



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DE ABACAXIZEIROS (*Ananas comosus*) QUANTO À
RESISTÊNCIA AO *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

Katiere Soares

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Uberlândia para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Junho – 1998



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DE ABACAXIZEIROS (*Ananas comosus*) QUANTO À
RESISTÊNCIA AO *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

Katiere Soares

Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr

(Orientador)

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Uberlândia para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG

Junho – 1998



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DE ABACAXIZEIROS (*Ananas comosus*) QUANTO À
RESISTÊNCIA AO *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

Katiere Soares

Aprovada pela banca examinadora em 23/06/1998

Nota: 20,0

Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr
(Orientador)

MSc. Cícero Donizete Pereira
(Conselheiro)

Prof.ª Dr.ª Cecilia Lomônaco de Paula
(Conselheira)

Uberlândia, 23 de Junho de 1998.

À meus pais, Dirceu Soares e Ilda Fracarolli Soares, e ao meu irmão Fredi Lucas Soares, que sempre me apoiaram em todos os momentos, e por meu amor e admiração a eles.

“Entre erros e acertos, fizemos o que nos foi possível fazer. Cada um, um pouco à sua maneira, lutou, nos seus estreitos limites, pelos ideais de que estava imbuído.”

(Maria Yeda Linhares)

AGRADECIMENTOS

À Deus e à Jesus Cristo, que caminharam junto comigo durante toda esta etapa da minha vida.

Ao Dr. Warwick Estevam Kerr pela grande orientação, amizade e por transmitir um pouco de sua sabedoria e experiência de vida.

Ao Mestrando Cícero Donizete Pereira pelos ensinamentos, companheirismo, amizade e indispensável colaboração.

À prof. Dra. Cecília Lomônaco pelas sugestões e disponibilidade.

À todos os componentes do Laboratório de Genética da UFU.

À colega Claudia Costa e às amigas de república: Claudia C. de Toledo, Fernanda e Lenita Lima Haber, pelo apoio e amizade.

Às amigas Paula Ripamonte e Marta M. Malheiros pela colaboração na finalização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Cultura de Tecidos, Frederico W. Mazzonetto e Ana Paula Ribeiro.

RESUMO

O Brasil tem uma expressiva participação na produção mundial de abacaxi, sendo classificado como quinto produtor mundial. Os Estados da Paraíba, Minas Gerais, São Paulo e Espírito Santo, representam 84,8% da área de cultivo no país (VENTURA, 1994). Em Minas Gerais, destaca-se o Triângulo Mineiro. Estas áreas apresentam relevância da fruticultura para a economia da região produtora. Apesar desta constatação, existem fatores limitantes dessa cultivar no país como a incidência da fusariose, que causa perdas estimadas em torno de 30 a 40%, chegando em algumas regiões a perdas em frutos superiores a 80% (RUGGIERO, 1994). A etiologia da doença tem sido associada a uma forma específica do fungo para abacaxizeiro, *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*. Assim sendo, avaliamos clones das cultivares Quinari, Império, Cabeça-de-Onça X Império (CI₇) e Quinari X Pérola (QP₃₁) e a testemunha Pérola, testando-as quanto à resistência à fusariose, com o intuito de substituir as cultivares suscetíveis à doença por outras resistentes. Utilizou-se a técnica de micropropagação *in vitro* de gemas axilares, a fim de se obter material vegetativo completamente isento de qualquer doença. Realizou-se o isolamento do fungo e procedeu-se a inoculação do mesmo nos cultivares por meio de ferimentos na base das mudas e imersão em uma suspensão conidial de 10⁵ conídios/ml. Mediante avaliação de sintomas macroscópicos, verificou-se a eficiência da inoculação, já que a cultivar Pérola (usada como testemunha), suscetível à fusariose, apresentou 100% de mudas doentes. Verificou-se também que a

cultivar Quinari, assim como os híbridos CI₇ e QP₃₁, são suscetíveis à doença, já que 92, 83 e 100%, respectivamente, das plântulas inoculadas apresentaram sintomas da doença. Já a cultivar Império, mostrou-se resistente à doença, apresentando 100% de mudas sadias. Os sintomas nas mudas doentes foram facilmente identificados perante a exsudação de goma no caule das mudas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	1
1.2 Classificação e caracterização	2
1.3 Propagação	3
1.4 Micropropagação <i>in vitro</i> do abacaxizeiro	4
1.5 Aspectos econômicos	5
1.6 Fusariose	6
1.7 Técnicas de inoculação do <i>Fusarium subglutinans</i> f. sp. <i>ananas</i>	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 Material biológico	10
2.2 Propagação de gemas axilares de abacaxi <i>in vitro</i> no laboratório de cultura de tecidos	13
2.3 Transferência das plântulas para o solo em casa de vegetação ...18	
2.4 Isolamento do <i>Fusarium subglutinans</i> f. sp. <i>ananas</i>	18
2.5 Inoculação do <i>Fusarium subglutinans</i> f. sp. <i>ananas</i>	21
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4. CONCLUSÃO	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico

