

UM MÉTODO PARA SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA RESISTENTES À MURCHA-BACTERIANA PELA INOCULAÇÃO DE MUDAS EM CASA DE VEGETAÇÃO E TESTE DE CAMPO

Carlos A. Lopes^{*1}, Paulo E. Melo¹, Maurício Rossato^{*2}, Zilmar S. Souza³

Resumo

Foi desenvolvido e avaliado um método de seleção de clones de batata para resistência à murcha-bacteriana a partir do cruzamento entre os clones resistentes, MB-03 e MB9846-01, e a cultivar Baraka. Sementes verdadeiras foram semeadas em bandejas, transferidas para copos de plástico de 250 mL e inoculadas com 10mL de suspensão de um isolado da raça 3 de *Ralstonia solanacearum*, contendo aproximadamente 10^7 ufc/mL. Os mini-tubérculos das plantas sobreviventes formados nesses copos (clones pré-selecionados) foram multiplicados em vasos de 3L e, os tubérculos aí produzidos, plantados em campo naturalmente infestado com a raça 1 da bactéria. A sobrevivência das plantas pré-inoculadas em copos foi de 16,0 e 16,1%, respectivamente para os cruzamentos MB-03 x Baraka e MB9846-01 x Baraka. Quando tubérculos das plantas sobreviventes dessas duas famílias foram avaliados em campo naturalmente infestado, a sobrevivência foi de respectivamente 21,1% e 55,8%, comparados com apenas 3% de sobrevivência quando tubérculos dessas duas famílias não foram pré-selecionados em copos.

Introdução

A murcha-bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabbuchi et al (1995), é uma das principais doenças da batata (*Solanum tuberosum* L.) em regiões de clima tropical e subtropical. Provoca perdas significativas sob alta umidade do solo e alta temperatura e nenhuma forma individual de controle tem sido eficaz em cultivos submetidos a essas condições (French, 1994; Lopes, 2005). No Brasil, a batata é afetada pela raça 1 (biovar 1) e pela raça 3 (biovar 2) do patógeno. A primeira é mais comum na Região Centro-Oeste e, a segunda, nas regiões de clima mais ameno do Sul e Sudeste, embora de forma não exclusiva face à eficiente disseminação de inóculo via batata semente com infecção latente (Lopes, 2005).

Embora o uso de cultivares resistentes seja considerado o método mais elegante de controle de doenças, principalmente por ser de fácil adoção pelos agricultores e não onerar os custos de produção, a resistência praticamente não tem sido utilizado no caso da murcha-bacteriana da batata. Isso se deve à lentidão no progresso do melhoramento (não há fontes de resistência na espécie cultivada), à propagação vegetativa para fins comerciais dessa espécie, com dormência de brotação, e, também, à sua complexidade genética inerente à herança tetraplóide. Além disso, os níveis de resistência encontrados em bancos de germoplasma são baixos e pouco estáveis no tempo e no espaço em virtude da alta variabilidade do patógeno e da instabilidade da resistência do tipo horizontal (sensu Vanderplank) a variações climáticas (Nielsen & Haynes, 1960; Tung et al., 1990; French & De Lindo, 1982).

A busca de fontes de resistência em batata à murcha-bacteriana na Embrapa Hortaliças foi iniciada na década de 1980 pela implementação de um projeto de colaboração entre o Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças e o Centro Internacional de la Papa (CIP) (Lopes et al., 1998). Nesse período, os avanços foram lentos, pois, na falta de uma metodologia eficiente, insistiu-se por muitos anos em selecionar inicialmente os clones pelo tipo de tubérculo e, então, avaliar esses clones para resistência à doença, plantando-os em solo naturalmente infestado com a raça 1, biovar 1 de *Ralstonia solanacearum*, em Brasília, DF. Essa metodologia, entretanto, restringiu significativamente a probabilidade de avançar no quesito resistência, de frequência muito baixa, aliada ao fato de que a seleção para tipo de tubérculos era difícil porque havia forte segregação de características indesejáveis vindas dos genitores resistentes. Essas características consistiam, por exemplo, em desuniformidade de cores da película, olhos profundos, tubérculos achatados e aderência do estolão, herdadas das espécies silvestres utilizadas como genitores resistentes, tais como *Solanum sparsipilum*, *S. phureja*, *S. chacoense* e *S. microdontum*. Passou-se então a uma seleção mais suave para tipo

¹ Pesquisadores da Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70.359-970 Brasília, DF. E-mail: clopes@cnph.embrapa.br; paulo@cnph.embrapa.br

² Estudante das Faculdades da Terra de Brasília, Faculdade da Terra de Brasília, Av. Recanto das Emas, A/E QD 203, Lote 32, 72.600-000 Brasília – DF

³ Pesquisador da Epagri - EE de São Joaquim, C. Postal 81, 88.600-000, São Joaquim, SC.

