Banana "Mysore", Uma Alternativa para o Agricultor Capixaba. EMCAPA. Vitória-ES. Julho/1988. (Documento nº 49).
- OLIVEIRA, G. A. H. de; VENTURA, J. A. & ZUPPI, M. Eficiência de diferentes formulações de triadimenol aplicado no solo sobre o controle do Mal-de-Sigatoka da bananeira. *Fitopatol. bras.* 14(2): 144. 1989.
- PARDO, E.P. Variedad "Pelipita: alternativa para el pequeño agricultor. ICA-Infoma 21(3): 33. 1987.
- PONS, S. Breve cronologia del control de las Sigatokas. UPEB. Informe mensual 11(83): 29-43. 1987.
- SHANER, G. & FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expressin of slow-mildewing in knox wheat. *Phytopathology* 67(8): 1051-1056. 1977.

- SOTO, M. Bananos. Cultivo y comercialización. Ed. Lil. Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, 1985, 648p.
- STOVER, R.H. Banana, plantain and abaca disease. Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1972. 318p.
- STOVER, R.H. Field observation on benomyl tolerance in ascospore of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Trans. Brit. Mycological. Soc. 72: 518-519. 1979.
- TORRES, J.C.; VENTURA, J.A. AVACPD. Um programa para calcular a área e o volume da área abaixo da curva de progresso da doença. Fitopatol. bras. 16(2):LII-LIII. 1991.
- VENTURA, J.A. Modelos de Previsão do Mal-de-Sigatoka em Bananeiras da Cultivar Prata. Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa. 1984. 92p. (Tese de Mestrado).
- VENTURA, J.A.; GOMES, J.A.; NOBREGA, A.C. & MARTINEZ, J.A. Controle do Mal-de-Sigatoka em bananeiras da cultivar Prata, no Estado do Espírito Santo. Fitopatol. bras. 9(2): 352. 1983.
- VENTURA, J.A.; NOBREGA, A.C.; GOMES, J.A. & BULL, L. Uso de fungicidas granulados para o controle do Mal-de-Sigatoka em bananeiras da cultivar Prata. Fitopatol. bras. 13(2): 117. 1988.
-

Dr. Carlos Ruggiero

COMPORTAMENTO DO MARACUJAZEIRO 'AMARELO' (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) ENXERTADO SOBRE DIFERENTES PORTA-ENXERTOS

NEUSA MARIA COLAUTO STENZEL¹ e SERGIO LUIZ COLUCCI DE CARVALHO²

RESUMO - Com objetivo de avaliar o comportamento do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) enxertado sobre *P. edulis* f. *flavicarpa* (Londrina); *P. edulis* f. *flavicarpa* (Austrália); *P. edulis* (roxinho silvestre-Santos); *P. giberti* (maracujazeiro de veado-Jaboticabal); *P. cincinnata* (maracujazeiro mlrim-Araguari); *P. cincinnata* (Monte Alto) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujazeiro marmelo-Jaboticabal), foi instalado um experimento na Estação Experimental do IAPAR, no município de Londrina (PR). Garfos de plântulas de maracujazeiro 'Amarelo' foram enxertados em mudas de diferentes porta-enxertos de maracujazeiros propagados através de sementes, utilizando-se a enxertia do tipo garfagem fenda cheia. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, com 7 tratamentos, 5 repetições, 4 plantas por parcela, com bordaduras externas. Observou-se que os porta-enxertos apresentaram compatibilidade com o maracujazeiro 'Amarelo'; a produtividade e vigor das plantas enxertadas sobre *P. giberti* foram inferiores aos dos demais tratamentos, e não se evidenciaram influências dos porta-enxertos sobre o peso médio do fruto, teor de suco, e características tecnológicas do suco (sólidos solúveis totais e pH).

Termos para indexação: maracujá 'Amarelo', porta-enxerto, enxertia.

BEHAVIOR OF YELLOW PASSION FRUIT (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), GRAFTED ON DIFFERENTS ROOTSTOCKS

SUMMARY - This trial was established to study the performance of 'Yellow' passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) grafted on *P. edulis* f. *flavicarpa* (Londrina); *P. edulis* f. *flavicarpa* (Australian); *P. edulis* (Santos); *P. giberti* (Jaboticabal); *P. cincinnata* (Araguari); *P. cincinnata* (Monte Alto) and *P. edulis* f. *flavicarpa* (Jaboticabal). The experiment was carried out at the Estação Experimental de Londrina, State of Paraná, Brazil. The rootstocks showed to be compatible to yellow passion fruit; fruit yield and vigour of plants grafted on *P. giberti* were smaller than those on others rootstocks. None of the rootstocks influence the parameters such as weight of fruits and juice characteristics (°brix and pH).

Index terms: 'Yellow' passion fruit, rootstock, budding.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal produtor mundial de maracujá 'Amarelo' (RUGGIERO, 1991). No entanto, houve alguns entraves para sua expansão, dentre eles, os problemas fitossanitários.

O Paraná apresenta potencial para o cultivo desta fruteira, com perspectivas de aumento da área cultivada. A geração de informações técnicas tem contribuído para a expansão mais segura da cultura nesse Estado.

A propagação do maracujazeiro 'Amarelo' no Brasil é feita basicamente através de sementes, havendo portanto segregação e existência de indivíduos diferentes. Já, na África do Sul e Austrália a propagação via enxertia é feita usualmente.