O abacaxi, *Ananas comosus* (L.) Merrill (Bromeliaceae), foi descoberto para o velho mundo em 4 de Novembro de 1493, quando Cristovão Colombo descobriu a Ilha de Guadalupe, onde encontrou, experimentou e gostou do fruto, cujas plantas eram amplamente disseminadas na América Tropical (ANDRADE, 1982).

Em 1502 e 1503, Colombo relata a presença de culturas indígenas de abacaxi nas costas do Panamá, nos locais por ele denominados de Belen e Puerto Bello (MEDINA, 1987).

Gonzalo Fernandez de Oivedo y Valdés, enviado pelo rei Fernando, em 1513, ao Novo Mundo, foi o primeiro a fazer uma descrição da planta, ilustrando-a com desenhos, que foram publicados em 1535 (MEDINA, 1987).

A expansão do ananás no mundo seguiu de perto a abertura de grandes vias marítimas pelos espanhóis e portugueses durante o século XVI. Os

navegadores foram responsáveis por essa difusão, talvez por acaso, com o carregamentos do fruto a bordo dos navios para consumo, durante as viagens e abandono das coroas nos vários portos de desembarque da África e Ásia, e que ali se prestaram como primeiro material de multiplicação natural (PEREIRA, 1995).

Atualmente, o abacaxi é um autêntico fruto-símbolo das regiões tropicais e subtropicais.

1.2 Classificação e caracterização

O abacaxi, *Ananas comosus*, segue a seguinte classificação:

REINO Plantae

DIVISÃO Anhophyta

CLASSE Monocotyledoneae

ORDEM Bromeliales

FAMÍLIA Bromeliaceae

GÊNERO *Ananas*

ESPÉCIE *Ananas comosus*

(JOLY, 1924)

É uma planta herbácea perene, produzindo uma infrutescência do tipo sincarpo único em uma inflorescência terminal (MEDINA,1987). É uma Bromeliaceae quase acaule, com folhas lineares, compridas, estreitas, armadas ou inermes, coriáceas, de ápice pinescente, com espinhos ou não

(PEREIRA,1995). O fruto resulta de uma inflorescência do tipo espiga, com cada um dos frutos simples ou frutinho originando-se do desenvolvimento de uma flor completa. Geralmente possui uma forma cilíndrica cônica e no seu ápice existe um tufo de folhas denominado coroa (MEDINA, 1987), exceto em um mutante desprovido de coroa.

Trata-se de uma espécie vegetal de clima tropical e subtropical, sendo muito sensível a geadas e granizos. As temperaturas elevadas costumam ser prejudiciais, causando queimadura dos frutos pelo sol, resultando em deterioração da polpa, redução do desenvolvimento vegetativo e queimadura da folhagem. Nas regiões mais frias estas plantas têm seu desenvolvimento bastante retardado (MEDINA, 1987).

Em razão das características morfológicas e anatômicas de suas folhas, o abacaxizeiro apresenta um alto grau de tolerância à seca e notável capacidade de manter crescimento em áreas onde a precipitação é restrita a uma parte do ano (MEDINA, 1987).

O abacaxizeiro pode ser produzido em uma ampla gama de solos, desde que possuam um pH variando entre 5 e 6, sejam bastante permeáveis e que os nutrientes estejam facilmente disponíveis, já que o sistema radicular do abacaxizeiro é fracamente desenvolvido.

1.3 - Propagação

O abacaxizeiro pode ser propagado sexualmente, por meio de sementes,

ou por via assexuada ou vegetativa.

A espécie é auto-incompatível e por autofecundação não são formadas sementes nos frutos partenocárpicos, o que é uma característica vantajosa do ponto de vista comercial dos frutos (PY *et al.*, 1984 *apud* VENTURA, 1994). A auto-incompatibilidade é do tipo gametófito e resulta na inibição do crescimento do tubo polínico no estigma.

A propagação assexuada implica na reprodução vegetativa de partes da planta; isto é possível porque os seus órgãos vegetativos têm capacidade de regeneração.

Na propagação convencional, são utilizados 4 tipos de mudas, formadas pelas brotações naturais em diferentes partes da planta: coroa, filhote, filhote rebentão e rebentão (RUGGIERO, 1994).

