

SEVERIDADE DE ISOLADOS DE *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* SENSÍVEIS E RESISTENTES AO BENOMYL, EM ABACAXIZEIRO

BIVANILDA A. SANTOS¹, LAÉRCIO ZAMBOLIM¹, JOSÉ A. VENTURA² & FRANCISCO XAVIER R. VALE¹

¹Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG, e-mail: zambolim@ufv.br; ²Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural, Cx. Postal 391, 29010-901, Vitória, ES

(Aceito para publicação em 08/10/2001)

Autor para correspondência: Laércio Zambolim

SANTOS, B.A., ZAMBOLIM, L., VENTURA, J.A. & VALE, F.X.R. Severidade de isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* sensíveis e resistentes ao benomyl em abacaxizeiro. *Fitopatologia Brasileira* 27:101-103. 2002.

RESUMO

Mudas das cultivares de abacaxi (*Ananas comosus*) 'Pérola' (suscetível) e 'Primavera' (resistente) foram inoculadas em casa de vegetação com isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*, resistentes e sensíveis ao benomyl, de diferentes áreas produtoras de abacaxi do Espírito Santo, visando estudar a virulência do patógeno. Foi utilizada suspensão de conídios obtidos pela raspagem da superfície das colônias desenvolvidas em meio BDA, cuja concentração final foi 10⁵ conídios/ml. A inoculação de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* foi efetuada pela imersão de mudas injuriadas mecanicamente na base, com três meses de idade, na suspensão de inóculo. Dos 22 isolados testados preliminarmente, selecionou-se oito de *F. subglutinans* f. sp. *ananas*, sendo quatro representativos do grupo dos sensíveis ao benomyl (E285, E277, E278 e E290) e quatro representativos do grupo dos resistentes

ao benomyl (E272, E274, E279 e E283) para realização do teste final. Os resultados comprovaram a resistência da cv. Primavera a todos os isolados testados. Plantas da cv. Pérola apresentaram sintomas da doença aos 15 dias após a inoculação com isolados resistentes ao benomyl; os isolados sensíveis ao benomyl só foram capazes de causar sintomas severos da doença aos 45 e 60 dias após a inoculação. O isolado E272, resistente ao benomyl, foi o mais virulento, tendo causado a maior lesão e a morte das plantas aos 30 dias após a inoculação; os isolados E277 e E278 foram os mais virulentos. Houve diferenças em virulência de isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* resistentes e sensíveis ao benomyl ao abacaxizeiro.

Palavras-chave adicionais: *Ananas comosus*, fusariose, resistência, benomyl.

ABSTRACT

Severity of isolates of *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* resistant or not to benomyl on pineapple

Out of 22 isolates of *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* tested in preliminar trials, it was selected for the final experiment four isolates representing the resistant group (E272, E274, E279 e E283), and four representing the susceptible group (E285, E277, E278 e E290) of *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* to benomyl. The isolates were collected on diseased pineapple plants from the southern area of the Espírito Santo State, and inoculated on three months old pineapple (*Ananas comosus*) seedlings, cv. Perola (susceptible) and Primavera (resistant), under greenhouse conditions, to study the virulence of the pathogen. The pineapple seedlings were inoculated by immersion of the seedlings in a conidial suspension (10⁵ conidia/ml) scratched from PDA plates, after they had been

injured on their crown area. The results showed that the cv. Primavera was resistant to all isolates tested. The cv. Perola showed symptoms of fusariosis 15 days after the inoculation with the isolates resistant to benomyl. The isolates susceptible to benomyl caused symptom of the disease 45 days after the inoculation. The isolate E272 (resistant to benomyl) was the most virulent isolate to cv. Perola, whereas the isolates E277 and E278 (susceptible) to benomyl were the least virulent. The susceptible isolates to benomyl caused symptoms of the disease on the cv. Perola 45 and 60 days after the inoculation. In conclusion this study showed that there are differences in virulence between the isolates of *F. subglutinans* f. sp. *ananas* resistant and susceptible to benomyl to pineapple.

