

## Evolução da doença olho-preto em tubérculos de batata armazenados<sup>1</sup>.

Mirtes F. Lima<sup>2</sup>; Carlos A. Lopes<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Embrapa Semi-Árido, C. Postal 23, 56.300-000 Petrolina - PE; <sup>3</sup>Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70.359-970 Brasília - DF.

### RESUMO

A evolução da doença olho-preto foi avaliada em tubérculos de batata, provenientes de plantas, cultivares Achat e Baronesa, inoculadas com *Fusarium solani* (*Fs*) (sin. *F. solani* f. sp. *eumartii*), em casa-de-vegetação, e em tubérculos inoculados com 20 isolados de *Fs*. Nos dois primeiros ensaios, dois lotes de tubérculos com (infecção aparente) e sem (infecção latente) sintomas aparentes, foram armazenados a 4°C ou à temperatura ambiente (27±2°C) e a evolução dos sintomas foi avaliada segundo uma escala de seis notas (0 = sem sintomas aparentes; até 5 = deterioração do tubérculo >50%). Posteriormente, os tubérculos foram plantados em casa-de-vegetação e os sintomas avaliados nos tubérculos, após a colheita. A conservação a 4°C não impediu o avanço da doença nos dois lotes de tubérculos armazenados. Tubérculos com infecção aparente deterioraram mais rapidamente do que aqueles com infecção latente. Os sintomas da doença foram reproduzidos nas plantas oriundas dos tubérculos infectados plantados em casa-de-vegetação. Plantas provenientes de tubérculos com infecção aparente apresentaram sintomas característicos da doença mais prontamente do que aquelas provenientes de tubérculos com infecção latente. No terceiro ensaio, avaliou-se a evolução de olho-preto em tubérculos, cultivares Achat e Baronesa, inoculados com 20 isolados de *Fs* e mantidos a 10±1°C e a 27±2°C. Tubérculos armazenados a 27°C apresentaram uma maior taxa de deterioração, embora correspondente ao nível 1 da doença.

**Palavras-chave:** *Solanum tuberosum*, resistência, *Fusarium solani*.

### ABSTRACT

#### Development of black eye on potato tubers.

The development of black eye was evaluated on stored infected potato tubers from plants of cultivars Achat and Baronesa, inoculated with *Fusarium solani* (*Fs*) (sin. *F. solani* f. sp. *eumartii*), and on tubers inoculated with twenty isolates of *Fs*, comprising three experiments. In first and in second assays, tubers without (latent infection) and with (apparent infection) symptoms were stored at conventional cold temperature (4°C) or at room temperature (27±2°C). Symptom evolution was assessed by a 0-5 scale, being 0 = tuber showing no apparent symptoms and 5 = 50-100% of rotted tuber. In addition, after evaluation, infected tubers were planted in pots in a greenhouse and disease severity was rated on tubers after harvesting. The storage of infected tubers at 4°C did not stop disease progress for both tuber groups. Tubers with apparent infection rotted faster than those with latent infection. Symptoms of black eye were reproduced on plants originated from infected tubers regardless of infection level. Plants originated from tubers with apparent infection showed characteristic symptoms of the disease earlier than those originated from tubers with latent infection. In the third assay, twenty isolates of *Fs* were inoculated in tubers of cultivars Achat and Baronesa and stored at 10±1°C or at room temperature (27±2°C). Tubers kept at room temperature rotted faster; however, they showed infection corresponding to level 1 of the disease.

**Keywords:** *Solanum tuberosum*, resistance, *Fusarium solani*.

(Aceito para publicação em 19 de março de 1997)

A podridão-seca, causada por *Fusarium* spp., é uma das principais doenças da batata em condições de armazenamento, causando deterioração de tubérculos, com perdas consideráveis (Carpenter, 1915; Boyd, 1952), dependendo do grau de contaminação e dos ferimentos nos tubérculos, além da temperatura e umidade no armazenamento. A doença pode causar perdas no campo, no armazenamento e durante o transporte de tubérculos (Ayres & Robinson, 1954; Alvarado & Gúzman, 1969). No Brasil, a doença possui pouca importância para batata-consumo, que normalmente é comercializada poucos dias após a colheita. Entretanto, é considerada uma das principais doenças da batata-semente, que fica armazenada por três a quatro meses, até que os

tubérculos emitam brotações em tamanho adequado para o plantio.