1.4 - Micropropagação *in vitro* do abacaxizeiro

A micropropagação vegetativa por meio de culturas *in vitro* constitui-se numa técnica alternativa de multiplicação do abacaxi.

A demanda do material propagativo é muito grande, já que para o plantio de um hectare são necessários de 35.000 a 70.000 mudas, dependendo do espaçamento usado. Por outro lado, a taxa média de produção por planta é relativamente pequena, variando de 3 a 6 mudas ao final de 18 meses de cultura (PY *et al.*, 1984, *apud* RUGGIERO, 1994). A disponibilidade de mudas é um problema sério para os agricultores. Assim, a técnica de propagação *in vitro* a

partir de meristemas e de gemas apicais e laterais apresenta vantagens, uma vez que possibilita a obtenção de material propagativo uniforme, livre de doenças e em grande quantidade.

A capacidade de proliferação e o rendimento de mudas obtidas são fortemente influenciadas pelo genótipo utilizado, pela composição do meio de cultura, condições de crescimento *in vitro* e aclimação (FOLLIOT e MARCHALL, 1990, *apud* VENTURA, 1994).

VENTURA (1994) demonstrou que a técnica de micropropagação *in vitro* do abacaxizeiro é um sistema rápido de clonagem quando comparado com o sistema tradicional.

1.5 - Aspectos econômicos

A importância econômica do abacaxi está na sua grande aceitação por parte dos consumidores, podendo ser utilizado como fruta fresca ou processado na forma de suco, compota, doces e bebidas, no mercado doméstico ou de exportação. O suco do abacaxi é um alimento energético, pois um copo dele (150 cm³) propicia, em média, cerca de 150 calorias ao organismo humano. O teor de açúcar do suco varia, em geral, em torno de 12 a 15%. É um adjuvante da digestão, em virtude de conter a bromelina, que transforma matérias albuminóides em proteases ou peptonas (MEDINA, 1987).

Sob o ponto de vista econômico no contexto internacional, a produção de abacaxi representou em média, 8,2% da produção total de frutas tropicais no

período de 1978 a 1983 (MORETTI *et al.*, 1987, *apud* VENTURA, 1994). A taxa média de crescimento anual da produção foi de 2,93%, superior à média de produção mundial de frutas estimada em 2,12% (FAO, 1983, *apud* VENTURA, 1994).

O maior produtor mundial é a Tailândia, com uma produção estimada de 1.900.000 toneladas, enquanto o Brasil, com 800.000 toneladas, ocupa a quinta posição (RUGGIERO, 1994).

A maioria dos principais países importadores de abacaxi *in natura* encontra-se no Continente Europeu. Entretanto, ressalta-se ainda que o Japão é o principal importador, com 113.785 toneladas (RUGGIERO, 1994).

Os Estados da Paraíba, Minas Gerais, São Paulo, Bahia e Espírito Santo foram responsáveis por 88% da produção alcançada, totalizando 30187 hectares explorados, o que representa 84,8% da área de cultivo no país (VENTURA, 1994).

Em Minas Gerais, no Triângulo Mineiro, destacam-se os municípios de Monte Alegre de Minas, Frutal, Canápolis, Centralina e Itagipe (PEREIRA, 1995). Estas regiões representam a importância relevante do abacaxi na fruticultura estadual e em particular para a economia da região produtora.

1.6 - Fusariose

Não obstante o Brasil ter uma expressiva participação na produção mundial de abacaxi, existem fatores limitantes à expansão dessa cultura no país,

destacando-se a incidência da Fusariose, sendo considerada a doença de maior importância econômica para esta cultura no país. Têm sido conhecida também pelas designações de “Gomose” ou “Resinose Fúngica”, sendo relatada pela primeira vez no Brasil por KIMATI e TOKESHI, 1964, *apud* VENTURA, 1994, no Estado de São Paulo. ROBBS *et al.*, 1965 *apud* VENTURA, 1994 descreveram a doença também no Estado do Rio de Janeiro e em Minas Gerais, acreditando que ela tenha sido introduzida no país por ocasião da importação de mudas de abacaxi da Argentina e Uruguai, por volta de 1964. Também é levantada a hipótese de que a doença já existia no Brasil há muitos anos, mas os seus sintomas vinham sendo confundidos com os da resinose causada pela lagarta do lepidóptero *Tecla basiles* (GIACOMELLI, 1974; PISSARRA *et al.*, 1979). Desde a sua primeira constatação e em menos de 15 anos a doença disseminou-se rapidamente para todas as regiões produtoras de abacaxi do país, com perdas estimadas a nível nacional em torno de 30 a 40% chegando em algumas regiões a perdas em frutos superiores a 80% (RUGGIERO, 1994). Além das perdas em frutos, a doença pode afetar ainda até 40% do material propagativo, comprometendo os plantios futuros, levando em consideração que cerca de 15 a 20% das mudas infectadas morrem antes de atingirem a fase de colheita (ESPINAL AGUILAR, 1981). Alguns autores admitem que a severidade da doença no Brasil estaria associada à temperatura favorável, durante o processo de infecção, o que não existiria em outros países produtores de abacaxi, onde a doença não ocorre (VENTURA, 1994).

