



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

REBECA HONORATO DA COSTA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Fusarium* spp. E USO DE INDUTORES DE
RESISTÊNCIA “IN VITRO” PARA CONTROLE DA FUSARIOSE DO
ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL**

FORTALEZA

2015

REBECA HONORATO DA COSTA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Fusarium* spp. E USO DE INDUTORES DE
RESISTÊNCIA “IN VITRO” PARA CONTROLE DA FUSARIOSE DO
ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências da disciplina Atividade Supervisionada, para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador Pedagógico: Prof. *D. Sc.* Patrik Luiz Pastori

Orientador Técnico: Pesq. *D. Sc.* Christiana de Fátima Bruce da Silva

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- C875m Costa, Rebeca Honorato da.
Métodos de inoculação de *Fusarium spp.* e uso de indutores de resistência “*in vitro*” para controle da fusariose do abacaxizeiro ornamental / Rebeca Honorato da Costa. – 2015.
41 f. : il. color.
- Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitopatologia, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2015.
Orientação: Prof. D. Sc. Patrick Luiz Pastori.
Coorientação: Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva.
1. Abacaxi. 2. Frutas – Doenças e pragas. 3. *Fusarium*. I. Título.

REBECA HONORATO DA COSTA

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Fusarium* spp. E USO DE INDUTORES DE
RESISTÊNCIA “IN VITRO” PARA CONTROLE DA FUSARIOSE DO
ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso, para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada em: 19 de Junho de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof. *D. Sc.* Patrik Luiz Pastori (Orientador Pedagógico)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Pesq^a. *D. Sc.* Christiana de Fátima Bruce da Silva (Orientador)
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Pesq. *D. Sc.* Francisco das Chagas Oliveira Freire
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Pesq^a. *D. Sc.* Andréia Hansen Oster
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

*A minha família por todo o apoio, amor e
confiança durante mais essa etapa da minha
vida.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado saúde, sabedoria, disposição, proteção, capacidade e oportunidade de concluir mais essa etapa da minha vida.

À minha mãe Berenice Honorato da Costa e ao meu pai Isaias Lima da Costa, responsáveis por minha formação e princípios de vida. Sobretudo, por ter acreditado que a educação é fundamental para o crescimento de seus filhos.

Aos meus irmãos Isac Honorato da Costa e Felipe Honorato da Costa pelo apoio e companheirismo.

Ao meu amado Thiago Barbosa Honorato, pelo amor, dedicação, companheirismo, confiança e apoio.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), pela oportunidade em realizar o curso de Agronomia.

À Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT, por ter fornecido todas as condições para a realização deste trabalho.

A pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Christiana de Fátima Bruce da Silva, pela orientação, confiança, amizade, ensinamentos e, sobretudo, pelo exemplo de profissionalismo, dedicação e caráter.

Ao professor Patrik Luiz Pastori pela orientação, confiança e colaboração para a conclusão deste trabalho.

A Suane, pelo apoio, dedicação, amizade e pelos valorosos ensinamentos e contribuições para a realização deste trabalho.

Aos amigos de laboratório Amanda, Yan, Henrique, Márcio, e a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho.

A todos os meus amigos do curso de Agronomia.

A todos os primos, tios e avós.

Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor determina os seus passos.

(Bíblia, Provérbios 16:9)