Cerca de 20 espécies de *Fusarium* podem causar doenças em batata, sendo as murchas e as podridões as mais importantes (Hwang & Evans, 1985). Dentre estas espécies, destaca-se *Fusarium solani* (*Fusarium solani* f. sp. *eumartii* Carp.) (Escande *et al.*, 1973), um patógeno considerado economicamente importante na América do Norte (Brooks, 1953), principalmente nos Estados Unidos (Haskell, 1916; Goss, 1924), e na América do Sul (Gerlach & Nirenberg, 1982), sendo considerada a doença mais importante desta cultura na Argentina (Escande & Radtke, 1971). No Brasil, a doença foi relatada apenas recentemente (Lopes & Ventura, 1996). Esta espécie de *Fusarium* caracteriza-se por causar escurecimento das gemas

e do anel vascular em tubérculos recém-colhidos, além de podridão seca localizada, que se torna indistinguível da podridão seca provocada por outras espécies de *Fusarium*.

A doença olho-preto, como é conhecida no Brasil, já foi constatada nos estados de Santa Catarina e São Paulo, onde as perdas atingiram cerca de 80% (Lopes, 1994). A doença foi relatada primeiramente nos Estados Unidos, em 1915, causando sérias perdas em tubérculos armazenados (Carpenter, 1915). Na Argentina, o olho-preto foi responsável pela substituição da cultivar Huinkul, devido a um ataque muito forte nos tubérculos nos anos de 1948/49 (Calderoni, 1978).

O ataque do fungo ocorre próximo à floração das plantas. O patógeno penetra através das raízes, estolões, talos

<sup>1</sup> Trabalho desenvolvido na Embrapa Hortaliças, Brasília (DF), com o apoio do CNPq.

subterrâneos e batata-mãe, o que sugere a ineficácia do tratamento de tubérculos-sementes com fungicidas de contato ou preventivos antes do plantio (Radtke & Escande, 1973a). Estes autores observaram que o pré-tratamento de pedaços de tubérculos-sementes com fungicidas sistêmicos não controlou a doença. Entretanto, segundo Leach & Webb (1981) e Mantecón *et al.* (1984), perdas devidas a estas podridões podem ser reduzidas com o uso de thiabendazole aplicado aos tubérculos logo após a colheita ou antes do plantio.

A partir da constatação da doença olho-preto no Brasil e de sua aparentemente rápida disseminação (Lopes & Ventura, 1996), os produtores e compradores de batata-semente têm enfrentado grandes dificuldades em lidar com o problema, já que, praticamente, não existem informações sobre a epidemiologia da doença no país. Estas informações são de grande importância para se definir os níveis de tolerância desta doença na legislação de batata-semente nacional, bem como para estabelecer os padrões aceitáveis nas inspeções para certificação.

O objetivo deste trabalho foi estudar a evolução dos sintomas internos e externos em tubérculos de batata infectados com *Fusarium solani*, armazenados à temperatura ambiente e sob refrigeração.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Temperatura de armazenamento na evolução da doença

Estudou-se o efeito da temperatura de armazenamento na deterioração de tubérculos de batata da cultivar Achat. Os tubérculos foram provenientes de plantas inoculadas via imersão de raízes em suspensão de esporos ( $10^6$  conídios/ml) do isolado CNPH-31 de *Fs*, proveniente de Canoinhas (SC). O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação na Embrapa Hortaliças, Brasília (DF) (Lima & Lopes, 1997). Após a colheita dos tubérculos, dois lotes de 180 tubérculos cada, foram selecionados segundo a presença de sintomas aparentes (infecção externa e/ou interna branda - lote 1) e sintomas latentes (sem sintomas internos e/ou externos aparentes - lote 2).

Os tubérculos foram acondicionados em sacos de papel e mantidos em câmara fria à temperatura de 4°C. Avaliações foram feitas até o início da brotação dos tubérculos, que ocorreu cerca de 120 dias após o armazenamento. Os tubérculos com sintomas aparentes foram contados e classificados em seis categorias, de acordo com a severidade dos sintomas apresentados: 0 = sem sintomas aparentes; 1 = até 5%; 2 = 6-10%; 3 = 11-25%; 4 = 26-50%; 5 = 51-100% do tubérculo deteriorado. Os resultados obtidos foram transformados em índice de deterioração (ID), utilizando-se a fórmula  $ID = \sum (CxP)/N$ , onde C = nota atribuída a cada classe de sintomas; P = número de tubérculos em cada classe de sintomas e N = número total de tubérculos avaliados, adaptado de Empig *et al.* (1962). O objetivo foi observar o tempo necessário para que tubérculos com sintomas aparentes (lote 1) apresentassem completa deterioração e em quanto tempo aqueles com sintomas latentes (lote 2) manifestariam sintomas aparentes da doença. Os dados foram transformados para porcentagem de tubérculos deteriorados em cada nível da escala de avaliação.