A infecção em mudas geralmente ocorre quando estas ainda se encontram aderidas à planta mãe, com frutos doentes. Na parte basal da muda observa-se

uma lesão necrótica podendo haver ou não exsudação de goma. Nos estágios iniciais os sintomas são quase imperceptíveis, levando os agricultores menos experientes a utilizar em seus plantios material propagativo já doente (VENTURA, 1994). A capacidade do fungo em sobreviver no solo é reduzida, pois ele não possui estruturas de resistência (CAVALCANTE e BEZERRA, 1984).

A etiologia da doença tem sido associada ao fungo *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* (VENTURA, 1994). NELSON *et al.*, 1983, *apud* VENTURA, 1994, após uma revisão do gênero, sugeriram como mais adequada a terminologia de *Fusarium subglutinans* (Wollenw & Runking) Nelson, Tousson & Marasas, tendo em vista variáveis fisiológicas, morfológicas e genéticas.

Além do abacaxizeiro, este gênero de fungo é relatado como patógeno de diferentes hospedeiros como o milho, a batata, a cana-de-açúcar, o algodão, arroz, tomateiro, mamoeiro e *Pinus* (KIMATI *et al.*, 1997). Dentro da espécie *Fusarium subglutinans* ocorre uma variação de indivíduos, evidenciando que os isolados do fungo somente causam doença quando inoculados em hospedeiros originais. Assim, VENTURA (1994) trabalhando com fungos do gênero *Fusarium*, determinou uma forma específica do fungo para abacaxizeiro, *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

Com base nos conhecimentos epidemiológicos da doença, tem-se recomendado para o seu controle a produção de mudas saudias com a adoção da multiplicação rápida (VENTURA, 1994).

A utilização das técnicas de micropropagação *in vitro* é uma alternativa viável para a produção em massa de material propagativo, podendo ser utilizada na produção de mudas saudias das cultivares comerciais (VENTURA, 1994).

1.7 - Técnicas de inoculação do *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

MATOS e SOUTO, 1984, estabeleceram métodos de avaliação de resistência à Fusariose do abacaxizeiro utilizando mudas jovens. Entre as técnicas de inoculação, as mais conhecidas são pulverizações do inóculo; plântulas com raízes cortadas, imersas numa suspensão conidial de 10^4 conídios/ml por um período de 12 e de 24 horas; aposição de 0,1 ml do inóculo na roseta foliar de cada plântula; 1, 2 ou 3 ferimentos na base das plântulas, imersas numa suspensão conidial de 10^4 conídios/ml durante 2 minutos; infestação do solo imediatamente antes do plantio.

Outra técnica de inoculação, descrita por CABRAL e MATOS (1989) consiste em 4 ferimentos na base das plântulas, imersas numa suspensão conidial de 10^5 conídios/ml durante 3 minutos.

Levando-se em consideração a importância do desenvolvimento de cultivares de abacaxizeiro resistentes à Fusariose, este trabalho objetiva a verificação de clones (Império, Quinari, CI₇, QP₃₁) quanto à resistência à mesma, com o intuito de substituir os cultivares suscetíveis à doença por outros resistentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos, do Departamento de Genética e Bioquímica, da Universidade Federal de Uberlândia e na Casa de Vegetação do Campus Umuarama.

2.1 Material biológico

Foram utilizadas gemas axilares de coroas e mudas do tipo filhote, provenientes dos cultivares Quinari, Império e dos híbridos Cl₇ e QP₃₁, obtidos respectivamente do cruzamento de Cabeça-de-Onça X Império e Quinari X Pérola. As cultivares Quinari e Império foram trazidas do Acre pelo prof. Dr. Warwick Estevam Kerr em 1992 para Uberlândia e plantadas na Área

Experimental do Campus Umuarama. As cultivares QP₃₁ e Cl₇ são híbridos obtidos de cruzamento realizado pelo Dr. Warwick E. Kerr plantados igualmente na Área Experimental. Também foram utilizadas mudas da cultivar Pérola, obtidas de uma lavoura de abacaxi de Monte Alegre de Minas, MG (Figura 1). Esta cultivar foi utilizada como testemunha na realização do experimento.



