

REAÇÕES DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA A ISOLADOS DE *Mycosphaerella fijiensis* AGENTE CAUSAL DA SIGATOKA-NEGRA

Vaneza Silva dos SANTOS¹; Rogério Eiji HANADA²; Luadir GASPAROTTO³; Gilvan FERREIRA³
¹Bolsista/PIBIC/CNPq/INPA; ²Orientador CPPF/INPA; ³Colaborador CPAA/EMBRAPA;

1. Introdução

Mycosphaerella fijiensis Morelet (fase anamófica: *Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton), é o agente causal da doença mais destrutiva da bananeira, conhecida como Sigatoka-negra (Gasparotto *et al.* 2006). É caracterizada pela presença de estrias marrons na face inferior das folhas, progredindo para estrias negras que formam lesões necróticas destruindo toda a área foliar resultando na redução da produção (Marin 2003). A natureza heterotática de *M. fijiensis* potencializa a taxa de recombinação gênica, desempenhando um importante papel na geração de variabilidade genética dentro das populações do fungo (Carlier *et al.* 2003). Esta variabilidade pode por consequência, conduzir uma rápida adaptação do patógeno a mudanças nas condições ambientais. Fungos fitopatogênicos com altos níveis de variabilidade genética são difíceis de controlar, uma vez que eles podem superar rapidamente qualquer medida de controle, seja ela química ou pela introdução de variedades resistentes (Carlier *et al.* 2003). Diante do exposto, fica evidente que o sucesso no desenvolvimento de variedades resistentes vai depender do entendimento do nível de variabilidade de raças de *M. fijiensis*, para que se possam adotar melhores estratégias que permitam ampliar a durabilidade da resistência das variedades de bananeira. O objetivo deste trabalho foi avaliar graus de virulência de vinte e dois isolados de *M. fijiensis* inoculados em mudas de bananas maçã, pioneira, conquista e prata comum, utilizadas como diferenciadoras.

2. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no laboratório de fitopatologia da Embrapa Amazônia Ocidental. Os isolados de *M. fijiensis* utilizados neste trabalho foram provenientes de diferentes localidades do país e cultivares. Os mesmos estão depositados na Coleção de fungos da Embrapa Amazônia Ocidental. Vinte e dois isolados foram repicados em placas de Petri contendo meio V8 (200 mL de suco de V8, 2,0g de CaCO₃, 20g de Agar) e mantidos em uma BOD por 7 dias a 25 °C ± 2 °C sob regime de luminosidade de 12 horas. Após os isolados serem recuperados, os mesmos foram utilizados para os ensaios na casa-de-vegetação. Produção do inóculo - As colônias desenvolvidas em placas de Petri contendo meio de V8 foram transferidas em um tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada estéril, depois a suspensão de micélio foi transferida para quatro placas de Petri contendo meio V8. Para obtenção do inóculo, foram adicionados 5 mL de água destilada em cada placa e os micélios removidos, com uma espátula, para um béquer de 50 mL e, trituradas, com auxílio de um mix a 500 rpm por 3 minutos. Da suspensão obtida, os fragmentos foram quantificados por meio de quatro leituras em câmara de Neubauer e ajustada em 10⁻⁶ fragmentos mL. Inoculação - para a inoculação foram utilizadas quatro variedades de cultivares, Maçã (AAB), Prata Comum(AAB), Pioneira(AAAB) e Conquista (AAB), para cada isolado foram utilizadas quatro mudas de cada cultivar. As plantas foram cultivadas em sacos plásticos de 10 Kg com mistura de terra, areia e esterco. A inoculação foi feita por atomização, na face inferior das folhas 1 e 2 de cada planta, onde uma folha foi delimitada com seis quadrados medindo 25 cm², sendo três do lado direito e três do esquerdo, posicionando o quadrado no ápice e na base da folha, a segunda folha foi inoculada 50% do limbo foliar. As mudas foram mantidas na casa-de-vegetação (CPAA) em temperatura ambiente. Avaliação das inoculações - as infecções produzidas nas folhas das mudas inoculadas foram avaliadas mediante a utilização de uma escala diagramática descritiva proposta por Stover (1972) e modificada por Gauhl (1994), como segue; 0 - sem sintomas; 1 - menos de 1% da área foliar com sintomas; 2 - de 1% a 5% da área foliar com sintomas; 3 - de 6 a 15% da área foliar com sintomas; 4 - de 16 a 33% da área foliar com sintomas; 5 - de 34 a 50% da área foliar com sintomas; 6 - de 51 a 100% da área foliar com sintomas. Os dados gerados foram transformados $\sqrt{x +$

0,5, submetidos à análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974), a 1% de significância.

3. Resultado e Discussão

No geral, todos os genótipos de *Musa* spp. inoculados com isolados de *M. fijiensis* apresentaram sintomas, no entanto, houve variação de virulência entre os isolados (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Na cultivar pioneira seis isolados não induziram sintomas na primeira avaliação, 30 dias após a inoculação, (Mf01, Mf08, Mf27, Mf121, Mf188, Mf 226). Com 60 dias, todas as cultivares apresentaram sintomas, sendo possível distinguir a formação de dois grupos de isolados nesta cultivar (Tabela 1).