RESUMO

A fusariose, doença causada pelo fungo *Fusarium* sp., está presente nas principais regiões produtoras de abacaxi ornamental (*Ananas* spp.) e seu controle eficiente requer a integração de métodos de controle como o cultural, químico, genético, alternativo, ganhando destaque a indução de resistência. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar métodos de inoculação de *Fusarium* spp. e realizar testes *in vitro* de indutores de resistência para o controle da fusariose do abacaxizeiro ornamental. Foram utilizados seis isolados de *Fusarium* spp. provenientes de mudas da abacaxi ornamental. Para o teste de patogenicidade utilizou-se uma concentração de 1×10^5 conídios/mL, em dois métodos: ferimentos nas raízes das plantas e *dipping* do inóculo do patógeno e injeção de inóculo na região do colo da planta. Para o teste de germinação e crescimento micelial do fungo os indutores de resistência (tratamentos): 1- BION[®] (0,2 g/250 mL); 2- AGRO-MOS[®] (200 µL/250 mL), 3- ECOLIFE[®] (200 µL/250 mL) e 4- FERTSILÍCIO[®] (200 µL/250 mL) foram depositados em erlenmeyers, contendo 250 mL de BDA (Batata dextrose ágar) autoclavado. As testemunhas consistiram na incorporação do fungicida Tiabendazol (1400 µL/250 mL) (controle positivo) e apenas de BDA (controle negativo). Para o teste de crescimento micelial foram cortados discos dos isolados (3 mm de diâmetro) e depositados no centro de cada placa de Petri sendo mantidos em incubadora do tipo BOD, à 28°C e posteriormente realizada a medição do crescimento micelial em dois sentidos diametralmente opostos (denominados "a" e "b") com auxílio de uma régua milimetrada. Para o teste de germinação foram obtidos, usando um furador de 15 mm, discos de meio de cultura + tratamentos (conjunto) que foram depositados em lâminas de vidro estéreis. Nessas lâminas foram adicionadas gotas de 20 µL da suspensão de conídios, de cada isolado fúngico. As lâminas foram mantidas em câmara úmida (caixas tipo gerbox com papel toalha umedecido em água destilada esterilizada) à 25°C por 6 h no claro. Avaliando pelo índice de severidade da doença o método de inoculação por injeção foi eficiente. O indutor Fertilício não foi eficiente no controle do crescimento micelial do *Fusarium* spp *in vitro*, diferentemente dos indutores Agro-Mos[®], Ecolife[®] e Bion[®]. Os indutores Fertilício[®] e Ecolife[®] não foram eficientes no controle da germinação do *Fusarium* spp *in vitro*, diferentemente dos indutores Bion e Agro Mos.

Palavras-chave: *Fusarium* sp., Crescimento micelial, Germinação, Inoculação.

ABSTRACT

The fusarium rot, a disease caused by the fungus *Fusarium* sp., is present in the main producing regions of ornamental pineapple (*Ananas* spp.) And its efficient control requires the integration of control methods like cultural, chemical, genetic, alternative, gaining prominence induction resistance. So, the objective of work was to evaluate methods of inoculation of *Fusarium* spp. and performing in vitro tests of resistance inducers for the control of *Fusarium* ornamental pineapple. Six isolates of *Fusarium* spp. were utilized from seedlings of ornamental pineapple. First was performed by testing the pathogenicity in the concentration of 1×10^5 conídios/mL at two methods: wounds in roots and 'dipping' pathogen inoculum; and inoculum injection in the lap region of the plant. For germination and mycelial growth resistance inducers (treatments): 1- BION (0.2 g/250 ml); 2- AGRO MOS (200 μ L/250 ml), 3- ECOLIFE (200 μ L/250 ml) and 4- FERTSILÍCIO (200 μ L/250 ml) were placed in erlenmeyer flasks, containing 250 ml of PDA (potato dextrose agar) autoclaved. The witnesses consisted in incorporating the fungicide Thiabendazole (1400 μ L/250 ml) (positive control), and only the BDA (negative control). To test the mycelial growth were made from the isolates discs (3 mm diameter) and deposited in the center of each petri dish. The experiment was conducted in incubator BOD at 28°C. The observation of the effect of the treatments was performed by measuring the mycelial growth in two diametrically opposite directions (referred to as "a" and "b"), with the aid of a millimeter ruler. For the germination test were obtained culture medium + discs treatments (set), with the aid of a punch 15 mm. The assembly was placed in sterile glass microscope slides. Later drops were added 20 μ L of the conidial suspension of each fungal isolate. The slides were kept in a humid chamber, which consisted of gerbox boxes with paper towel moistened with sterile distilled water. The set was incubated at 25°C, for 6 h in the clear. After this period, the germination was stopped with the addition of two drops of Aman dye, containing lactophenol. Evaluating the disease severity index the inoculum injection method was efficient unlike the method for dipping. The Fertilisilício inductor was not efficient in controlling mycelial growth of *Fusarium* spp. in vitro, unlike the inductors AgroMos, Ecolife, Bion. The Fertilisilício and Ecolife inductors were not effective in controlling *Fusarium* spp. germination in vitro, unlike the Bion inductors and Agro-Mos.