FIGURA 1 – Cultura de abacaxi de Monte Alegre de Minas, MG

2.2 Propagação de gemas axilares de abacaxi *in vitro* no laboratório de cultura de tecidos.

No Laboratório de Cultura de Tecidos, as coroas foram lavadas e desfolhadas. Cortaram-se cubos de tecidos de aproximadamente 0,5 a 1,0 cm, contendo as gemas axilares, que foram desinfestadas numa solução de hipoclorito de sódio a 30%, contendo 3 gotas de Tween por 5 minutos, seguido de tríplice lavagem em água destilada esterilizada.

Os tecidos foram assepticamente cortados, de modo a obter explantes com 2 a 3 mm. Os explantes com as gemas foram inicialmente cultivados em frascos pequenos, de boca estreita, contendo meio de cultura básico de MS (Murashige & Skoog) (Tabela 1) (EVANS *et al.*, 1993).

O meio de cultura foi preparado no dia anterior à transferência das gemas. O pH foi ajustado para 5,7, sendo autoclavado a 121°C por 15 minutos, para que ficasse em condições totalmente assépticas. As culturas foram colocadas na câmara de crescimento a 25°C (± 2) com fotoperíodo de 16 h de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes de luz branca. Utilizou-se papel de filtro nos pequenos frascos, como suporte dos explantes.

Foi realizada observação diária do material e no período de ± 45 dias, as gemas começaram a desenvolver-se, sendo assim transplantadas para o meio gelificado com ágar a 0,6%, contendo Ácido Naftaleno Acético e Benzilaminopurina (Tabela 2), ambos reguladores de crescimento. A transferência ocorreu em câmara de fluxo laminar VECO e, logo que realizada, os frascos com plântulas agora maiores, foram levados para a câmara de

crescimento (Figura 2).

Após um período de 1 a 2 meses, as plântulas foram novamente transplantadas em câmara de fluxo laminar, para frascos com meio de cultura sólido, que continham uma maior quantidade de ágar (0,8%). Antes de passar para o novo meio, as plântulas foram colocadas em uma placa de petri contendo papel de filtro (autoclavados), onde foi possível observar melhor as plântulas e cortar, com um estilete, as partes oxidadas, a fim de auxiliar no seu desenvolvimento.

No período de um mês, observou-se que as plântulas haviam emitido raízes, portanto, já em condições de serem transferidas para o solo em Casa de Vegetação.

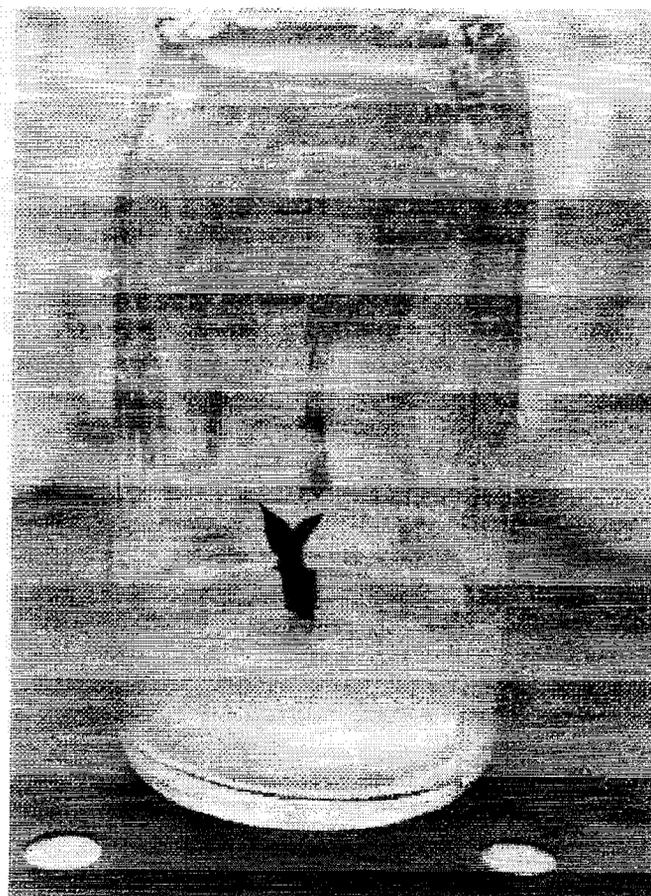


FIGURA 2 – Plântula de *Ananas comosus* (abacaxizeiro) em meio de cultura MS (Murashige & Skoog).

TABELA 1 – Solução estoque do meio de MS. (Murashige e Skoog) segundo EVANS *et al.* (1993).