* Bosistas do CNPq

de tubérculos, o que possibilitou a seleção dos clones MB-03 (Lopes et al., 2004) e do clone MB9846-01, ambos com resistência derivada de *S. phureja*. Embora esses clones ainda estejam distantes em termos de aparência do tipo comercial desejado pelo consumidor brasileiro, significam um grande avanço quando comparados ao padrão internacional de resistência, o clone Cruza 148. Este, embora com bom nível de resistência, não é um bom genitor pelo fato de transmitir um grande número de características indesejáveis à progênie (Lima, 2005; Tung et al., 1990). Além de possuir características de tubérculos superior às dos clones Cruza 148, o clone MB-03 apresentou nível de resistência de campo similar ao de 'Cruza 148', quando plantados em campos infestados com as raças 1 e 3 do patógeno (Silveira, 2002; Lima, 2005).

O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia de seleção para resistência de clones de batata à murcha-bacteriana, avaliando-a em duas famílias clonais de cruzamentos entre clones resistentes selecionados na Embrapa Hortaliças e a cultivar Baraka, privilegiando inicialmente a resistência à doença, para posterior seleção para aparência do tubérculo em clones resistentes.

Material e Métodos

Para desenvolvimento e avaliação da metodologia de seleção, sementes verdadeiras de duas famílias clonais (50 e 51), geradas a partir do cruzamento entre clones os resistentes MB03 e MB 9846-01 e a cultivar Baraka, foram semeadas em bandejas de isopor de 288 células, contendo substrato comercial Plantmax^R. Vinte dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para copos de plástico de 250 mL contendo o mesmo substrato misturado com solo esterilizado com iguais proporções. As mudas foram mantidas em casa de vegetação protegida com tela anti-afídica, bem arejada e com boa luminosidade para evitar estiolamento. Dez dias após o transplante, as mudas foram inoculadas vertendo-se na base da planta 10 mL de suspensão bacteriana (aproximadamente 10^7 ufc/mL), preparada com isolado virulento RS CNPH 252, raça 3, biovar 2 de *Ralstonia solanacearum*, procedente do Estado do Paraná. Plântulas em duzentos copos de cada cruzamento foram mantidos sem inoculação.

As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com temperatura de 20°C-40°C, com aquecimento noturno, essencial para garantir a infecção e reduzir a frequência de escapes. Sintomas de murcha foram observados a partir de cinco dias após a inoculação. A cada três dias, os copos contendo plantas murchas foram retirados e descartados. Os mini-tubérculos originados de plantas inoculadas (pré-seleção) e não inoculadas (sem pré-seleção) produzidos nos copos foram colhidos 95 dias após a semeadura, colocados em copos de plástico de 50 mL (copo de cafezinho), quando receberam identificação clonal. Esses tubérculos foram mantidos por 30 dias em câmara fria para estimular a brotação, que ocorreu para a maioria dos clones após 60 dias. A cada semana, esses tubérculos foram vistoriados, sendo eliminados os secos e os podres.

Os mini-tubérculos brotados foram então multiplicados em vasos de 3L, contendo solo esterilizado misturado com substrato, em casa telada na Embrapa Hortaliças. Após 90 dias, os tubérculos foram colhidos e mantidos em câmara fria até a brotação, que ocorreu após 60 dias na maioria dos clones. Desta maneira, foram obtidos 38 clones pré-selecionados da família 50 (MB-03 x Baraka) e 52 clones da família 51 (MB 9846-01 x Baraka). Estes 90 clones pré-selecionados e os clones não pré-selecionados testemunhas, 62 e 64 respectivamente das mesmas famílias, foram plantados em campo, na Embrapa Hortaliças, em área naturalmente infestada com a raça 1, biovar 1 de *Ralstonia solanacearum*. Foram plantados de dois a quatro tubérculos de tamanho médio de cada clone, alternando-se parcelas formadas por dez clones de cada cruzamento. Como testemunha suscetível, foram plantados cinco tubérculos da cultivar Monalisa a cada dez parcelas de clones experimentais.

Resultados e Discussão

Sintomas da murcha-bacteriana no campo apareceram 25 dias após o plantio (DAP), porém desenvolvendo-se mais rapidamente a partir da amontoa, realizada 32 DAP. A uniformidade do campo experimental foi adequada, conforme observado pelo murchamento bem distribuído da testemunha suscetível entre as parcelas experimentais.

Para ambas as famílias clonais, a porcentagem de seleção em copos em casa de vegetação foi similar, respectivamente de 16,0% e 16,1% (Tabela 1). Entretanto, quando os clones pré-selecionados foram plantados em campo, a família 51 teve maior porcentagem de plantas sobreviventes, 55,8% em comparação com 21,1% da família 50 (Tabela 1). Quando não houve pré-seleção, o comportamento das duas famílias também foi semelhante, com 3,2 e 3,1 % de sobrevivência (Tabela 1), respectivamente, indicando que a pré-

seleção foi efetiva, mesmo se usando raças diferentes do patógeno na seleção em copos (raça 3, biovar 2) e em campo (raça 1, biovar 1).

Quando se consideram as duas seleções, a família 51 também proporcionou maior porcentagem de seleção, com 4,5 % em relação ao número inicial de clones, em comparação com a família 50, com 1,9 % (Tabela 1). A maior porcentagem de seleção da família 51 pode ser explicada pela melhor adaptação do genitor resistente, MB 9846-01, à condição de Cerrado, visto que ele o clones foi selecionado nestas condições e é bem mais produtivo do que o clone MB-03 (dados não publicados).