A enxertia, como processo de propagação apresenta a vantagem de perpetuar os melhores clones, além de possibilitar o pleno aproveitamento das vantagens provenientes dos porta-enxertos em relação à copa, contribuindo assim para a implantação de pomares tecnicamente superiores

¹ Engº Agrº., MS, IAPAR, Caixa Postal 1331, 86001-970 Londrina-PR.

² Engº Agrº., MS, IAPAR, Caixa Postal 1331, 86001-970 Londrina-PR.

àqueles formados através de plantas de sementes.

P. giberti foi avaliado como porta-enxerto do *P. edulis* f. *flavicarpa* por OLIVEIRA et al. (1984), que observaram que existe compatibilidade; a produtividade nesse porta-enxerto é inferior às plantas de pé-franco; não há diferença quanto ao tamanho do fruto e características tecnológicas do suco. SEIXAS et al. (1987) verificaram o comportamento de *P. macrocarpa* enxertado sobre maracujazeiro 'Amarelo', que apresentou características favoráveis em relação ao diâmetro do caule, pegamento na enxertia, tamanho e peso do fruto e rendimento de suco.

Estudos relacionados ao comportamento de porta-enxertos de maracujazeiros em relação aos nematóides formadores de galhas apresentaram: *P. alata*, *P. maliformis*, *P. serrato digitata* como suscetíveis, e *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. caerulea*, *P. edulis*, como resistentes (KLEIN et al. 1984).

Na África do Sul, GRECH & RIJKENBERG (1991), observaram a tolerância de *P. caerulea* a fungos de raiz como *Phytophthora* e *Fusarium*, considerado promissor como porta-enxerto.

Em avaliações de diversos porta-enxertos quanto à morte prematura, verificou-se a seguinte classificação: resistente (*P. giberti*, *Passiflora* sp. (maracujá de cobra); tolerantes (*P. macrocarpa*, e *P. caerulea*); suscetíveis (*P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. serrato digitata*, *p. incarnata*, *P. coccinea*, e *P. cincinnati*) e muito suscetíveis (*P. alata*), (OLIVEIRA et al., 1986).

Para KUHNE & LOGIE (1978), o uso de porta-enxertos adequados, proporciona um aumento na longevidade da cultura.

No presente trabalho são relatadas observações sobre o comportamento de *P. edulis* f. *flavicarpa* enxertado sobre diversos porta-enxertos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em área da Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná, localizado no Município de Londrina (PR), no período de FEV/87 a AGO/88.

Para a produção das mudas as sementes dos diversos porta-enxertos de maracujazeiro e da copa (maracujá 'Amarelo'), foram semeadas em sacos plásticos com substrato composto de uma mistura de 3 partes de terra argilosa, e 1 parte de esterco de curral, tratado com brometo de metila. Após 40 dias, efetuou-se a enxertia do tipo garfagem em fenda cheia, com garfos de maracujazeiro 'Amarelo'. Para evitar o dessecamento foi realizada a cobertura dos enxertos com um saco plástico transparente, para manter a umidade, durante 10 dias.

As mudas foram plantadas no espaçamento de 4 metros na linha de plantio e 3 metros nas entrelinhas, e conduzidas em espaldeiras, com palanques de 2,5m de comprimento, enterrados 60cm e 2 fios de arame a uma altura de 1,20m e 1,80m do solo. Devido ao crescimento contínuo dos ramos, antes que a brotação terminal alcançasse a parcela vizinha, seus ramos foram curvados de volta, no sentido do caule de origem, para evitar o entrelaçamento. Durante a fase experimental as plantas foram adubadas, as pragas e doenças controladas, e o terreno capinado sempre que necessário.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com 7 tratamentos, 5 repetições, 4 plantas por parcela, com bordaduras externas.

O maracujazeiro 'Amarelo' foi enxertado nos seguintes porta-enxertos (tratamentos), de diferentes introduções:

- (1) *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Londrina);
- (2) *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Austrália);
- (3) *Passiflora edulis* (roxinho silvestre-Santos);
- (4) *Passiflora giberti* (maracujazeiro de veado-Jaboticabal);
- (5) *Passiflora cincinnata* (maracujazeiro mirim-Araguari);
- (6) *Passiflora cincinnata* (Monte Alto);
- (7) *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracujazeiro marmelo-Jaboticabal).

No trabalho foram avaliadas as seguintes variáveis: produção de frutos (número, peso, distribuição mensal da colheita, peso médio do fruto); vigor; porcentagem de suco; sólidos solúveis totais e pH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os porta-enxertos utilizados como tratamentos evidenciaram efeitos sobre algumas variáveis, como pode ser observado na Tabela 1. Com relação à produção houve uma variação de 24,0 a 38,7 t/ha. CARVALHO et al. (1972), observaram em plantas de pé-franco produtividade média, no primeiro ano, de 23,6 t/ha, e HAGG et al. (1973), obtiveram 24,5 t/ha. Em resultados experimentais no litoral do Paraná, foram obtidas até 38 t/ha (IAPAR, 1984). Nota-se portanto que a produtividade, neste trabalho, situou-se na média de pomares experimentais. As plantas enxertadas sobre *P. giberi* (tratamento 4), mostraram a menor produtividade (t/ha), diferenciando-se significativamente, dos tratamentos 7, 1, 2, 6 e 3, não havendo diferença estatística sobre o tratamento 5. Para verificar o vigor, mediu-se o diâmetro do caule 5cm acima e abaixo da enxertia, observando-se que *P. giberi* foi o menos vigoroso. Para os dados referentes ao número médio de frutos por hectare, o porta-enxerto *P. giberi* também foi o tratamento que apresentou menor número de frutos. Quanto ao peso médio dos frutos obtidos neste trabalho, nota-se uma variação de 130,7 a 147,3g, não havendo diferença estatística entre os tratamentos, estando os valores dentro de um padrão alto para a cultura do maracujazeiro 'Amarelo', pois o peso médio encontrado na literatura foi de 90,6g para COLAUTO (1984) e FERREIRA et al. (1975) com 85,1g.