Dentre todas as doenças do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), a fusariose destaca-se por ser a que maiores prejuízos econômicos traz aos produtores, uma vez que as perdas podem atingir até 100% da produção. No Brasil, as duas cultivares mais plantadas são a 'Pérola' e a 'Smooth Cayenne', ambas suscetíveis à doença constituindo base genética estreita, dificultando os programas de melhoramento (Giacomelli, 1974; Py, *et al.* 1984). A doença, relatada pela primeira vez por Kimati & Tokeshi (1964) no estado de São Paulo em frutos da cultivar 'Smooth Cayenne', atual-

mente já se encontra disseminada por todo o país e em alguns países da América Latina. Os sintomas mais característicos da doença são alterações morfológicas das plantas doentes, bem como exsudação de goma ou resina, daí a doença ser conhecida, inicialmente, por gomose (Pissarra *et al.*, 1979). O agente etiológico é o fungo *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas f. sp. *ananas* Ventura, Zambolim & Gilbertson que apresenta especificidade para o abacaxizeiro (Ventura *et al.*, 1993a; Ventura *et al.*, 1994; Ventura, 1996). Para o controle da

doença recomenda-se a integração de medidas que incluem o plantio de material propagativo sadio, a erradicação de plantas doentes, a eliminação dos restos culturais, a uniformização da indução floral e o controle químico com fungicidas durante a antese (Ventura *et al.*, 1993b). O uso constante do fungicida sistêmico benomyl para o controle da doença tem induzido o aparecimento de isolados do fungo resistentes (Ventura *et al.* 1994; Santos, 2000), comprometendo o uso deste fungicida no controle da doença. O uso de cultivares de abacaxi resistentes é uma das alternativas mais viáveis para o controle da doença (Matos & Cabral, 1988; Matos *et al.*, 1991). Cabral *et al.* (1985) identificaram as cultivares ‘Pérola’ e ‘Primavera’ como fontes de resistência para programas de melhoramento, tendo o Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas-Bahia recomendado o seu uso em áreas onde a doença é endêmica (Ventura *et al.*, 1994). O desenvolvimento de programas de melhoramento visando resistência genética a uma determinada doença, requer o conhecimento prévio da variabilidade genética do patógeno. Portanto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar a severidade de isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* resistentes e sensíveis ao benomyl, nas cultivares ‘Pérola’ (suscetível) e ‘Primavera’ (resistente) ao patógeno.

Vinte e dois isolados do patógeno foram coletados inicialmente de plantas suscetíveis (cvs. Pérola e Smooth Cayenne) a fusariose, de regiões produtoras de abacaxi do Estado do Espírito Santo. Após a realização de testes preliminares de patogenicidade na cv. Pérola, selecionaram-se oito isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* sendo quatro sensíveis ao benomyl, denominados E285, E277, E278 e E290 e, quatro resistentes, denominados E272, E274, E279 e E283, que foram armazenados em tubos de cultura contendo BDA à temperatura de 5 °C. Os 22 isolados do patógeno foram obtidos pelo método indireto, plaqueando fragmentos do tecido doente de mudas de abacaxizeiro das cultivares ‘Pérola’ e ‘Smooth Cayenne’. Os segmentos de tecidos lesionados foram inicialmente desinfestados superficialmente por imersão (2-3 min) em solução de hipoclorito de sódio a 2% e transferidos para meio semi-seletivo constituído de 15 g de peptona, 1 g de KH_2PO_4 , 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1g de pentacloro-nitrobenzeno (PCNB 75%), 20 g de agar e 1 l de H_2O . O meio foi previamente autoclavado e quando a temperatura atingiu 45 °C, adicionaram-se 200 mg de cloranfenicol e 200 mg de sulfato de estreptomicina. Após repicagem para placas de Petri os fungos foram incubados a 25 °C no fotoperíodo diário de 12 h por 15 dias. Os isolados obtidos foram avaliados quanto à resistência ao fungicida benomyl, determinando-se a DL_{50} para a germinação dos conídios e para o crescimento micelial de acordo com Santos (2000). Os isolados resistentes a até 1.000 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de benomyl foram selecionados para este trabalho, comparando-os com isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* sensíveis. Foram utilizadas mudas do tipo filhote, com três meses de idade, das cultivares ‘Pérola’ e ‘Primavera’ provenientes da INCAPER. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, onde as