Após o término do período de avaliação, os tubérculos completamente deteriorados (nota = 5) foram descartados e os remanescentes com notas entre 0 e 4 foram utilizados como batata-semente para montagem de um ensaio em casa-de-vegetação. O experimento, incluindo os dois lotes de tubérculos (sintomas aparentes e sintomas latentes), consistiu de cinco tratamentos (0 = tubérculo sem infecção aparente; 1 = 1-5%; 2 = 6-10%; 3 = 11-25%; 4 = 26-50% do tubérculo infectado). O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com cinco tratamentos e seis repetições, e a parcela foi constituída por seis vasos com uma planta cada. A avaliação do estande foi feita 25 dias após o plantio dos tubérculos, quando observaram-se sintomas na parte aérea. Efetuou-se a contagem do número de plantas murchas, semanalmente, 36, 43 e 50 dias após o plantio dos tubérculos. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados para  $\sqrt{x+1}$  e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após o período de avaliação das plantas e colheita, os tubérculos foram

misturados, de onde separou-se, aleatoriamente, dois lotes de 100 tubérculos cada, com (lote 1) e sem sintomas externos (lote 2), que foram avaliados quanto à presença ou ausência de infecção vascular.

### Evolução dos sintomas

Esta avaliação foi feita em tubérculos de batata provenientes de plantas das cultivares Achat e Baronesa, inoculadas via imersão de raízes com suspensão de esporos ( $10^6$  esporos/ml) do isolado CNPH-31 de *Fs* (Lima & Lopes, 1997). Ao final do ciclo das plantas, os tubérculos foram colhidos e dois lotes, de 100 tubérculos cada, foram selecionados para cada cultivar, um com (infecção aparente) e outro sem sintomas internos e/ou externos (infecção latente). Os tubérculos com tamanho padrão maior que 7 cm de comprimento e peso acima de 50 g foram selecionados segundo a presença de sintomas brandos de podridão, correspondente ao nível 1 de doença (nota 1 = até 5% do tubérculo apodrecido) para infecção aparente, e sem sintomas aparentes para infecção latente (nota 0 = tubérculo sem sintomas aparentes). Os tubérculos foram acondicionados em sacos de papel e mantidos à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Utilizando-se a mesma escala de seis notas, anteriormente descrita para o experimento 1, classificaram-se os diferentes graus de deterioração dos tubérculos, em oito avaliações, sendo a primeira e a segunda 38 dias e 54 dias após a colheita, respectivamente, e, as demais, a intervalos regulares de nove dias, durante 72 dias. Os dados foram transformados para  $\sqrt{x+1}$  e a comparação das médias foi feita segundo o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os tubérculos com nota 5 foram descartados, aqueles com nota 0 (infecção latente) foram separados e os que apresentavam notas de 1-4 foram misturados para cada cultivar, resultando em um ensaio com dois lotes de tubérculos (infecção latente e infecção aparente) e duas cultivares. Os tubérculos foram plantados em canteiros de 10 m<sup>2</sup> de área, contendo 32 linhas de 1m de comprimento. Os canteiros eram isolados e possuíam bordas de placa de cimento para não permitir a disseminação do patógeno. O ensaio foi um fatorial 2x2 e os tratamentos (1 = tubérculos com in-

**Tabela 1.** Porcentagem de tubérculos de batata, cultivares Achat e Baronesa, com diferentes níveis de infecção causada por *Fusarium solani* (sin. = *F. solani* f. sp. *eumartii*) em temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Brasília, Embrapa Hortaliças, 1994.

Tratamento	Nota <sup>1</sup>	Dias após a colheita							
		38	54	63	72	81	90	99	108
cultivar Achat -	0	-	-	-	-	-	-	-	-
Tubérculos com	1	-	-	-	-	-	-	-	-
sintomas	2	40	26	23	11	3	3	3	3
aparentes	3	37	42	35	39	43	41	40	36
	4	23	14	12	18	20	8	8	10
	5	-	18	30	32	34	48	49	51
cultivar Achat -	0	99	98	96	86	83	82	81	66
Tubérculos com	1	1	2	3	13	16	15	15	30
sintomas latentes	2	-	-	-	-	-	2	3	-
	3	-	-	1	1	1	1	1	4
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-
cultivar Baronesa -	0	-	-	-	-	-	-	-	-
Tubérculos com	1	68	61	60	35	28	27	26	7
sintomas	2	23	28	24	47	46	47	37	56
aparentes	3	9	7	8	10	15	15	7	4
	4	-	4	8	8	11	11	30	33
	5	-	-	-	-	-	-	-	-
cultivar Baronesa -	0	100	100	100	100	93	92	92	90
Tubérculos com	1	-	-	-	-	7	8	8	10
sintomas latentes	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup> Escala de notas para avaliação de severidade da doença: 0 = tubérculo sem sintomas; 1 = até 5%; 2 = 6 - 11%; 3 = 6 - 25%; 4 = 25 - 50%; 5 = mais de 50% do tubérculo apodrecido.

fecção latente e 2 = tubérculos com infecção aparente) foram dispostos em blocos ao acaso com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por oito plantas espaçadas por 20 cm. A avaliação foi feita pela contagem do número de plantas murchas 20 e 52 dias após o plantio em campo e pela presença ou ausência de sintomas internos e/ou externos nos tubérculos, após a colheita.