Solução estoque	Compostos	Concentração de solução estoque (mg/l)	Volume da sol. estoque adicionada ao meio (ml)	Concentração final (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	82.500	20	1.650,000
B	KNO ₃	95.000	20	1.900,000
C	H ₃ BO ₃	1.240	5	6,2000
	KH ₂ PO ₄	34.000		170,000
	KI	166		0,830
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	50		0,250
	CaCl ₂ .6H ₂ O	5		0,025
D	CaCl ₂ . 2H ₂ O	17.600	25	440,00
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74.000	5	370,000
	MnSO ₄ . H ₂ O	4.460		16,891
	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	1.720		8,600
	CuSO ₄ . 5H ₂ O	5		0,025
F	NaEDTA.2H ₂ O	7.450	5	37,250
	FeSO ₄ .7H ₂ O	5.570		27,850
MEXITOL	Mio-inositol	2.000	50	100,00
VITAMINA	Tiamina, HCL	10	10	0,100
S	Piridoxina	50		0,500
	Ácido Nicotínico	50		0,500
AMINO ÁCIDO	Glicina	80	25	2,000
AÇÚCAR	Sucrose (3%)	-	-	30.000,00
ÁGAR (0,7%)	-	-	-	7.000,00

TABELA 2 – Hormônios utilizados no meio de cultura para propagação de gemas axilares do abacaxizeiro (*Ananas comosus*) em laboratório.

Hormônio	Composto	Diluentes	
		2 - 3 ml de NAOH	2 – 3ml de HCL
Citocinina	BAP	-	0,5 N
Auxina	ANA	0,5N	-

2.3 Transferência das plântulas para o solo em casa de vegetação

Os frascos foram levados para a Casa de Vegetação, onde as plântulas foram cuidadosamente retiradas do meio e lavadas com água para que ficassem livres do meio de cultura. Foram transplantadas para vasos plásticos contendo uma mistura de solo e areia (3:1).

Inicialmente, aplicou-se solução MS (macronutrientes e micronutrientes) sob as plântulas, a fim de auxiliar no crescimento e desenvolvimento das mesmas.

Foram feitas observações diárias e a irrigação foi realizada sempre que necessária.

2.4 Isolamento do *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*

Foi colhido material para isolamento do patógeno, a partir de um fruto contaminado, colhido na Área Experimental do Campus Umuarama.

Seccionou-se a região contaminada do fruto com aproximadamente 5 cm de diâmetro. Esta fonte de inóculo foi lavada com água e submersa em álcool 70%, onde permaneceu por 1 minuto. Logo após, a amostra coletada foi colocada em uma solução de hipoclorito de sódio a 50%, com 3 gotas de Tween, por 5 minutos.

Sob câmara de fluxo laminar, o material foi colocado em uma placa de Petri com papel de filtro (autoclavados), onde foi cortado em pequenos pedaços.

O fungo foi cultivado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (Tabela 3), mantido em 2 placas de Petri onde permaneceu por 5 dias numa estufa a 25°C.

Após este período, adicionaram-se 15 ml de água destilada e esterilizada nas placas de Petri que foram agitadas para homogeneização. O inóculo foi raspado da superfície das placas com BDA e a concentração da superfície obtida foi ajustada para aproximadamente 10^5 conídios/ml com o auxílio do hemacitômetro tipo Neubauer.

TABELA 3 – Meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) utilizado para cultivo do fungo *Fusarium subglutinans* em laboratório.

Composto	Concentração (g/l)
Batata	200
Ágar	16
Dextrose	20

2.5 Inoculação do *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

As plantas foram inoculadas quando atingiram entre 10 a 15 cm de altura. Após terem sido retiradas dos vasos plásticos, com as raízes intactas, foram lavadas com água e feridas na base das plântulas com 3 cortes causados por um estilete. Em seguida, foram imersas na suspensão conidial por um período de 3 minutos. Imediatamente após a inoculação, as plântulas foram replantadas em vasos de plástico, contendo mistura de solo e areia.

Este experimento foi conduzido em casa de vegetação e, 60 dias após a inoculação, as plântulas foram avaliadas para se verificar a ocorrência de sintomas macroscópicos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As gemas axilares obtidas das mudas tipo filhote das cultivares Quinari, Império, CI₇ e QP₃₁ foram estabelecidas com sucesso em meio de cultura semi-sólido. Isto tornou-se evidente com o crescimento e enraizamento das plântulas *in vitro*.

Houve uma taxa relativamente baixa de material propagativo, pois a quantidade de material disponível era pequena. Essa quantidade de material foi ainda menor nas cultivares CI₇ e QP₃₁, devido ao fato de haver poucas mudas destes híbridos disponíveis e a estas mudas ainda não apresentarem gemas axilares propícias ao desenvolvimento *in vitro*.