Keywords: *Fusarium* spp, Mycelial growth, Germination, Inoculation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Abacaxi ornamental	15
Figura 2 –	Fusariose em mudas tipo filhote de abacaxi comestível.....	16
Figura 3 –	Isolados de <i>Fusarium</i> spp.....	17
Figura 4 –	Experimento contendo os híbridos de abacaxi ornamental, onde foram obtidos os isolados de <i>Fusarium</i> spp., no campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical (Pacajus-CE).....	20
Figura 5 –	Híbridos de abacaxi ornamental.....	21
Figura 6 –	Teste de patogenicidade de <i>Fusarium</i> spp. utilizando o método do ferimento, com <i>dipping</i> da muda em inóculo do patógeno.....	24
Figura 7 –	Teste de patogenicidade de <i>Fusarium</i> spp., com injeção do inóculo no colo de mudas de abacaxizeiro ornamental do híbrido D.....	25
Figura 8 –	Indutores de resistência no crescimento micelial de <i>Fusarium</i> spp.....	27
Figura 9 –	Teste de Germinação de conídios de <i>Fusarium</i> spp com diferentes indutores de resistência.....	28
Figura 10 –	Teste de patogenicidade: com e sem ferimento nas raízes das plantas	30
Figura 11 –	Teste de patogenicidade com injeção do inóculo na região do colo da planta.....	31
Figura 12 –	Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> spp. no tratamento conduzido com o indutor Fertisilício.....	33
Figura 13 –	Crescimento micelial de <i>Fusarium</i> spp. em indutores de resistência.....	33
Figura 14 –	Médias das áreas abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de <i>Fusarium</i> spp. com diferentes indutores de resistência.....	34
Figura 15 –	Médias do teste de germinação dos conídios de <i>Fusarium</i> spp. com diferentes indutores de resistência.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Isolados de <i>Fusarium</i> spp. obtidos dos híbridos de abacaxi ornamental.....	20
Tabela 2 – Teste de patogenicidade de <i>Fusarium</i> spp. em mudas de abacaxizeiro ornamental (Híbrido D) com e sem ferimento nas raízes e <i>dipping</i> do inóculo do patógeno.....	29
Tabela 3 – Teste de patogenicidade de <i>Fusarium</i> spp. em mudas de abacaxizeiro ornamental (Híbrido D) realizando o método da injeção do inóculo no colo das plantas.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Mercado de flores e plantas ornamentais tropicais	14
2.2	A cultura do abacaxi ornamental	14
2.3	Doenças do abacaxizeiro ornamental	15
2.4	O agente etiológico da fusariose: <i>Fusarium</i> sp.	16
2.5	Métodos de manejo da fusariose	17
2.6	Indução de resistência em plantas	17
2.7	Indutores de resistência a doenças de plantas	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Isolados de <i>Fusarium</i> spp. utilizados no estudo	20
3.2	Testes de patogenicidade	21
3.2.1	<i>Teste de patogenicidade: ferimentos nas raízes das plantas e “dipping” no inóculo do patógeno</i>	23
3.2.2	<i>Teste de patogenicidade por injeção do inóculo na região do colo da planta</i>	24
3.3	Influência de indutores de resistência no crescimento micelial de <i>Fusarium</i> sp.	25
3.4	Germinação de conídios de <i>Fusarium</i> spp. em diferentes indutores de resistência	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Testes de patogenicidade: ferimentos nas raízes das plantas e <i>dipping</i> no inóculo do patógeno	29
4.2	Teste de patogenicidade: injeção do inóculo na região do colo da planta	30
4.3	Influência de indutores de resistência no crescimento micelial de <i>Fusarium</i> spp.	32
4.4	Germinação de conídios de <i>Fusarium</i> spp. em diferentes indutores de resistência	35
5	CONCLUSÃO	37
6	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O uso ornamental do abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides*) tem-se destacado nos últimos anos, acarretando uma grande demanda, principalmente no mercado externo de flores e plantas ornamentais tropicais. Um dos motivos para a expansão dessa ornamental ocorre devido o abacaxi ser uma planta de pequeno porte, com um colorido marcante. Além disso, os pequenos abacaxis produzidos pelas plantas apresentam grande durabilidade na pós-produção, característica esta interessante para o mercado. Os abacaxis ornamentais, nativos da flora brasileira, vêm sendo bastante utilizados, não somente no Brasil, mas também na Europa e nos Estados Unidos da América (SOUZA *et al.*, 2014).