#### Virulência

A virulência de vinte isolados de *Fusarium solani* (Tabela 2), provenientes de Canoinhas (SC), Vargem Grande do Sul (SP) e Mucugê (BA), foi avaliada em tubérculos de batata, das cultivares Achat e Baronesa. Tubérculos colhidos e armazenados em câmara-fria ( $4^\circ\text{C}$ ) por 60 dias e aparentemente livres de doen-

ças foram selecionados por peso ( $>50$  g). Após lavados, os tubérculos foram desinfestados com hipoclorito de sódio (0,5% por dois minutos), enxaguados em água estéril e secos à temperatura ambiente. Para produção do inóculo, os isolados cresceram em meio de batata-dextrose, em frascos Erlenmeyer de 250 ml (100 ml/frasco). Os frascos foram mantidos sob agitação (140 rpm) por sete dias à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ), preparando-se, a partir dos esporos coletados, uma suspensão de concentração  $10^6$  conídios/ml. Inoculou-se 10  $\mu\text{l}$  da suspensão de esporos na porção mediana de cada tubérculo; uma almofada de três alfinetes entomológicos n<sup>o</sup> 3 foi passada através da gota de inóculo, perfurando o tubérculo a uma profundida-

de de 2-3 mm. Após inoculados, os tubérculos foram acondicionados em bandejas com papel toalha umedecido e envoltas em sacos de plástico, de modo a propiciar umidade relativa próxima a 100%. As bandejas foram incubadas em câmara-fria ( $10 \pm 1^\circ\text{C}$ ) no escuro, condição de armazenamento de batata-semente, ou à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em parcelas subdivididas. Foram feitas quatro repetições, com três tubérculos por parcela. Considerou-se o fator cultivar na parcela e o fator isolado do fungo na

**Tabela 2.** Reação de tubérculos de batata, cultivares Achat e Baronesa, inoculados com *Fusarium solani* e mantidos em temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e em câmara fria ( $10 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Brasília, Embrapa Hortaliças, 1994.

Isolado n.º	Temperatura ambiente ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ) <sup>1</sup>		Câmara fria ( $10 \pm 1^\circ\text{C}$ ) <sup>2</sup>	
	Achat	Baronesa	Achat	Baronesa
CNPH-1	5,00 cdef	3,19 g	5,36a	4,48abc
CNPH-3	3,88 def	3,56 fg	5,35a	4,73ab
CNPH-4	5,63 bcdef	4,06 efg	4,84abcd	4,51abc
CNPH-6	7,75abcd	3,56 fg	5,14abc	4,88a
CNPH-8	8,75abc	6,25 cdef	4,58abcde	4,68ab
CNPH-10	2,81 f	3,00 g	4,95abcd	4,68ab
CNPH-11	2,75 f	2,57 g	3,60 e	3,86 defg
CNPH-12	9,43ab	5,31 defg	3,93 de	3,71 efg
CNPH-14	7,27abcde	6,31 cdef	4,34abcde	3,29 gh
CNPH-15	9,68ab	9,06 abc	3,98 de	3,16 h
CNPH-17	10,91a	4,00 efg	5,30ab	4,24 bcde
CNPH-20	9,43ab	10,25 ab	4,11 cde	4,20 bcde
CNPH-21	8,52abc	7,94 bcd	4,00 de	3,53 fgh
CNPH-31	10,63a	11,12 a	4,70abcde	4,88a
CNPH-33	9,06abc	9,69 ab	4,49abcde	4,61ab
CNPH-34	3,44 ef	3,31 g	5,26ab	4,41abcd
CNPH-35	9,81ab	6,50 cde	4,09 cde	3,99 cdef
CNPH-40	8,39abc	9,69 ab	4,03 cde	4,20 bcde
CNPH-44	9,72ab	6,63 cde	4,21 bcde	4,01 cdef
CNPH-43	8,82abc	6,50 cde	4,09 cde	4,15 bcde
CV (%)	10,35	15,6	16,69	9,38

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>Leitura realizada sete dias após a inoculação;

<sup>2</sup>Leitura realizada 21 dias após a inoculação;