As perdas com explantes, ainda em desenvolvimento, ocorreram devido à contaminação com fungos e bactérias, oxidação do material e ao não desenvolvimento de algumas gemas que, certamente, ainda não estavam aptas ao crescimento *in vitro*.

As plântulas transplantadas da cultura de tecidos para a casa de vegetação apresentaram um bom desenvolvimento, com índice de

aproveitamento de 100%. Isto ocorreu principalmente devido à rusticidade do abacaxizeiro, que comumente não apresenta problemas de aclimação observados em outras plantas, quando provenientes da propagação *in vitro*.

A porcentagem de plantas mortas após transferência para a casa de vegetação foi insignificante, já que apenas 1 planta morreu, devido ao ataque de algum inseto ou roedor não identificado, em que foram destruídas todas as folhas do abacaxizeiro.

O crescimento micelial de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* foi estimado na temperatura de 25°C, estando relativamente próximo ao obtido por VENTURA (1994) à temperatura de 26,5°C. Os conídios apresentaram-se de cor alaranjada, já que os isolados foram estabelecidos na presença de luz, ao contrário das culturas submetidas ao escuro, que segundo VENTURA (1994) apresentam cor branca.

O método de inoculação artificial foi escolhido levando-se em consideração algumas características do fungo testado. A penetração direta não é uma característica do *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*, que pode sobreviver na superfície das folhas do abacaxi sem causar doença (VENTURA, 1994). Além disso, a capacidade do mesmo em sobreviver no solo é reduzida, pois ele não possui estruturas de resistência (CAVALCANTE e BEZERRA, 1984). Enfim a penetração do patógeno somente ocorre através de ferimentos, o que demonstra que a infecção nas mudas se processa pelos fendilamentos causados durante o seu desenvolvimento ou no ato da colheita dos frutos (VENTURA, 1994). A inoculação também foi efetuada logo após a realização dos ferimentos, já que plantas inoculadas 48 horas após feito os ferimentos, reduzem o

desenvolvimento da lesão, devido à formação de uma barreira de tecido regenerativo de células parenquimáticas, que impedem o avanço do fungo (VENTURA, 1994).

Este método de inoculação mostrou-se eficiente. A cultivar Pérola, usada como testemunha, apresentou-se altamente suscetível ao patógeno, confirmando os dados obtidos na literatura.

Na figura 3 a análise dos dados indicou ocorrência de variação na resposta dos diferentes genótipos estudados. Constatou-se resistência na muda da cultivar Império, enquanto que a cultivar Quinari mostrou-se suscetível. Toda a progênie do cruzamento Quinari X Pérola foi suscetível, ou seja, o híbrido QP₃₁. Este resultado era esperado, pois ambas as cultivares deste cruzamento mostraram-se doentes após inoculação. A eficiência da inoculação na cultivar Pérola, que serviu como testemunha, foi de 100%, confirmando os resultados esperados, já que esta cultivar é suscetível à fusariose .