Na distribuição mensal da colheita observa-se que a produção iniciou em DEZ/87, 10 meses após o plantio das mudas, prolongando-se até AGO/88, com maior concentração desta produção em MAR/88, para todos os tratamentos. Não houve portanto, precocidade de produção devido aos porta-enxertos utilizados.

Verificou-se também neste trabalho, os teores médio de suco nos diferentes tratamentos, em três períodos (FEV, ABR e JUN), variando entre 31,5 a 44,5%. Em trabalho realizado por PRUTHI (1963), o percentual médio de suco para o maracujá 'Amarelo' foi de 30,9%, e ARAÚJO et al. (1974) obtiveram entre 20 e 30%. Neste experimento, o rendimento de suco foi

acima da média para a cultura do maracujazeiro 'Amarelo'. Os teores médios de suco obtidos em FEV/88, foram maiores que em ABR/88 e JUN/88, em todos os tratamentos. Isto se deu provavelmente devido à maior umidade do solo neste período, no entanto, não houve diferença significativa desses valores, entre os tratamentos, em relação a esta variável.

Foi determinado também neste trabalho, o teor médio de sólidos solúveis no suco, que variou de 11,76 a 14,66 e pH de 2,74 a 3,12, não se evidenciando influência dos tratamentos sobre essas características. De forma semelhante FERREIRA et al. (1975), observaram teores de sólidos solúveis com 14,9 e pH 2,8. HANDLER (1965) encontrou sólidos solúveis e pH variando de 12,5 a 16,9 e 2,8 a 3,2 respectivamente, estando os resultados obtidos neste ensaio dentro dos padrões normais citados pela literatura.

CONCLUSÕES

- *P. giberi* foi o tratamento que proporcionou menor peso e número de frutos/ha.
- *P. giberi* apresentou o menor vigor em relação aos demais porta-enxertos utilizados.
- Não se evidenciou influência dos porta-enxertos sobre o peso médio do fruto, teor de suco e características tecnológicas do suco (sólidos solúveis e pH).
- Houve compatibilidade dos porta-enxertos utilizados para com o maracujazeiro 'Amarelo'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, C.M.; GAVA, A.J.; ROBBS, P.G.; NEVES, J.F.; MAIA, P.C.B. Características industriais do maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) e maturação do fruto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Série Agronomia, Rio de Janeiro, v.9, n.9, p.65-69. 1974.
- CARVALHO, A.M. de.; ALOISIO SOBRINHO, J.; IGUE, T. Adubação mineral do maracujazeiro. *Ciência e Cultura*. São Paulo, v.24, n.6, p.412. 1972.

- COLAUTO, N.M. Efeito de doses de N, P e K sobre o estado nutricional, primeira produção e qualidade dos frutos de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). 70p. Tese (Mestr.-Fitotecnia) Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 1984. /Não Publicada/.
- FERREIRA, F.R.; VALLINI, P.C.; RUGGIERO, C.; LAN-SANCHEZ, A.; OLIVEIRA, J.C. Correlações fenotípicas entre diversas características do fruto do maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., Rio de Janeiro, 1975. Anais ... Rio de Janeiro, SBF, v.2, p.646.
- GRECH, N.M. & RIJKENBERG, F.H.L. Laboratory and field evaluation of the performance of *Passiflora caerulea* as a rootstock tolerant to certain fungal root pathogens. *Journal Horticultural Science*, v.66, n.6, p.25-29. 1991.
- HAAG, H.P.; OLIVEIRA, G.D.; BOURDUCCHI, A.S.; SARRUGE, J.R. Absorção de nutrientes por duas variedades de maracujá. *Anais da ESALQ*, Piracicaba, v.30, p.267-269. 1973.
- HANDLER, L. La passiflora; as composition chimique et ses possibilités de transformation. *Fruits*, v.20, n.5, p.235-245. 1965.
- IAPAR. Relatório Técnico Anual. Fundação Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina, IAPAR, 1984. 326p.
- KLEIN, A.L.; FERRAZ, L.C.B.; OLIVEIRA, J.C. de. Comportamento de diferentes maracujazeiros em relação ao nematóide formador de galhas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.19, n.2, p.207-209. 1984.
- KUHNE, F.A. & LOGIE, J.M. *Granadilla longevity improved by grafting citrus and subtropical fruit*. Research Institute, Nelspruit. 1978. p.13-14.
- OLIVEIRA, J.C. de.; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; BAPTISTA, M. Comportamento de *Passiflora edulis* enxertada sobre *P. giberti* N.E. Brown. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., Florianópolis, 1984. Anais ... p.989-93.
- OLIVEIRA, J.C. de.; NAKAMURA, K.; RUGGIERO, C.; FERREIRA, F.R. Determinação de fonte de resistência em Passifloraceas quanto a morte prematura de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., Brasília, 1986. Anais ... p.403-407.
- PRUTHI, J.S. Physiology, chemistry and technology of passion fruit. *Advances in food research*. v.12, p.203-282. 1963.
- RUGGIERO, C. *Cultura do maracujazeiro*. Ribeirão Preto, Ed. Legis Summa, 1987. 250p.
- RUGGIERO, C. Enxertia do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A.R. *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal, FINEP, 1991. p.43-60.
- SEIXAS, L.F.Z.; OLIVEIRA, J.C.; TIHOHOD, D.; RUGGIERO, C. Comportamento de *Passiflora macrocarpa* como porta-enxerto para *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg., cultivado em local com histórico de morte prematura de plantas e nematóides do maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., Campinas, 1987. Anais ... p.597-601.