<sup>3</sup>Dados originais transformados para  $\sqrt{x + 1}$

subparcela. A avaliação foi efetuada medindo-se o diâmetro da lesão em dois sentidos, com paquímetro, sete dias após a inoculação, para temperatura ambiente e sete, quatorze e 24 dias após a inoculação, para tubérculos armazenados a  $10^\circ\text{C}$ . As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após a avaliação, os tubérculos inoculados provenientes do armazenamento a  $10^\circ\text{C}$ , foram plantados em casa-de-vegetação, onde foram avaliados os sinto-

mas da parte aérea das plantas e os sintomas nos tubérculos, após a colheita.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Temperatura de armazenamento

Houve um aumento gradativo no grau de infecção para os dois lotes de tubérculos armazenados. Conforme esperado, a deterioração ocorreu mais rapidamente para os tubérculos com infecção aparente (Figura 1). As porcentagens de tubérculos infectados para as

notas entre 3 e 5 (25 e 100% do tubérculo infectado) foram 51,1%, 58,9% e 59,4%, 90, 120 e 135 dias após o armazenamento, respectivamente. Para os tubérculos com infecção latente, não houve alteração significativa até o término do período de avaliação, onde observou-se apenas 2,7% dos tubérculos com sintomas aparentes.

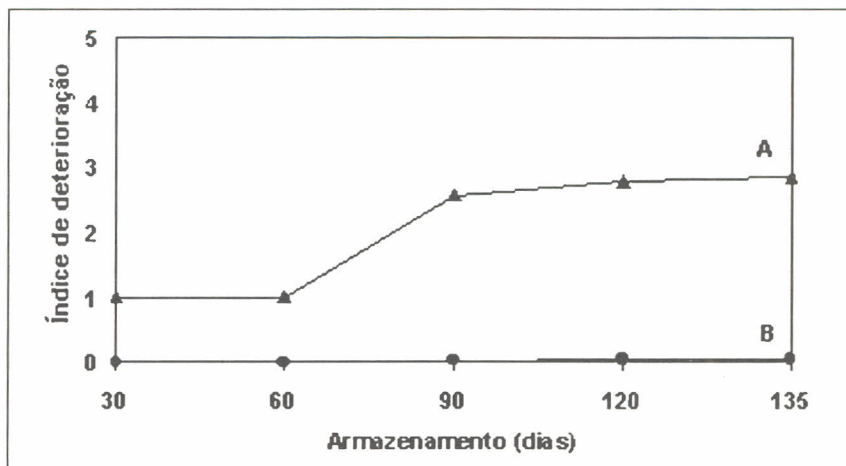
Na avaliação do estande, 25 dias após o plantio dos tubérculos, observou-se a presença de brotação em 100%, 86,7%, 83,3%, 76,7% e 63,3% dos tu-

bérculos, respectivamente, para os tratamentos 0, 1, 2, 3 e 4 (0 = infecção latente; 1 = até 5%; 2 = 6 - 10%; 3 = 11 - 25%; 4 = 26 - 50% do tubérculo infectado). Cerca de 18% dos tubérculos (27 tubérculos) plantados nos vasos apodreceram no solo antes da emergência das plântulas, principalmente para os tratamentos 3 e 4, cujas porcentagens de deterioração foram maiores. A manifestação de sintomas nas plantas ocorreu cerca de 25 dias após o plantio dos tubérculos, quando observou-se início de necrose na haste e folhas murchas em plantas ainda pequenas.

Houve diferença significativa 36, 43 e 50 dias após o plantio dos tubérculos ( $P = 0,05$ ). Trinta-e-seis dias após o plantio dos tubérculos, os tratamentos 0 (infecção latente) e 1 (até 5% de infecção no tubérculo), apresentaram as menores porcentagens de plantas murchas, 0% e 5,0%, respectivamente, enquanto que os tratamentos com 3 (11 - 25%) e 4 (26 - 50%), exibiram, respectivamente, 50% e 38,3%. Na avaliação 50 dias após o plantio dos tubérculos, houve um aumento significativo de plantas murchas para o tratamento com infecção latente (32,7%), sendo comparável ao tratamento com até 5% do tubérculo infectado (52,7%). Plantas obtidas de tubérculos com infecção latente exibiram sintomas mais tardios da doença, muito provavelmente, devido à condição latente do fungo nos tubérculos.

Para os lotes de tubérculos selecionados (infecção latente e infecção aparente) observou-se que aqueles provenientes de tubérculos com infecção latente produziram 9% de tubérculos com sintomas internos e externos, 60% apenas com sintomas externos e 31% sem nenhum sintoma aparente. Para tubérculos provenientes do lote com infecção aparente, a produção de tubérculos com sintomas internos e externos foi de 70%, com sintomas externos apenas 20% e 10% sem sintomas aparentes.