Tabela 1 - Severidade média de Sigatoka negra observada aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação com *M. fijiensis* na cultivar Pioneira.

ISOLADOS	Avaliações/Dias		
	30D	45D	60D
Mf 01	0,00 b	1,00 b	3,00 a
Mf 08	0,00 b	1,00 b	2,00 b
Mf 23	0,25 b	0,75 b	1,75 b
Mf 27	0,00 b	1,50 a	2,50 a
Mf 68	0,50 a	1,50 a	2,50 a
Mf 111	1,00 a	2,00 a	3,25 a
Mf 120	0,50 a	1,00 b	2,00 b
Mf 121	0,00 b	1,25 b	2,50 a
Mf 138	0,25 b	1,75 a	3,00 a
Mf 150	1,00 a	2,00 a	3,25 a
Mf 188	0,00 b	0,50 b	1,00 b
Mf 189	0,75 a	1,00 b	1,50 b
Mf 190	1,00 a	2,00 a	2,25 a
Mf 192	1,00 a	1,75 a	2,00 b
Mf 193	1,25 a	2,50 a	3,50 a
Mf 195	0,50 a	1,25 b	2,00 b
Mf 202	0,75 a	2,00 a	2,00 b
Mf 206	1,00 a	2,00 a	2,75 a
Mf 210	0,25 b	0,75 b	1,50 b
Mf 216	0,00 b	1,00 b	2,00 b
Mf 218	0,75 a	2,00 a	2,50 a
Mf 226	0,00 b	1,00 b	1,25 b

Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), ao nível de 1% de probabilidade.

Na cultivar maçã, apenas um isolado não induziu sintomas com 30 dias de avaliação (Mf193), aos 45 dias de avaliação todos os isolados já tinha induzido sintomas. Aos 60 dias de avaliação nove isolados foram mais virulentos (Mf01, Mf08, Mf23, Mf68, Mf111, Mf138, Mf150, Mf188, Mf192). Nesta cultivar houve formação de três grupos conforme o teste de Scott & Knott a 1 % de probabilidade (Tabela 2).

Tabela 2 - Severidade média de Sigatoka negra observada aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação com *M. fijiensis* na cultivar Maçã.

ISOLADOS	Avaliações/Dias		
	30	45	60
Mf 01	0,75 a	2,25 a	3,00 a
Mf 08	0,75 a	2,25 a	3,00 a
Mf 23	1,00 a	2,50 a	3,50 a
Mf 27	1,00 a	1,50 a	2,75 b
Mf 68	1,00 a	2,25 a	3,00 a
Mf 111	0,75 a	1,50 a	3,00 a
Mf 120	0,50 b	1,25 a	2,25 b
Mf 121	0,25 b	1,00 a	1,50 b
Mf 138	1,00 a	2,50 a	3,75 a
Mf 150	1,00 a	2,50 a	3,50 a
Mf 188	1,00 a	2,00 a	3,00 a
Mf 189	1,00 a	1,75 a	2,75 a
Mf 190	1,00 a	2,00 a	2,75 a
Mf 192	1,00 a	2,50 a	3,25 a
Mf 193	0,00 b	1,25 a	2,25 b
Mf 195	0,25 b	2,00 a	2,00 b
Mf 202	0,25 b	1,00 a	2,00 b
Mf 206	0,25 b	1,25 a	1,75 b
Mf 210	0,75 a	1,50 a	2,00 b
Mf 216	0,50 b	1,75 a	2,75 a
Mf 218	0,50 b	1,25 a	2,00 b
Mf 226	1,00 a	1,25 a	2,00 b

Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), ao nível de 1% de probabilidade.

A cultivar conquista foi suscetível a todos os isolados desde a primeira avaliação, com 30 dias de inoculação, no entanto, foi o que detectou maior grupo de diversidade de *M. fijiensis* (Tabela 3).

Tabela 3 - Severidade média de Sigatoka negra observada aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação com *M. fijiensis* na cultivar Conquista.

ISOLADOS	Avaliações/Dias		
	30	45	60
Mf 01	1,00 b	2,00 c	3,00 c
Mf 08	0,25 c	1,00 d	2,00 d
Mf 23	1,25 b	3,00 b	3,00 c
Mf 27	0,25 c	1,00 d	2,00 d
Mf 68	0,25 c	2,00 c	2,25 d
Mf 111	1,00 b	3,00 b	4,75 a
Mf 120	1,00 b	2,25 c	3,75 b
Mf 121	1,00 b	2,75 d	3,00 c
Mf 138	0,50 c	2,00 c	3,00 c
Mf 150	1,00 b	2,75 b	3,75 b
Mf 188	0,50 c	2,50 b	3,50 b
Mf 189	0,50 c	2,50 b	4,25 a
Mf 190	2,00 a	3,00 b	3,75 a
Mf 192	2,00 a	3,75 a	4,75 a
Mf 193	1,75 a	3,00 b	3,75 b
Mf 195	1,75 a	3,50 a	4,50 a
Mf 202	2,00 a	2,50 b	3,25 c
Mf 206	3,00 a	3,75 a	4,75 a
Mf 210	2,75 a	3,75 a	4,00 b
Mf 216	1,50 b	2,00 c	2,75 c
Mf 218	2,50 a	3,00 b	3,50 b
Mf 226	1,25 b	2,00 c	2,75 c

Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), ao nível de 1% de probabilidade.