TABELA 1 - Produção de maracujazeiro 'Amarelo' enxertado sobre diversos porta-enxertos, no período de dezembro/87 a agosto/88 (1ª safra).

Tratamentos	Peso (t/ha)	Número de frutos/ha	Peso médio g/fruto
1	37,7 b	276.050 b	131,1 a
2	38,5 b	273.850 b	140,2 a
3	38,7 b	263.050 a	147,3 a
4	24,0 a	183.350 b	130,7 a
5	33,2 ab	254.900 ab	132,0 a
6	38,6 b	284.800 ab	135,4 a
7	33,5 b	230.300 ab	145,5 a

Tukey 5%.

Human Appropriation of Renewable Fresh Water

Sandra L. Postel, Gretchen C. Daily, Paul R. Ehrlich*

Humanity now uses 26 percent of total terrestrial evapotranspiration and 54 percent of runoff that is geographically and temporally accessible. Increased use of evapotranspiration will confer minimal benefits globally because most land suitable for rain-fed agriculture is already in production. New dam construction could increase accessible runoff by about 10 percent over the next 30 years, whereas population is projected to increase by more than 45 percent during that period.

Unlike other important commodities such as oil, copper, or wheat, fresh water has no substitutes for most of its uses. It is also impractical to transport the large quantities of water needed in agriculture and industry more than several hundred kilometers (1). Fresh water is now scarce in many regions of the world, resulting in severe ecological degradation, limits on agricultural and industrial production, threats to human health, and increased potential for international conflict (2, 3).

In this report, we estimate how much of Earth's renewable fresh water is realistically accessible to humanity; what portion of this accessible supply humanity now uses directly, diverts into human-dominated systems, or appropriates; and by how much human access to fresh water is likely to expand over the next 30 years. On that basis, we derive an indicator of Earth's carrying capacity, as well as a measure of the sustainability of current water trends.

Fresh water constitutes only ~2.5% of the total volume of water on Earth, and two-thirds of this fresh water is locked in glaciers and ice caps (4). Just 0.77% of all water (~10,665,000 km³) is held in aquifers, soil pores, lakes, swamps, rivers, plant life, and the atmosphere (4).

Only fresh water flowing through the solar-powered hydrological cycle is renewable (Fig. 1). Nonreplenishable (fossil) ground water can be tapped, but such extraction depletes reserves in much the same way as extractions from oil wells do. The terrestrial renewable fresh water supply (RFWS_{land}) equals precipitation on land (P_{land}), which then subdivides into two major segments: evapotranspiration from the land (ET_{land}) and runoff to the sea (R). Because ground water and surface water are often hydraulically connected, we include soil infiltration and ground-water replenishment as part of this runoff component. Thus, RFWS_{land} = P_{land} = ET_{land} + R.

Global water balance estimates are de-

rived from interpolation of climatic, vegetation, and soil information for different geographic zones. The methods are inherently imprecise; estimates of annual runoff range from 33,500 km³ to 47,000 km³ (5). We use the estimates of L'Vovich *et al.* (6), which yield runoff values near the middle of this range (Fig. 2).

Transpiration is the uptake of moisture by plants and its release back into the atmosphere. On a large scale, it is difficult to estimate transpiration separately from evaporation; hence the joint term. Evapotranspiration represents the water supply for all nonirrigated vegetation, including forests and woodlands, grasslands, and rain-fed crops. Runoff is the source for all human diversions or withdrawals of water for irrigated agriculture, industry, and municipalities, as well as for a wide variety of instream water uses, including the maintenance of aquatic life (for example, fisheries), navigation, the dilution of pollutants, and the generation of hydroelectric power.

To estimate the share of ET appropriated by human activity, we started with the Vitousek *et al.* (7) calculation of the fraction of terrestrial net primary production (NPP) that humanity now co-opts. Co-opted NPP is material used directly by humans or used in human-dominated ecosystems by communities of organisms that are different from those

in corresponding natural ecosystems. It includes, for example, cropland, grazing land, and trees harvested for fuelwood and timber. Vitousek *et al.* estimate that co-opted terrestrial NPP is 40.6 billion metric tons, or more than 50% of total NPP (Table 1).

To arrive at a global estimate of the average volume of ET required to produce a unit of biomass, we divided total terrestrial NPP of 132 billion metric tons per year (8) by the global terrestrial annual ET estimate above, yielding 1.9 kg of biomass per ton of ET, or about 2 g of biomass per kilogram (or liter) of water (9). We then applied this global average to the calculated co-opted NPP (Table 1), making two adjustments. Approximately 16% of the world's cropland is irrigated to supplement in situ rainfall (10). To avoid double counting, we subtracted from our estimate of ET on cultivated land (Table 1) the share provided by irrigation water, ~2000 km³/year. We also assume that half of the ET associated with lawns, parks, and other human-occupied areas is supplied by irrigation; thus the total ET co-opted is ~18,200 km³. This represents 26% (18,200 km³/69,600 km³) of total terrestrial ET. The remaining 74% must meet the water needs of all other land-based species and natural communities.