Tabela 1. Porcentagem de sobrevivência de plantas de batata-pré-selecionadas ou não pela inoculação de mudas com *Ralstonia solanacearum* raça 3 (biovar 2) em copos em casa de vegetação, com posterior plantio em campo naturalmente infestado com a raça 1 (biovar 1) do patógeno. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2009.

Família	Pré-seleção (raça 3)*			Seleção em campo (raça 1)**			
	Genótipos inoculados	Sobreviventes	% Sobrevivência	Clones plantados	Clones selecionados	% Seleção	% Seleção total
(50) MB-03 x Baraka	431	69	16,0	38	8	21,1	1,9
(51) MB9846-01 x Bar	639	106	16,1	52	29	55,8	4,5
(50) MB-03 x Baraka	-	-	-	62	2	3,2	-
(51) MB9846-01 x Bar	-	-	-	64	2	3,1	-

* Pré-seleção em copos, em casa de vegetação, fev/mar 2007, com isolado de *R. solanacearum* raça 3 (bv. 2); ** Seleção em campo naturalmente infestado, jun/set 2008, com a raça 1 (bv. 1) de *R. solanacearum*, Brasília, DF.

Conclusões

- A pré-seleção de genótipos de batata para resistência à murcha-bacteriana pela inoculação de mudas em copos de plástico de 250 mL permite avaliar grande número de plantas em espaço relativamente pequeno;
- A pré-seleção em copos foi efetiva, pois elevou a sobrevivência de plantas em campo (condição natural de infecção) quando comparada com ausência de pré-seleção dos clones;
- A seleção de campo é essencial por permitir selecionar genótipos mais adaptados ao ambiente, característica importante quando se trata de resistência do tipo horizontal à murcha-bacteriana;
- O clone resistente MB9846-01 gerou um progênie com maior índice de seleção em campo em comparação com o clone resistente MB-03, quando ambos foram cruzados com a cultivar Baraka;
- As duas fases consecutivas de seleção (pré-seleção e campo) indicaram que menos de 5% de genótipos originados de cruzamentos entre clones resistentes e suscetíveis podem ser selecionados.

Referências

FRENCH, E. R. Strategies for integrated control of bacterial wilt of potatoes. P. 199-207 In: HAYWARD, A. C. & HARTMAN, G. L. (Eds.). *Bacterial Wilt: The Disease and its Causative Agent*, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB. 1994, 259 p.

FRENCH, E.; DE LINDO, L. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in potato: specificity and temperature sensitivity. *Phytopathology* v.72, p.1408-1412, 1982.

LIMA, A.F. *Avaliação da resistência de clones e cultivares de batata à murcha bacteriana (Ralstonia solanacearum)*. 2005. 93f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

LOPES, C.A. A situação da murcha bacteriana da batata no Brasil In: LOPES, C.A. & NELSON, E.R. (Compiladores). *Enfermedades Bacterianas de la Papa: Memorias del taller sobre enfermedades bacterianas de la papa*. Lima: CIP/EMBRAPA/CNPH, 1994. p.7-9.

LOPES, C.A.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; BUSO, J.A. MB 03: clone de batata resistente à murcha bacteriana. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, Dezembro de 2004. Embrapa Hortaliças. 17p.

LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M.; BUSO, J.A.; MELO, P.E. Breeding for resistance to bacterial wilt of potatoes in Brazil. P. 290-293 In: PRIOR, P.; ALLEN, C.; ELPHINSTONE, J. (Eds.) *Bacterial Wilt Disease. Molecular and Ecological Aspects*. Springer, Berlin. 1998. 447 p.

LOPES, C.A.; NAZARENO, N.R.X.; FURIATTI, R.S. Prevalência, mas não exclusividade, da raça 3 de *Pseudomonas solanacearum* em batata no Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, v. 18, Suplemento, p.312, 1994. Resumo.

LOPES, C.A.; LIMA, B.J.C.; BUSO, J.A. Reaction of Brazilian potato varieties to bacterial wilt. *Biological & Cultural Tests*, v.8, p.38. 1993.

NIELSEN, L.W. & HAYNES, F.L. Resistance in *Solanum tuberosum* to *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal*, v.37, p.260-267, 1960.

QUEZADO-SOARES, A.M.; LOPES, C.A. Desempenho de cultivares de batata em solo infestado com *Ralstonia solanacearum*, raça 1. *Horticultura Brasileira* v.17, n.3, p.244-247. 1999.

SILVEIRA, J. R. P. *Aspectos epidemiológicos e de resistência à Ralstonia solanacearum na cultura da batata no Rio Grande do Sul*. 2002. 104 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2002.

TUNG, P. X.; RASCO, E. T.; ZAAG, P. V.; SCHMIEDICHE, P. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in the potato: I Effects of sources of resistance and adaptation. *Euphytica*, **Alexandria**, v. 45, n.3, p. 203-210, 1990.