mudas foram cultivadas em vasos de plástico com capacidade para 2 kg, contendo a mistura de solo e areia (4:1) v/v. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, tendo cada repetição dez mudas. A irrigação das plantas foi feita sempre que necessária e a adubação realizada a cada 30 dias com NPK, conforme recomendação para a cultura. Para a inoculação foi utilizada uma suspensão de conídios obtidos da raspagem da superfície das placas com crescimento do fungo, cuja concentração final foi ajustada para 10^5 conídios. ml^{-1} , utilizando-se câmara de Neubauer. A inoculação das mudas foi efetuada pela imersão na suspensão de inóculo, após injúria mecânica na base, realizada com o auxílio de um dispositivo de 60 agulhas entomológicas (Ventura *et al.*, 1994). Após 90 dias, realizou-se o arranquio e a avaliação dos sintomas internos na base das mudas inoculadas por meio da mensuração do tamanho da lesão em relação ao local de inoculação, bem como a adoção de um sistema de escala de notas de 1 (um) a 6 (seis), onde 1= sem sintoma interno; 2= início de podridão; 3= podridão leve; 4= podridão média; 5= podridão severa, e 6= base da muda totalmente podre, ocorrendo morte da planta. No segundo ensaio, quando se procurou avaliar o tempo necessário para que cada isolado provocasse os sintomas da doença em mudas da cv. Pérola, as avaliações foram efetuadas a cada 15 dias, anotando-se a expressão dos sintomas externos, observando-se seca das folhas basais, clorose foliar, morte da muda, exsudação de goma, lesão local na inoculação, e adotando-se um sistema de escala de notas de 1 (um) a 4 (quatro), onde, 1= ausência de sintoma, 2= clorose foliar, 3= exsudação de gomas e 4 = mudas mortas. Os ensaios foram repetidos sendo obtido resultados semelhantes. As cultivares ‘Pérola’ e ‘Primavera’ apresentaram comportamento diferenciado. Verificou-se que, quanto ao tamanho de lesão, o isolado E272 foi o que causou lesão de maior tamanho em mudas da cv. ‘Pérola’, seguido pelo isolado E290 embora não diferissem a 5 % de probabilidade. Os isolados E283 e E278 diferiram dos demais e foram os menos virulentos. Em posição intermediária situaram-se os isolados E274, E279, E285. A cv. Primavera não mostrou reação visível a qualquer dos isolados testados (Tabela 1). Em se tratando do tempo para que cada isolado do fungo manifestasse sintomas da doença, verificou-se que o isolado E272, resistente ao benomyl, produziu exsudação e causou morte das mudas aos 15 e 30 dias, respectivamente. Para os isolados E277 e E278 (sensíveis ao benomyl), observou-se morte das mudas aos 75 dias após o início do teste. Todos os isolados sensíveis ao benomyl só causaram os primeiros sintomas da doença aos 45 dias da inoculação (Tabela 2). Portanto, ficou comprovado que houve diferenças quanto ao comportamento dos isolados testados no tocante ao tempo em que cada um levou para causar a morte das mudas. Na cv. Primavera, observou-se apenas um leve escurecimento no local da inoculação, provavelmente devido a injúria causada pelo ferimento realizado para a inoculação, não ocorrendo colonização dos tecidos. Na avaliação final, os resultados demonstraram que

TABELA 1 - Severidade de isolados de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* resistentes e sensíveis ao benomyl em mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus*)

Isolado	Benomyl*	Lesão/ Cultivar**	
		Pérola	Primavera
E272	+	6,5 a ^x	0,0
E290	-	5,8 a b	0,0
E277	-	5,3 b	0,0
E274	+	5,2 b c	0,0
E279	+	5,1 b c	0,0
E285	-	4,5 c	0,0
E283	+	3,4 d	0,0
E278	-	3,4 d	0,0

CV(%) 12,8

* Reação do fungo ao fungicida benomyl : (+) resistente; (-) sensível;

** Lesão baseada na escala de notas de 1 (um) a 6 (seis), onde 1= sem sintoma interno; 2= início de podridão; 3= podridão leve; 4= podridão média; 5- podridão severa, e 6= base da muda totalmente podre, ocorrendo morte da planta.

x Médias de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan (P=0,05).