We adjusted total runoff (40,700 km³) for geographic and temporal inaccessibility to estimate the portion that is realistically available for human use; we call this accessible runoff (AR). The distribution of global runoff among the continents is highly uneven and corresponds poorly to the distribution of world population (Table 2). Asia, with 60% of world population, contains 36% of global runoff. South America, with ~5% of world population, contains 25% of runoff. Moreover, much of the runoff in the tropics and high northern latitudes is virtually inaccessible to the human economy and is likely to remain so for the foreseeable future.

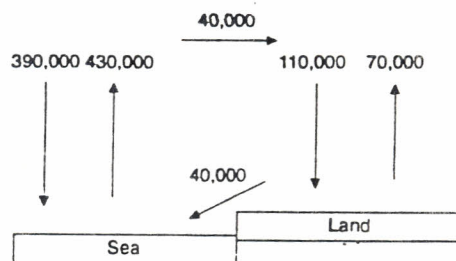


Fig. 1. A simplified depiction of the global hydrological cycle, adapted from Gleick (5). Flows are approximate, fall within ranges of estimates in (5), and are in cubic kilometers per year. Downward arrows signify precipitation; upward arrows signify evapotranspiration. The horizontal arrow represents the transfer of atmospheric moisture from sea to land and the arrow below it represents runoff from land to sea.

Table 1. Estimates of ET appropriated for human-dominated land uses. A total of 26.2% of terrestrial ET is appropriated (18,200 km³/69,600 km³).

Land type	NPP co-opted* (10 ⁹ metric tons)	ET co-opted† (km ³)
Cultivated land	15.0	5,500‡
Grazing land	11.6	5,800
Forest land	13.6	6,800
Human-occupied areas (lawns, parks, golf courses, and so forth)	0.4	100‡
Total appropriated	40.6	18,200

*NPP from intermediate calculation of Vitousek *et al.* (7). †Assumes 2 g of biomass produced for each liter of water evapotranspired. ‡Adjusts for share of ET requirement met through irrigation.

S. L. Postel, Global Water Policy Project, 17 Msgr. O'Brien Highway, Cambridge, MA 02141-1817, USA.
G. C. Daily and P. R. Ehrlich, Department of Biological Sciences, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA.

*To whom correspondence should be addressed.

The Amazon River accounts for 15% of global runoff (11). It is currently accessible, however, to ~25 million people (12) (~4% of world population) and no massive expansion of irrigation is likely that would warrant major diversions from it. We thus consider 95% of its flow inaccessible. The Zaire-Congo ranks second in global runoff (3.5% of the total) (11) and supports ~13% of world population (12). We judge half of its flow to be inaccessible for purposes of irrigation and industrial and municipal use over the next 30 years.

The final subtraction is for the remote rivers of North America and Eurasia, 55 of which have no dams on their main channels (15). Most of this river flow is in tundra and targa biomes that are remote from population centers. The combined average annual flow of these northern untapped rivers is 1815 km³/year, and we subtract 95% of it.

Together, the inaccessible remote flows of the Amazon, Zaire-Congo, and northern undeveloped rivers amount to 7774 km³ per year (Table 3), or 19% of total annual runoff. This leaves ~32,900 km³ geographically accessible. Our estimate is conservative because we made no subtractions for

many (particularly northern) rivers that have very large flows relative to the human population size and water needs of their geographic areas (14).

We next adjusted for temporal inaccessibility. Irrigated agriculture, industry, and households require that water be supplied when and where it is needed. This degree of control over runoff is not easy to achieve. Approximately 11,100 km³ of global runoff (~27% of the total) is renewable ground water and base river flow (6). As long as extraction does not exceed replenishment, these sources can provide a reliable renewable supply. The remaining runoff, ~29,600 km³, is much harder to capture, because most of it is flood water. In Asia, for instance, 80% of runoff occurs from May to October (4, 15). Capturing flood runoff generally requires the construction of dams. The present storage capacity of large dams collectively totals 5500 km³, of which 3500 km³ is actively used in the regulation of river runoff (6, 16).

Adding together the base flow and the surface runoff controlled by dams gives an estimate of the total stable flow. Assuming that the geographically accessible runoff is

divided between base and flood flow in the same proportion that total runoff is, we then reduced the estimate of total base flow by the share of it contained in the remote rivers, 2100 km³ (0.27×7774 km³), leading to an accessible base flow of 9000 km³ ($11,100 - 2100$). Addition to this of the estimated 3500 km³ of runoff regulated by existing reservoirs yields an estimate of present total AR of 12,500 km³/year.

We next estimated what portion of AR humanity now uses. Three categories of water use are (i) withdrawals or abstractions, which represent water removed from rivers, lakes, and aquifers for human activities (also known as water demand or water use); (ii) consumption, which refers to withdrawals that are not available for a second or third use; and (iii) human instream flow needs. Together, withdrawals and instream uses provide a measure of human appropriation of runoff, and we estimate them separately here.

Agriculture uses by far the most AR worldwide. We estimated agricultural water withdrawals by multiplying an average water application rate of 12,000 m³/ha (17) by the 1990 estimate of 240 million hectares of world irrigated area (10). This yields a total agricultural water demand of ~2880 km³ (Table 4). The ratio of consumption to withdrawals varies with climatic factors, the crops grown, and irrigation efficiency, and typically ranges between 50 and 80% (4). We assume that ~65% of agricultural water withdrawals are consumed, for a global total of 1870 km³.