Estes resultados indicam que a eliminação de tubérculos com sintomas aparentes da doença, antes do armazenamento, é uma medida eficaz na redução dos problemas de podridão-seca em batata-semente. Indicam, também, que tubérculos aparentemente sadios (infecção latente), embora em menores proporções,



**Figura 1** - Índice de deterioração (ID) em tubérculos de batata, cultivar Achat, com infecção (A) aparente e (B) latente, provenientes de plantas inoculadas com *Fusarium solani* (sin. = *F. solani* f.sp. *eumartii*) em casa-de-vegetação e armazenados a 4°C. ID =  $\sum (CxP)/N$ , onde C = nota atribuída a cada classe de sintomas; P = número de tubérculos em cada classe de sintomas e N = número total de tubérculos avaliados, adaptado de Empig *et al.* (1962). Escala de severidade: 0=sem sintomas aparentes; 1=até 5%; 2=6-10%; 3=11-25%; 4=26-50%; 5=51-100% do tubérculo deteriorado. Brasília, Embrapa Hortaliças, 1994.

podem desenvolver a doença mais tarde e servir como fonte inicial de inóculo.

#### Evolução dos sintomas

A podridão causada por *Fs* aumentou durante o período de armazenamento dos dois lotes de tubérculos. Para os lotes com sintomas aparentes, a deterioração dos tubérculos foi mais rápida e mais intensa do que para os lotes com sintomas latentes, principalmente para a cultivar Achat. Setenta-e-dois dias após a inoculação, 100% e 65% dos tubérculos das cultivares Achat e Baronesa, respectivamente, apresentavam grau de infecção aparente significativos (notas variando de 2 a 4). Observou-se, entretanto, que apenas 1% dos tubérculos da cultivar Achat e 0% dos tubérculos da cultivar Baronesa exibiram infecção latente (Tabela 1).

Vinte dias após o plantio dos tubérculos em campo, observou-se 58,6% e 53,3% de plantas murchas provenientes de tubérculos com sintomas aparentes, respectivamente, das cultivares Achat e Baronesa e nenhuma planta murcha para aquelas provenientes de tubérculos com infecção latente. Trinta-e-dois dias após a primeira avaliação, todas as plantas estavam mortas.

Comparando-se os dois ensaios anteriores com relação à cultivar Achat, constatou-se que, em tubérculos com infecção aparente armazenados a 4°C,

somente após 90 dias pode-se observar uma distribuição em quatro ou cinco categorias de notas, segundo a severidade de sintomas (Figura 1), enquanto esta distribuição já pôde ser observada 38 dias após a colheita, quando os tubérculos foram mantidos à temperatura ambiente (Tabela 1). Vale ressaltar, também, que 135 dias após o armazenamento a 4°C, menos de 10% do número total de tubérculos com infecção aparente apresentavam nota 5 (mais de 50% do tubérculo deteriorado) (Figura 1); em contraste, aqueles mantidos à temperatura ambiente apresentavam 51% do total com nota 5, 108 dias após a colheita (Figura 1).

Estes resultados indicam que a infecção latente nos tubérculos pode ser importante na transmissão da doença em batata-semente aparentemente sadia.

#### Virulência

A evolução dos sintomas nos tubérculos inoculados com *Fs* se deu muito lentamente nos dois ambientes. Observou-se que, semelhante ao que ocorreu no ensaio 1, tubérculos mantidos à temperatura ambiente apodreceram mais rapidamente, entretanto, não excedendo ao nível 1 de doença da escala utilizada nos ensaios anteriores (Tabela 2).

Houve diferença estatística entre os tratamentos; os fatores isolado e cultivar foram significativos à temperatura am-

biente e em câmara fria. Considerando-se que, nos dois ambientes, a interação isolado x cultivar não foi significativa ( $P = 0,05$ ), optou-se por realizar uma análise estatística separadamente para cada cultivar, dentro de cada um dos ensaios.

A temperatura de  $10 \pm 1^\circ\text{C}$  não foi eficiente em impedir o desenvolvimento da infecção nos tubérculos inoculados, tendo sido observadas lesões de 3,60 a 5,36 mm de diâmetro naqueles da cultivar Achat e de 3,16 e 4,88 mm em tubérculos da cultivar Baronesa (Tabela 2). O apodrecimento dos tubérculos nesta temperatura ocorreu à uma taxa de 0,17 a 0,26 mm/24 h para a cultivar Achat e de 0,15 a 0,23 mm/24 h para a cultivar Baronesa. Comparativamente, para os tubérculos armazenados à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ), esta taxa foi de 0,39 a 1,56 mm/24h para a cultivar Achat e de 0,43 a 1,59 mm/24 h para a cultivar Baronesa, sendo, portanto, 2,6 a 6,12 vezes maior que aquela observada para tubérculos inoculados mantidos a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$ . À temperatura ambiente, os diâmetros das lesões ficaram compreendidos no intervalo de 2,75 a 10,91 mm para a cultivar Achat e de 3,00 a 1,13 mm para a cultivar Baronesa (Tabela 2).