TABELA 2 - Tempo* (dias) necessário para que cada isolado de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* manifeste sintomas em mudas de abacaxi (*Ananas comosus*) da cultivar Pérola

Isolado	Benomyl **	Dias após a inoculação				
		15	30	45	60	75
E272	+	3,6	4,0	-	-	-
E274	+	3,1	3,5	4,0	-	-
E279	+	3,1	3,6	4,0	-	-
E283	+	3,1	3,5	4,0	-	-
E277	-	1,0	1,0	2,1	3,3	4,0
E278	-	1,0	1,0	2,0	3,5	4,0
E290	-	1,0	1,0	3,1	4,0	-
E285	-	1,0	1,0	3,3	4,0	-

* Tempo medido de 15 em 15 dias de acordo com a escala de notas: 1= ausência de sintomas; 2= clorose foliar; 3= exsudação de gomas e 4= mudas mortas.

** Reação do fungo ao benomyl: (+) resistente e (-) sensível.

os isolados diferiram entre si, quando inoculados na cv Pérola, embora estes mesmos isolados não tenham causado qualquer sintoma da doença na cv Primavera.

A variabilidade genética dos patógenos dificulta os trabalhos de melhoramento genético de plantas visando o desenvolvimento de variedades resistentes às doenças. Existem ainda poucos estudos sobre a virulência entre isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas*, sendo importante o conhecimento do comportamento dos isolados, principalmente, para o seu uso em programas de melhoramento, uma vez que a

utilização de um isolado pouco virulento pode mascarar a reação dos genótipos, sem separá-los convenientemente em termos de resistência. O uso de cultivares resistentes tem sido uma alternativa promissora para o controle da fusariose. Nos testes em casa-de-vegetação, a cv Primavera mostrou-se resistente, tanto aos isolados de *F. subglutinans* f. sp. *ananas* resistentes como aos sensíveis ao benomyl. Esse estudo sugere a possibilidade do seu aproveitamento em programas de melhoramento genético que visam resistência a esse patógeno, bem como na identificação de genes de resistência à doença. Em conclusão este estudo mostrou que há diferenças na virulência entre os isolados resistentes e sensíveis a benomyl de *F. subglutinans* f. sp. *ananas*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CABRAL, J.R.S., MATOS, A.P. & SOUTO, G.F. Reação de germoplasma de abacaxi à inoculação com *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 20:787-791. 1985.
- GIACOMELLI, E.J. Apontamentos das aulas de abacaxicultura. SUDENE/UFRPE, 1974.
- KIMATI, H. & TOKESHI, H. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. causando resinose em abacaxi. Revista de Agricultura 39:131-33. 1964.
- MATOS, A.P. & CABRAL, J.R.S. Interação entre variedades de abacaxi e isolados de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Revista Brasileira de Fruticultura 10:55-61. 1988.
- MATOS, A.P., MOURICHON, X. & LAPEYRE, F. Reaction of pineapple accessions to inoculation with *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Fruits 46:647-652. 1991.
- PISSARRA, T.B., CHAVES, G.M. & VENTURA, J.A. Sintomatologia da fusariose (*Fusarium moniliforme* Scheld. var. *subglutinans* Wr. & Rq.) do abacaxizeiro, Fitopatologia Brasileira 4:225-263. 1979.
- PY, C., LACOEUILHE, J.J & TEISSON, C. L'Ananas sa culture, ses produits. Paris, G. M. Maisonneuve et Larose, 1984.
- SANTOS, B.A. Resistência do Abacaxizeiro a Fusariose: Análise Molecular do Patógeno e do Hospedeiro. (Tese de Doutorado). Viçosa. Minas Gerais. 2000.
- VENTURA, J.A. Fusariose do Abacaxizeiro: Caracterização do patógeno, epidemiologia da doença, resistência e micropropagação da hospedeiro *in vitro*. (Tese de Doutorado). Viçosa. Minas Gerais. 1996.
- VENTURA, J.A., COSTA, H. & ZAMBOLIM, L. Resistência de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* ao benomyl em condições de campo. Fitopatologia Brasileira 19:328. 1994.
- VENTURA, J.A., ZAMBOLIM, L. & GILBERTSON, R.L. Proposição de nova forma specialis em *Fusarium subglutinans* no abacaxizeiro. Fitopatologia Brasileira 18:280. 1993a.
- VENTURA, J.A., ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Integrated management system for pineapple *Fusarium* disease control. Acta Horticulturae 334:439-453. 1993b.