Industrial water use has leveled off or declined in many wealthier countries, but is growing rapidly in much of the developing world (2). Shiklomanov (4) estimated that industrial use is ~975 km³ globally, including the thermoelectric power industry. In contrast to agriculture, only a small share of water used in industry is consumed; most of it is discharged back to the environment.

Table 2. Share of global runoff and population by continent.

Region	Total river runoff* (km ³ /year)	Share of global river runoff (%)	Share of global population† (%)
Europe	3,240	8.0	13.0
Asia	14,550	35.8	60.5
Africa	4,320	10.6	12.5
North and Central America	6,200	15.2	8.0
South America	10,420	25.6	5.5
Australia and Oceania	1,970	4.8	0.5
Totals	40,700	100.0	100.0

*Runoff estimates from (6).

†Population estimates from (32).

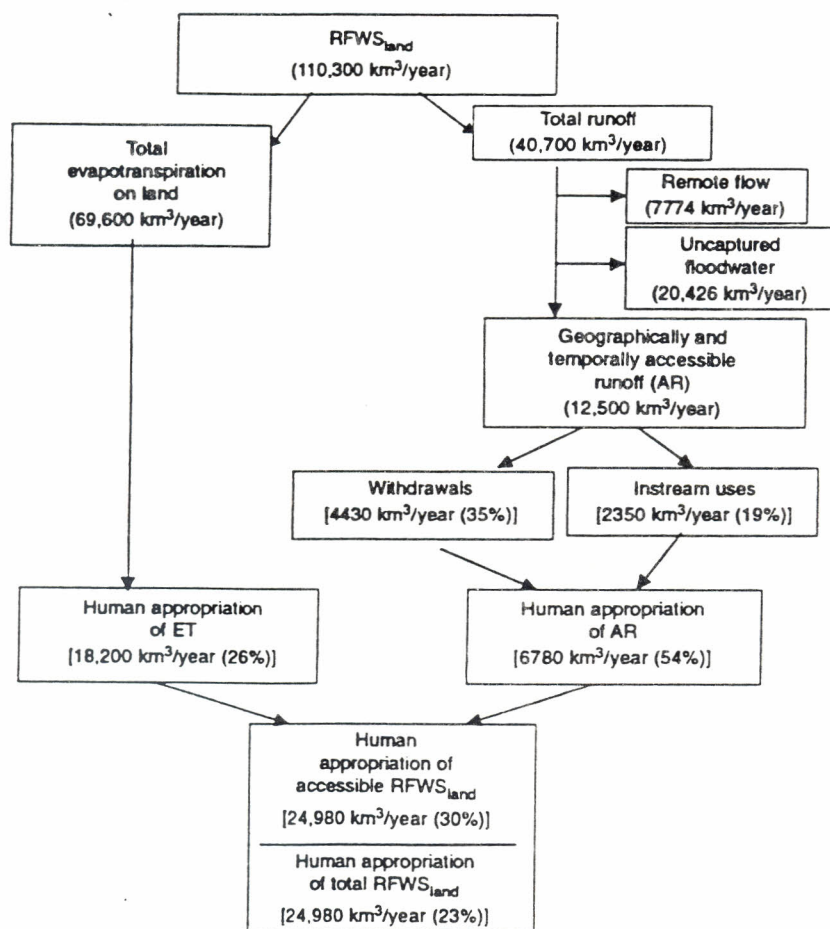


Fig. 2. Flow diagram of analysis of human appropriation of RFWS_{land}. The final box shows human appropriation of estimated accessible RFWS_{land} to be 30% (24,980 km³/82,100 km³) and human appropriation of total RFWS_{land} to be 23% (24,980 km³/110,300 km³).

Table 3. Estimates of inaccessible runoff of selected regions.

Region or region	Inaccessible runoff (km ³ /year)
Americas (Central and S. America)	1,000
Zaire (Congo) (50% of total)	1,000
Remote (unpopulated) regions (50% of total)	1,000
Europe (10% of total)	1,000
Asia (10% of total)	1,000
Total inaccessible remote runoff	7,774

*Americas and Zaire (Congo) runoff from 1990. †Remote runoff from 1990.

although it is often polluted. Some 9%—or ~90 km³—of industrial water withdrawals are consumed.

Municipal use varies greatly among countries and regions. Shiklomanov (4) accounted separately for urban and rural inhabitants, using country-level data on demographic characteristics and water use. His estimated worldwide municipal use is 300 km³ per year, of which ~50 km³ (or ~17%) is consumed.

In certain geographic regions, reservoir losses to evaporation constitute a substantial share of total runoff (18). We assume that an average of 5% of the gross storage capacity of reservoirs worldwide (5500 km³) is lost to evaporation, or 275 km³/year.

Instream flow uses include maintenance of navigation paths, water quality, river deltas, fisheries, wildlife, riparian vegetation, other aquatic biodiversity, and recreational opportunities. Because instream requirements vary geographically and seasonally, we used pollution dilution as a global proxy and assumed that the dilution requirement is sufficient to meet other instream needs as well. An often used dilution factor for assessing waste absorption capacity is 28.3 liters per second per 1000 population (19). Applying

this rate to the 1990 population yields a dilution requirement of ~4700 km³. If 50% of municipal and industrial waste globally receives at least secondary treatment before discharge (20), then the instream flow requirement is 2350 km³/year. In actuality, some dilution is accomplished by flood flows rather than by AR, and some additional pollution comes from dispersed (such as agricultural) sources, but because we are using the dilution requirement as a proxy for instream uses generally, we made no adjustments for these (21).