O isolado CNPH-31 destacou-se como um dos mais virulentos nas duas cultivares à temperatura ambiente, com diâmetro médio de lesão de 10,63 mm em tubérculos de 'Achat' e 11,13 mm naqueles da cultivar Baronesa (Tabela 2).

Temperaturas inferiores a  $10^\circ\text{C}$  podem impedir o desenvolvimento da podridão causada por *Fusarium solani* (Goss, 1924, citado por Escande *et al.*, 1973). Entretanto, Escande *et al.* (1973) observaram que os níveis de podridão aumentam durante o período de armazenamento dos tubérculos em câmara-fria e que a temperatura de  $4^\circ\text{C}$  não foi eficaz em impedir o avanço da doença. Estes autores também constataram que a doença não pode ser eliminada durante o processo de classificação dos tubérculos, por não apresentarem sintomas externos, apenas internos. No presente trabalho, observou-se que *Fs* desenvolveu-se nos tubérculos infectados e armazenados a  $4^\circ\text{C}$ , à temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e a  $10 \pm 1^\circ\text{C}$ . Observou-se também que baixas temperaturas foram eficientes em retardar o desenvol-

vimento da doença apenas em tubérculos com infecção latente, enquanto ocorreu um aumento significativo na porcentagem daqueles com infecção aparente (Figura 1). Estes resultados sugerem que a seleção de tubérculos-sementes antes da frigerificação é uma eficiente maneira de se reduzir o inóculo inicial. Vale também ressaltar que, tubérculos com infecção latente, portanto, que apresentavam-se aparentemente sadios e sem sintomas externos, quando cortados, podiam exibir sintomas internos.

A redução no crescimento do fungo em baixas temperaturas ( $4^\circ\text{C}$ ), assim como o seu desenvolvimento em temperaturas mais altas ( $14-19^\circ\text{C}$ ) também foram observados para outras espécies de *Fusarium*, como *F. oxysporum* f. sp. *tuberosi* (Harisson & Livingstone, 1966), *F. roseum* e *F. oxysporum* (Alvarado & Gúzman, 1969). A inoculação de isolados de *Fs* diretamente em tubérculos de batata e incubação à temperatura de  $23^\circ\text{C}$  foi utilizada por Carpenter (1915), que observou sintomas de podridão típica, com lenticelas deprimidas e escurecimento do parênquima.

As plantas provenientes de tubérculos infectados plantados em campo ou casa-de-vegetação reproduziram os sintomas típicos da doença na parte aérea, cuja severidade variou segundo o nível de infecção em que o tubérculo foi classificado inicialmente, antes do plantio. Sintomas como severa podridão subterrânea da haste, resultando em murcha rápida da planta infectada foram observados em plantas provenientes de tubérculos com altos índices de infecção. Sintomas semelhantes ocorrem quando a invasão de pedaços de tubérculos-sementes por *Fs* ocorre via solo (Haskell, 1916).

Seminario *et al.* (1970) detectaram diferenças entre cultivares, através da inoculação de porções de micélio de *Fusarium* spp. em tubérculos, manutenção em câmara-úmida e incubação à temperatura ambiente, com avaliação quinze dias após a inoculação. Radtke & Escande (1973b) testaram a patogenicidade de isolados através da inoculação de tubérculos e concluíram ser este método eficiente na distinção de diferentes níveis de virulência entre isolados. Leach & Webb (1981) selecionaram clones resistentes a *Fusarium* spp. atra-

vés da inoculação, com uma seringa, de  $10^2$  esporos do fungo por sítio, a uma profundidade de 7mm. Os autores concluíram que a seleção do local a ser inoculado tem pequeno ou nenhum efeito no grau de resistência ou suscetibilidade da cultivar ou clone testado e que a suscetibilidade à doença foi, geralmente, mais alta em tubérculos armazenados, do que em tubérculos avaliados logo após a colheita.

A inoculação de tubérculos, neste trabalho, embora utilizada uma concentração bem mais alta ( $10^6$  conídios/ml) do que a utilizada por Leach & Webb (1981), foi efetuada na superfície do tubérculo, onde a almofada de alfinetes perfurou a gota de inóculo a uma profundidade de apenas 2 a 3 mm. Provavelmente, a quantidade de inóculo necessária para causar uma maior infecção, não tenha penetrado a uma profundidade suficiente, permanecendo parte desse inóculo sobre a película, na parte externa do tubérculo. A inoculação de conídios em tubérculos, com seringa a uma profundidade maior, pode ter sido uma técnica mais efetiva, uma vez que todo o inóculo é colocado diretamente em contato com os tecidos do tubérculo, favorecendo, assim, o desenvolvimento da infecção.

