

AGR-04

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO PODER PATOGÊNICO DE ESTIRPES BACTERIANAS ISOLADAS DE TECIDO DE SOLANÁCEAS E BANANEIRA PROVENIENTES DE VÁRIAS ÁREAS DA AMAZÔNIA.

Bianca Galúcio Pereira⁽¹⁾; Bernard Jean Laurent Boher⁽²⁾
Bolsista CNPq/ PIBIC⁽¹⁾; Pesquisador INPA/CPCA/IRD⁽²⁾

O desmatamento e a abertura de novas áreas para cultura, com a finalidade de atender as necessidades alimentares da população de grandes cidades como Manaus levou a modificações importantes na microflora fitopatogênica de origem telúrica (Lourd *et al.*, 1988). A intensificação das práticas agrícolas, geradoras de desequilíbrios na microflora do solo é responsável pelo aparecimento de situações fitossanitárias cada vez mais preocupantes. Um exemplo é a bactéria *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* Raça 1, causando danos crescentes nas culturas de solanáceas (tomate, pimentão, beringela).

Ralstonia solanacearum (*R.s.*), causadora do murchamento sendo descrita como fator limitante de diversas culturas atacando mais de 200 espécies botânicas tem por origem o solo penetrando nas plantas através de aberturas nas raízes provocadas por nematóides, práticas agrícolas ou mesmo crescimento radicular; ela coloniza os vasos do xilema obstruindo a passagem de seiva, levando a murcha das folhas e posterior morte da planta. Por ter sua origem no solo, essa bactéria sobrevive de uma cultura para outra em restos de cultivo, em plantas hospedeiras selvagens, como endógeno ou na rizosfera, inviabilizando o solo para o cultivo por vários anos (Romeiro, 1995).

Uma raça fisiológica do patógeno especificamente infecta bananeira de forma extremamente severa, havendo sido descrita no Brasil (Pereira & Souza Normando, 1993). Até o momento a murcha bacteriana da bananeira, também chamada de “moko da bananeira”, parece estar restrita à região amazônica (Romeiro, 1995).

A bactéria *R.s.* presente em todas as regiões de clima tropical e subtropical tem uma grande variabilidade devido a grande extensão da sua gama de hospedeiros. Dentro da espécie existe uma classificação em raças (Buddenhagen *et al.*, 1962) e biovares (Hayward, 1964).

O objetivo deste trabalho é caracterizar a diversidade do parasita para melhor adaptar a resistência do hospedeiro as populações locais de *R.s.*

As plantas que apresentavam sintomas de murcha, na maioria solanáceas de várias áreas do estado do Amazonas e de dois experimentos: um montado em área de várzea (Ariáú)

e outro em área de terra firme (Km 14, Manaus), com tomates resistentes e sensíveis, foram analisadas. Essas plantas foram esterilizadas e uma parte do tecido do caule foi tirado e colocado em água estéril e desse líquido foi extraído uma gota sendo colocada e riscada sobre placa de Pétri contendo meio nutritivo. As que apresentavam morfologia de *R.s.* (cor branca à marfim consistência mucosa e formato esférico irregular) foram novamente riscadas em meio nutritivo e purificadas sendo conservadas em água estéril.

Foram feitos testes bioquímicos essenciais para comprovar que as estirpes isoladas pertenciam à espécie *R.s.* (Fahy & Persley, 1983) : teste de oxidase que se mostrou positivo; teste de amido sendo negativo; teste de hipersensibilidade sobre folhas de fumo, onde após 48 horas apresentaram secamento da área onde foi infiltrado a suspensão bacteriana, se a bactéria for fitopatogênica. A determinação dos biovares foi feita observando o crescimento “in vitro” das bactérias sobre alguns dissacarídeos e álcool-hexoses; por último foi avaliada a patogenicidade através de uma inoculação sobre uma gama de hospedeiros (tomate, pimentão, beringela e bananeira).

A maioria das estirpes isoladas de pimentão, tomateiro, pimenta de cheiro, *Melanthera* sp., *Solanum nigrum*, bananeira e *Heliconia* sp., são oxidase positivo, amido negativo, provocam aparição de mancha necrótica sobre folha de fumo e murcha do tomateiro após a inoculação no caule. Por isso é quase certo de que essas estirpes pertençam à espécie *R.s.*. Para confirmação será feita uma caracterização genética que com a ajuda de PCR e primers específicos permite caracterizar fácil e rapidamente essa espécie.

Os biovares I, II e III de *R.s.* foram encontrados parasitando solanáceas e bananeiras no estado do Amazonas. Esses três biovares podem parasitar o tomateiro, os biovares I e III parasitando várias solanáceas e a bananeira. Na bananeira o biovar I foi o mais freqüente. As estirpes do biovar I parasitando esse hospedeiro se distinguem das estirpes do mesmo biovar parasitando as solanáceas pelo fato de não metabolizar o trealose. O biovar II foi encontrado parasitando o tomateiro em Benjamin Constant e perto de Manaus. Nesse último caso, o biovar II atacou o tomateiro no primeiro cultivo após o desmatamento no assentamento de Tarumã Miri. Esse biovar poderia ser um habitante natural do solo da floresta parasitando plantas nativas. O parasitismo sobre tomateiro, novo hospedeiro introduzido na área, seria o resultado de um primeiro contato entre planta e parasita, como já suposto por Gillings & Fahy (1994), no que diz respeito ao parasitismo da batata no meio tropical.