Na cultivar prata comum aos 30 dias de avaliação, apenas dois isolados não induziram sintomas (Mf188, Mf189) havendo uma diferença em relação aos outros isolados que já apresentam níveis de virulência altos logo na primeira avaliação, na segunda avaliação continua essa diferenciação entre os dois isolados e os demais, a última avaliação feita com

60 dias, todos os isolados induziram sintomas, os diferenciando no grau de virulência em dois grupos (Tabela 4).

Tabela 4 - Severidade média de Sigatoka negra observada aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação com *M. fijiensis* na cultivar prata Comum.

ISOLADOS	Avaliações/Dias		
	30	45	60
Mf01	0,50 b	1,50 a	2,50 a
Mf 08	1,00 a	2,00 a	3,50 a
Mf 23	0,50 b	1,00 b	2,00 b
Mf 27	0,75 a	2,00 a	3,25 a
Mf 68	0,75 a	1,50 a	2,50 a
Mf 111	0,75 a	1,75 a	2,50 a
Mf 120	0,25 b	1,50 b	2,00 b
Mf 121	0,25 b	0,25 c	1,00 b
Mf 138	1,00 a	2,00 a	3,00 a
Mf 150	0,50 b	1,25 b	2,25 b
Mf 188	0,00 b	1,00 b	1,50 b
Mf 189	0,00 b	1,00 b	2,00 b
Mf 190	1,75 a	2,00 a	3,00 a
Mf 192	0,25 b	1,25 b	1,50 b
Mf 193	1,25 a	1,75 a	2,75 a
Mf 195	0,75 a	1,75 a	2,00 b
Mf 202	0,25 b	2,00 a	3,00 a
Mf 206	1,00 a	2,50 a	3,00 a
Mf 210	0,75 a	2,50 a	4,00 a
Mf 216	0,75 a	2,00 a	3,00 a
Mf 218	1,00 a	2,00 a	2,00 b
Mf 226	1,00 a	2,00 a	3,00 a

Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), ao nível de 1% de probabilidade.

Estes resultados comprovam a existência de variabilidade patogênica deste fungo, pois houve reação de suscetibilidade diferenciada nas cultivares, quando inoculados com isolados de diferentes procedências e genótipos. Além disso, o número de variedades cultivadas no Brasil, certamente é maior do que na maioria das outras regiões produtoras de banana do mundo, a diversidade climática em que a fruta é produzida de norte a sul do país, a presença da reprodução sexuada na espécie, o fato de *M. fijiensis* ser um fungo heterotálico, são fatores que aumentam a capacidade de variação do patógeno e, conseqüentemente, a capacidade de adaptar-se a situações diversas, como favorecendo a criação de novas raças com combinações inéditas de genes de virulência Carlier *et al.*, 2003. Outro mecanismo que pode estar gerando dentro de uma população assexuada e a ocorrência do ciclo parassexual. Para isso, é necessário formar anastomose entre hifas. A fusão das hifas é um pré-requisito para compatibilidade vegetativa, e, conseqüentemente, para formação do heteriocário que é fundamental na ocorrência do ciclo parassexual (Alexopoulos *et al.* 1996).

4. Conclusão

Todas as cultivares de bananeiras testadas distinguiram grupos de *M. fijiensis* em relação a virulência, sendo a cultivar Conquista a que diferenciou maior quantidade de populações. Portanto, fica evidente a existência de populações distintas de *M. fijiensis*, indicando que algum caráter gênico ligado à virulência do patógeno pode ser um fator de agrupamento dos isolados.

5. Referências

Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; Blackwell, M. 1996. *Introductory Fungi*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 869pp.

Carlier, J. Hayden,; Rivas, G.; Zapater, M.F.; Abadie, C.; Aitken, E. 2003. Genetic differentiation in *Mycosphaerella* leaf spot pathogens. In: Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases held in San Jose, 2002, Costa Rica. *Mycosphaerella* leaf spot disease of bananas: present status and outlook. Montpellier: INIBAP. p. 123-129.

Gasparotto, L.; Pereira, J. C. R., Hanada, R.E., Montorroyos, A. V. V. 2006. Sigatoka-negra da bananeira. Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus. 177p.

Scott, A.J.; Knott, M.A. 1974. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, 30: 507-512.

Stover, R. H.; Simmonds, N. W. 1971. A proposed international scale for estimating intensity of banana leaf spot (*Mycosphaerella musicola*). *Tropical Agriculture*, St. Augustine, 48: 620, 626.