Portanto, a inoculação de tubérculos com *Fs* é um método viável como técnica adicional na avaliação da resistência de cultivares à doença ou mesmo em testes de patogenicidade de isolados.

## LITERATURA CITADA

- ALVARADO, L.F.; GÚZMAN, J. Potato decay in storage. *American Potato Journal*, v.46, p.27, 1969.
- AYRES, G.W.; ROBINSON, D.B. An inoculation technique for the study of dry rot of potatoes. *American Potato Journal*, v.31, p.278-281, 1954.
- BOYD, A.E.W. Dry-rot disease of the potato IV. Laboratory methods used in assessing variations in tuber susceptibility. *Annual Applied Biology*, v.39, p.322-329, 1952.
- BROOKS, F.T. *Plant diseases*. London: Oxford University Press, 1953. 457p.
- CARPENTER, C.W. Some potato tuber-rots caused by species of *Fusarium*. *Journal of Agricultural Research*, v.5, p.183-216, 1915.
- CALDERONI, A.V. Fusariosis marchitamiento o punta seca. In: *Enfermedades de la papa y su control*. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1978, p.39-44.

LIMA, M.F.; LOPES, C.A. Evolução da doença olho-preto em tubérculos de batata armazenados.

EMPIG, L.T.; LACUB, A.G.; KATIGBAK, M.M.; DEANON, JUNIOR J.R. Screening tomato, eggplant and pepper varieties and strains for bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*) resistance. *Philippine Agriculturist*, v.46, p.303-314, 1962.

ESCANDE, A.; FERNÁNDEZ, H.; RADTKE, W. Pierdas por pudriciones en papas almacenadas. *IDIA*, Buenos Aires, n.305, p.8-16, 1973.

ESCANDE, A.; RADTKE, W. Selectividad de tres métodos de inoculación sobre la patogenicidad de *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* en cultivares de papa. *IDIA*, p.91-97, 1971. Suplemento

GERLACH, W.; NIRENBERG, H. *Fusarium eumartii* Carpenter. In: PAREY, P. ed. *A pictorial atlas*. Berlin: Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Institut für Mikrobiologie, 1982. p.373-376.

GOSS, R. Potato wilt and stem-end rot caused by *Fusarium eumartii*. Lincoln: Nebraska Agricultural Experiment Station, 1924. 83p. (*Nebraska Agricultural Experiment Station Bulletin* 27)

HARISSON, M.; LIVINGSTONE, C. Potato tuber discoloration caused by *Fusarium oxysporum* f. *tuberosi* in relation to cultural practices and storage conditions. *American Potato Journal*, v.43, p.342, 1966.

HASKELL, R.J. Potato wilt and tuber rot caused by *Fusarium eumartii*. *Phytopathology*, v.6, p.321-327, 1916.

HWANG, S.F.; EVANS, I.R. *Eumartii* wilt of potato in Alberta. *Canadian Plant Disease Survey*, v.65, p.57-59, 1985.

LEACH, S.S.; WEBB, R.E. Resistance of selected cultivars and clones to *Fusarium* dry rot. *Phytopathology*, v.71, p.623-629, 1981.

LIMA, M.F.; LOPES, C.A. Virulência de isolados de *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* em batata. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, p.298, 1994.

LOPES, C.A. Olho-preto (*Fusarium solani* f. sp. *eumartii*), uma nova ameaça à bataticultura nacional. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, p.326, 1994.

LOPES, C.A.; VENTURA, J.A. Detecção e caracterização do olho-preto (*Fusarium solani*), uma nova ameaça à bataticultura brasileira. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 21, p.513-516, 1996.

MANTECÓN, J.D.; ESCANDE, A.R.; POBLET, J.C. Control químico del marchitamiento y punta seca de la papa (*Fusarium solani* f. sp. *eumartii*). *Fitopatologia*, v.19, p.513-516, 1984.

RADTKE, W.; ESCANDE, A. Evaluación de los fungicidas sistémicos en el control del marchitamiento y punta seca de la papa causado por *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*. *IDIA*, n.303, p.48-52, 1973a.

RADTKE, W.; ESCANDE, A. Patogenicidad de cepas de una colección de hongos «*Fusarium*» sobre cultivares de *Solanum tuberosum*. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.49, p.61-80, 1973b.

SEMINARIO, B.; FRENCH, E.R.; NIELSEN, L.W. Resistencia de tubérculos a las fusaria que afectan papa en el Perú. *American Potato Journal*, v.47, p.118-123, 1970.