Os dois ensaios que foram conduzidos em áreas de terra firme e várzea nos arredores de Manaus confirmaram que o ecossistema de várzea é mais favorável para a expressão da doença (Lourd *et al.*, 1988). A análise das populações parasitárias mostrou a presença dos

biovars I e III nas duas áreas, sendo predominante no ensaio de terra firme o biovar I e no ensaio de várzea o biovar III. Essa predominância do biovar III dificilmente explica a maior intensidade da doença observada na área de várzea, visto que o biovar III foi descrito como sendo menos agressivo do que o biovar I (Lopes *et al.*, 1994).

Ao nível do poder patogênico, os primeiros resultados mostram que as estirpes coletadas em vários lugares do Estado do Amazonas apresentam em geral uma agressividade elevada sobre tomate, pimentão e beringela, as estirpes provenientes da bananeira sendo as vezes menos agressivas sobre esses hospedeiros do que as que foram isoladas de solanáceas. A patogenicidade sobre bananeira, das estirpes isoladas de bananeira e *Heliconia* sp., foi verificada após contaminações artificiais, podendo ser classificadas dentro da raça 2. As estirpes provenientes de solanáceas e outros hospedeiros (com exceção de duas estirpes do biovar III), ao contrário, não provocam a murcha da bananeira nas mesmas condições, podendo ser classificadas dentro da raça 1 (Buddenhagen *et al.*, 1962).

A planta adventícia *Melanthera discoidea* Black (Asteraceae), foi encontrada murchando e parasitada pelos biovars I e III de *R.s.* É a primeira citação dessa planta como hospedeiro do parasita.

A murcha bacteriana causada por *R.s.*, apresenta-se, incontestavelmente, como o maior problema do cultivo das solanáceas na maioria das áreas produtoras do estado do Amazonas, principalmente do ecossistema de várzea, aceitando níveis de agressividade extremamente elevados, impedindo rendimentos aceitáveis mesmo em cultivares de tomate considerados resistentes. Constatou-se também a importância do mesmo parasita como fator limitante para o cultivo da bananeira (doença do Moko) nas mesmas áreas.

O biovar II encontrado pela primeira vez, em áreas recém desmatadas, sobre primeiro ano de cultivo do tomate, oferece um assunto de pesquisa interessante. Seria importante conhecer os hospedeiros naturais desse biovar e as suas possibilidades de extensão no futuro.

Tomando em consideração os resultados do autor Lopes *et al.* (1994) em relação aos níveis de agressividade dos biovars I e III de *R.s.*, faz-se necessário uma melhor avaliação da patogenicidade desses dois biovars objetivando verificar se o patógeno é o fator responsável pela quebra da resistência em tomateiros na área de várzea.

Conhecendo os tipos de estirpes que ocupam uma determinada zona, poderá melhor adaptar a resistência da planta hospedeira a essas estirpes. Aqui fica o interesse desse trabalho de levantamento e de caracterização do parasita.

- Buddenhagen, I.; Sequeira, L.; Kehlman, A. 1962. Designation of races in *pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:726.
- FAHY, P. & PERSLEY, G. 1983. PLANT BACTERIAL DISEASES : A DIAGNOSTIC GUIDE. ACADEMIC PRESS, SYDNEY, 393 P.
- GILLINGS, M.R. & FAHY, P. 1994. GENOMIC FINGERPRINTING : TOWARDS A UNIFIED VIEW OF THE *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM* SPECIES COMPLEX. PÁGINAS 95-112 IN: HAYWARD, A.C. & HARTMAN, G.L. *BACTERIAL WILT: THE DISEASE AND ITS CAUSATIVE AGENT, PSEUDOMONAS SOLANACEARUM*. CAB INTERNATIONAL. WALLINGFORD.
- Hayward, A. C. 1964. Characteristics os *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology* 27: 265-227.
- LOPES,C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M.; MELO, P.E. 1994. DIFFERENTIAL RESISTANCE OF TOMATO CULTIGENS TO BIOVARS I AND III OF *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM*. *PLANT DISEASE* 78:1091-1094.
- Lourd, M.; Noda, H.; Alves, M.L.B. 1988. Principais fungos e bactérias patogênicos das plantas olerícolas na região de Manaus. *Fitopatologia brasileira* 13: 25-27.
- Pereira, L.V. & De Souza Normando, M.C. 1993. Sobrevivência de *Pseudomonas solanacearum* raça 2 em solos de terra-firme do estado do Amazonas. *Fitopatologia brasileira* 18 : 137-142.
- Romeiro, R. S. 1995. *Bactérias Fitopatogênicas*. Viçosa, Imprensa Universitária, UFV. 283p.