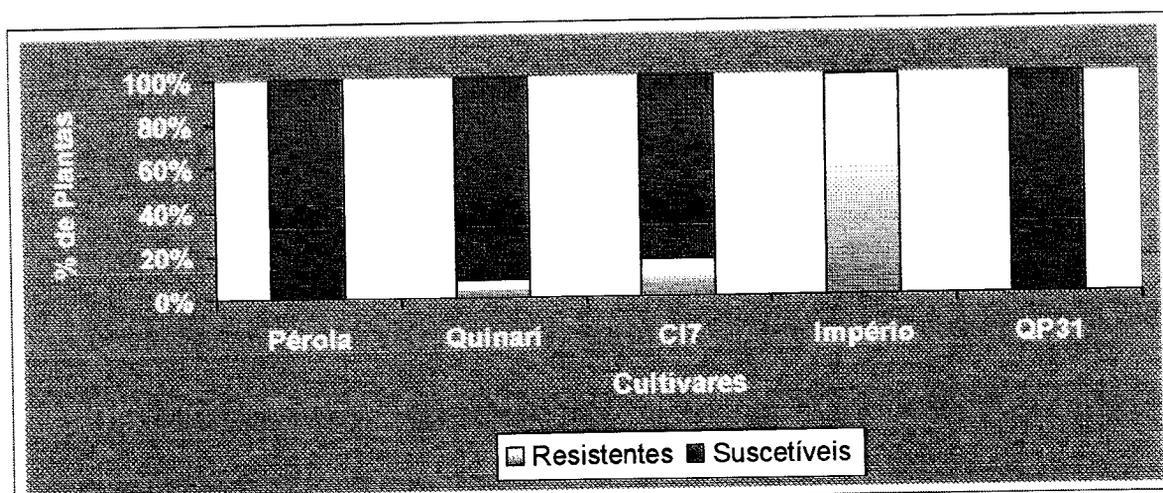


FIGURA 3 – Variação entre os genótipos estudados

O híbrido CI₇ apresentou-se suscetível ao fungo, com resultados estimados em 83% de suscetibilidade. Era esperado que os dados estivessem mais próximos ou igual a 100%, já que as gemas axilares eram derivadas de um mesmo abacaxizeiro, portanto clones. Além disso, estas cultivares foram submetidas às mesmas condições de ambiente e de tratamento quanto ao inóculo. Essa diferença nos resultados esperados pode ter ocorrido devido à ineficiência da inoculação, resultantes de baixa homogenização de conídios no recipiente, o que resultaria numa entrada de um número pequeno ou nulo de conídios nos ferimentos. Também pode ter ocorrido que os ferimentos nestas cultivares não tivessem sido grandes o suficiente para permitir a entrada de conídios.

Os sintomas nas mudas doentes manifestaram-se algumas semanas (± 1 mês) após a inoculação. As lesões iniciaram-se no ponto de inoculação, onde houve um acúmulo de resina (Figura 4), atingindo posteriormente o caule e folhas, impossibilitando o crescimento normal da planta.

Não houve diferença na eficiência da inoculação em mudas do tipo filhote e das plântulas provenientes de cultura de tecidos. Apenas que nas mudas do tipo filhote, não provenientes de cultura de tecidos, os sintomas da doença se expressam mais lentamente.



FIGURA 4 – Resina no abacaxizeiro, causada pelo
Fusarium subglutinans f. sp. *ananas*.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho confirmaram a suscetibilidade da cultivar Pérola, comprovando a eficiência da inoculação.

A cultivar Império apresentou-se resistente à fusariose e prole, portanto substituir outras cultivares suscetíveis. Poderá ser uma alternativa viável de plantio para os produtores da região de Minas Gerais, já que esta cultivar ficará isenta das perdas causadas pela doença.

As cultivares Quinari, QP₃₁ e CI₇ apresentaram sintomas da doença, sendo portanto, suscetíveis ao *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, V. M. M. Morfologia e taxonomia de abacaxizeiro. *In: Simpósio brasileiro sobre abacaxicultura*, 1982, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: FCAV, 1982. 359p. p. 15-24.

CABRAL, J. R. S., MATOS, A. P. Seleção de genótipos de abacaxi resistentes à fusariose. Cruz das Almas: EMBRAPA /CNPMPF, 1989. 4 p. (Comunicado Técnico 12/89).

CAVALCANTE, U. M. T., BEZERRA, J. E. F. Aspectos da fusariose do abacaxizeiro. Brasília: EMBRAPA - DDT/IPA, 1984. 30p.

ESPINAL AGUILAR, J. A. Fusariose do abacaxizeiro. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMPF, 1981. 5 p. (Comunicado Técnico 06/81).

EVANS, D. A., SHARP, W. R., AMMIRATO, P.V., YAMADA, Y. Hand book of plant cell culture: Techniques for propagation an breeding. New York: Macmillan, 1993. 949 p. p. 750-757.

GIACOMELLI, E. J. Apontamentos das aulas de abacaxicultura. Recife: SUDENE/UFRPE, 1974, 86 p.

JOLY, A B. Botânica – introdução à taxonomia vegetal. Ed. Nacional. São Paulo, 1924. 634 p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN, F.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia. Doença das plantas cultivadas. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1997. 774 p.

MATOS, A. P., SOUTO, G. F. Avaliação de técnicas de inoculação para detectar resistência à fusariose em plântulas de abacaxi. Cruz das Almas: EMBRAPA - CNPMF, 1978. 4 p. (Comunicado Técnico).

MEDINA, J.C. Abacaxi: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. Campinas: Ital, 1987. 265 p.

PEREIRA, C. D. Obtenção de híbridos de abacaxizeiros (*Ananas comosus*) visando o desenvolvimento de novas culturas para o Triângulo Mineiro. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1995. 29 p. (Monografia).

PISSARA, T. B., CHAVES, G. M., VENTURA, J. A. Sintomatologia da fusariose (*Fusarium moniliforme* Sheld var. *subglutinans* Wr. & Rq.) do abacaxizeiro. Fitopatologia Brasileira, v.4, n. 2. 38 p. 1979.

RUGGIERO, C. Controle integrado da fusariose do abacaxizeiro. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 81 p.

VENTURA, J. A. Fusariose do abacaxizeiro: caracterização do patógeno, epidemiologia da doença, resistência e micropropagação do hospedeiro *in vitro*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 111 p. (Tese, Doutorado em Agronomia).