Overall, we estimate that ~18% of AR (2285 km³/12,500 km³) is now consumed directly for human purposes. Withdrawals from rivers, streams, and aquifers combined with instream flow requirements total 6780 km³, which suggests that an additional 36%—for a total of 54% of AR (6780 km³/12,500 km³)—is currently appropriated for human purposes. We estimate that human use of ET and runoff constitutes 30% of the total accessible RFWS [(18,200 km³ + 6780 km³)/(69,600 km³ + 12,500 km³)]. This is conservative, because it assumes that all ET is accessible (22). Comparison of human use with the total unadjusted RFWS indicates that *Homo sapiens* is co-opting ~23% of this life-support resource (18,200 km³ + 6780 km³/110,300 km³).

How much can AR be expected to increase during the next three decades? The principal means of expanding AR is to capture and store more flood runoff or to desalinate seawater. Exotic options, such as towing icebergs, are unlikely to yield appreciable quantities of water on a global basis in the next 30 years.

Desalination, which supplies ~0.1% of world water use (23), is an expensive option, largely because it is energy-intensive. The theoretical minimum energy requirement to remove salt from water is 2.8 million joules per cubic meter, but even the best desalination plants now operating use 30 times this amount (24). Technological improvements might reduce energy needs to 10 times the theoretical minimum (24), but this is still a substantial energy requirement. For the foreseeable future, desalination is likely to continue to be used primarily to meet drinking water needs in water-scarce, energy-rich nations.

The creation of new reservoirs will continue to expand AR but at a slower rate. Worldwide, an average of 885 large dams (those at least 15 m high) were constructed per year between 1950 and the mid-1980s (25). At present, no more than ~500 large dams are being completed each year (26, 27), and we would expect this to drop further because of rising economic, social, and environmental costs (2). We assumed an average of 350 new dams per year for the

next 30 years. If average reservoir capacity per dam remains the same as in the period from 1950 to 1985, as well as the proportion that is dead storage or otherwise unavailable for water supply, ~1200 km³ would be added to the accessible supply circa (ca.) 2025 (28). Addition of this to existing active storage capacity of 3500 km³ yields a total of 4700 km³ ca. 2025. Combining this with the accessible base flow (9000 km³) gives an AR ca. 2025 of 13,700 km³/year (29).

If average per capita water demand remains the same in 2025 as at present [which is conservative, because withdrawals per capita increased nearly 50% between 1950 and 1990 (2)], global water demand ca. 2025 would total ~6400 km³/year. Further, if instream flow needs for pollution dilution increase in direct proportion to population, these would total ~3430 km³/year ca. 2025, for a total human appropriation ca. 2025 of ~9830 km³/year, or >70% of estimated AR ca. 2025.

We ignore the possibility that, during the next few decades, runoff patterns might be altered substantially by temperature increases and precipitation shifts associated with the buildup of greenhouse gases (30). This, in turn, could alter dam requirements and reservoir storage and thus AR. Given the possible nonlinearities in the climatic system, our ca. 2025 AR estimate may be optimistic.

The aquatic environment is already showing signs of degradation and decline, particularly because of dam construction, river diversions, heavy pollution loads, and other habitat changes (27, 31). Substantially higher levels of human appropriation of AR could result in a severe faltering of aquatic ecosystem services, including broad decimation of fish populations and the extinction of numerous beneficial species. Greater investments in pollution prevention would free up AR to meet rising human water needs while safeguarding ecological functions. Likewise, greater efficiency of water use, changes in agricultural cropping patterns, and the removal of marginal lands from irrigation could help slow the growth of human appropriation of AR.

REFERENCES AND NOTES

1. A relatively small volume of fresh water is transported longer distances by tanker to supply drinking water to water-scarce areas.
2. S. Postel, *Last Oasis: Facing Water Scarcity* (Norton, New York, 1992).
3. P. H. Gleick, *Int. Secur.* **18**, 79 (summer 1993); N. Myers, *Ultimate Security: The Environmental Basis of Political Stability* (Norton, New York, 1993).
4. I. A. Shiklomanov, in *Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources*, P. H. Gleick, Ed. (Oxford Univ. Press, New York, 1993), pp. 13–24.
5. P. H. Gleick, Ed., *Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources* (Oxford Univ. Press, New York, 1993).

Table 4. Estimated global water use and consumption, by sector, ca. 1990.

Sector	Use (km ³ /year)	Consumption (km ³ /year)
Agriculture*	2880	1870
Industry†	975	90
Municipalities‡	300	50
Reservoir losses‡	275	275
Subtotal	4430	2285
Instream flow needs	2350	0
Total	6780	2285
Total as a percent of AR (12,500 km ³)	54%	18%

*Assumes average applied water use of 12,000 m³/ha and consumption equal to ~65% of withdrawals.
†Estimates are from (4). ‡Assumes evaporation loss equal to 5% of gross reservoir storage capacity.

1. M. E. Volchok et al., in *The Earth as Transformed by Human Action*, B. L. Turner et al., Eds. (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1990), pp. 263-269.
2. Even in the case of the Organization for Economic Cooperation and Development, in which wastewater treatment is estimated to cover only 10% of the population (A. K. Biswas, *Water* 17, 68 (February 1992)). Information for developing countries is sparse, but treatment coverage is certainly far lower. Moreover, few regions control farm runoff and other dispersed pollution sources that add substantial quantities of sediment, pesticides, and fertilizers to water bodies.
3. Even if wastewater treatment coverage should become nearly universal, substantial instream flows would still be required to maintain fisheries, support recreational demands, and satisfy other instream needs. For example, California's instream environmental water requirements (after omission of the north coast hydrologic region, which contains several wild and scenic rivers and thus may not be indicative of instream needs more narrowly defined) equal 22% of average annual runoff [California Water Plan Update (California Department of Water Resources, Sacramento, CA, 1994)].
4. We did not consider it feasible to estimate accessible ET in a manner comparable to our estimate of AR. To be conservative, we therefore assumed all terrestrial ET to be accessible.
5. Wangnick Consulting, 1990 IDA Worldwide Desalting Plants Inventory (International Desalination Association, Englewood, NJ, 1990).
6. P. H. Gleick, *Annu. Rev. Energy Environ.* 19, 267 (1994).
7. J. A. Veltrop, in *Water for Sustainable Development in the Twenty-first Century*, A. K. Biswas, M. Jellali, G. E. Stout, Eds. (Oxford Univ. Press, Oxford, 1992), pp. 102-115.
8. Status of Dam Construction, 1991 (International Commission on Large Dams, Paris, 1992), suggests that ~300 dams are now commissioned each year, but these data include only 64 countries.
9. A. P. Cowch [in (5), pp. 40-55] indicates that large dams are currently being completed at an average rate of 50 per year, or 6% of the rate of the period from 1950 to 1980.
10. Reservoirs. Many of existing large dams were built since mid-century (25), this calculation assumes that 65% of total existing storage capacity was constructed since then, or $4675 \text{ km}^3 / (5500 \text{ km}^3 \times 0.65)$. With the assumption that 40% as many dams would be constructed between 1990 and 2025 as between 1950 and 1985, and that capacity per dam remains constant, $1870 \text{ km}^3 / (4675 \text{ km}^3 \times 0.40)$ of capacity would be added by ca. 2025, of which 1190 km³ would be live storage for water supply.
11. Even as dam construction is adding to the total stable runoff, other human activities are reducing it. Deforestation and the paving over of aquifer recharge areas often reduce rainwater infiltration, thereby reducing base flow and increasing surface flood runoff. More important globally, many reservoirs are losing active storage capacity faster than originally estimated because of rapid siltation from deforestation, soil erosion, and generally poor watershed management. The Nizamsagar reservoir in India, for instance, lost more than 60% of its capacity over 40 years [M. Newson, *Land, Water and Development: River Basin Systems and Their Sustainable Management* (Routledge, London, 1992)]. Lacking global estimates, we make no subtraction for these losses.
12. P. E. Waggoner, Ed., *Climate Change and U.S. Water Resources* (Wiley, New York, 1990).
13. National Research Council, *Restoration of Aquatic Ecosystems* (National Academy Press, Washington, DC, 1992).
14. 1994 World Population Data Sheet (Population Reference Bureau, Washington, DC, 1994).
15. We gratefully acknowledge comments from W. Falcon, P. Gleick, R. Naylor, A. Vickers, P. Vitousek, and two anonymous reviewers. Supported by a grant from Charles and Nancy Munger, the Winslow and Heinz foundations, and an anonymous donor.

28 September 1995; accepted 21 December 1995

Rapid Collapse of Northern Larsen Ice Shelf, Antarctica

Helmut Rott, Pedro Skvarca, Thomas Nagler

In January 1995, 4200 square kilometers of the northern Larsen Ice Shelf, Antarctic Peninsula, broke away. Radar images from the ERS-1 satellite, complemented by field observations, showed that the two northernmost sections of the ice shelf fractured and disintegrated almost completely within a few days. This breakup followed a period of steady retreat that coincided with a regional trend of atmospheric warming. The observations imply that after an ice shelf retreats beyond a critical limit, it may collapse rapidly as a result of perturbed mass balance.

Ice shelves cover 11% of the total area of Antarctica (1) and play an important role in the mass budget and dynamics of the Antarctic Ice Sheet. Most of the ice that has accumulated over the grounded parts of Antarctica is discharged to ice shelves, where it is lost as icebergs along the seaward edges as well as by basal melting (2). Because ice shelves are exposed to both atmosphere and ocean, they are sensitive to changes in the temperature and circulation

of either (3). The 0°C summer isotherm has been taken as the climatic limit for the existence of ice shelves along the west coast of the Antarctic Peninsula (4). Between 1966 and 1989, the Wordie Ice Shelf (5) decreased from ~2000 to 700 km², probably as a result of regional atmospheric warming (5). Here, we report on the recent disintegration of the northern Larsen Ice Shelf (LIS).

The LIS extends along the eastern side of the Antarctic Peninsula from latitude 64° to 74°S (Fig. 1). The part of the LIS north of Robertson Island has retreated slowly but constantly since the 1940s (6, 7). The retreat accelerated after 1975 (8), and

H. Rott and T. Nagler, Institut für Meteorologie und Geophysik der Universität Innsbruck, Innrain 52, A-6020 Innsbruck, Austria.
P. Skvarca, Instituto Antártico Argentino, Cerrito 1248, 1010 Buenos Aires, Argentina.