O Brasil é o único país com cultivos comerciais de abacaxizeiro ornamental. Os plantios são prioritariamente voltados para atender ao mercado externo e se concentram no Nordeste, principalmente nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte (SOUZA *et al.*, 2012). Outros Estados, como Goiás e Tocantins, também possuem áreas com plantio comercial dessa espécie (CORREIA *et al.*, 2010).

Em 2012, o mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais movimentou R\$ 4,8 bilhões (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013a). Porém, do ponto de vista do mercado internacional, o Brasil, a despeito de já possuir uma larga tradição na exportação de flores e plantas ornamentais, não apresenta valores relevantes, tanto que, em 2013, as exportações de flores e plantas ornamentais foram de apenas US\$ 23,81 milhões (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014), representando apenas 0,2% das transações comerciais mundiais de flores e plantas entre vendedores e compradores (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013a).

As condições propícias para o cultivo do abacaxi ornamental, nas regiões produtoras, têm propiciado a ocorrência também de problemas fitossanitários. Dentre as doenças marcantes nesta cultura, destaca-se a fusariose, ocasionada pelo fungo *Fusarium* spp.. Esta enfermidade está presente nas principais regiões produtoras de abacaxi ornamental. O controle eficiente da fusariose requer a integração de métodos como controle cultural, químico, genético, alternativos e vem ganhando destaque a indução de resistência (SOUZA *et al.*, 2014).

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar métodos de inoculação de *Fusarium* spp. e realizar testes *in vitro* de indutores de resistência para o controle da fusariose do abacaxizeiro ornamental.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mercado de flores e plantas ornamentais tropicais

O mercado de flores e plantas ornamentais busca constantemente inovações e uma dessas, para inserção no mercado, é o abacaxi ornamental. O Brasil ganha destaque por ser o único país com cultivos comerciais dessa espécie. Os plantios são prioritariamente voltados para atender ao mercado externo e se concentram no Nordeste, principalmente nos Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte. As duas variedades que vem apresentando destaque, dentro desse cenário são: *A. comosus* var. *erectifolius* e *A. comosus* var. *bracteatus* que correspondem a 75 e 25%, da exportação dos abacaxis ornamentais do Ceará, respectivamente (SOUZA *et al.*, 2014).

Em 2012, o mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais movimentou R\$ 4,8 bilhões (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013a). Porém, do ponto de vista do mercado internacional, o Brasil, a despeito de já possuir uma larga tradição na exportação de flores e plantas ornamentais, não apresenta valores relevantes, tanto que, em 2013, as exportações de flores e plantas ornamentais foram de apenas US\$ 23,81 milhões (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014), representando apenas 0,2% das transações comerciais mundiais de flores e plantas entre vendedores e compradores (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013a).

2.2 A cultura do abacaxi ornamental

O abacaxi ornamental pertence ao gênero *Ananas*, a Ordem Poales e a Família Bromeliaceae e juntamente com, aproximadamente, outros 56 gêneros e cerca de 3.086 espécies, constitui a maior família de distribuição natural restrita ao novo mundo (SOUZA *et al.*, 2014).

De forma semelhante a outras bromeliáceas, os abacaxis, seja em sua forma selvagem ou não-cultivadas, têm características extraordinárias para uso ornamental. Os genótipos selvagens apresentam diversidade de formas e cores que se destacam por sua beleza, originalidade e durabilidade de seus frutos e folhas (SOUZA, 2007; SOUZA *et al.*, 2012).

As plantas dessa família caracterizam-se por apresentar um talo curto; roseta de folhas estreitas e rígidas; inflorescências terminais racemosas ou paniculadas,

geralmente com brácteas vistosas; flores hermafroditas, actinomórficas, trímeras, com boa diferenciação entre cálice e corola; seis estames; ovário súpero a ínfero, trilocular, com placenta axilar e numerosos óvulos; frutos tipo cápsulas ou bagas, sementes pequenas, nuas, aladas ou pilosas, com endosperma reduzido e um pequeno embrião (FIGURA 1) (SOUZA *et al.*, 2014).

Figura 1 – Abacaxi ornamental



Foto: Fernanda V. D. Souza.

2.3 Doenças do abacaxizeiro ornamental

Algumas doenças que ocorrem nos abacaxizeiros comerciais são observadas em abacaxizeiros ornamentais, a exemplo da murcha, causada pelo vírus PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*), podridão-do-olho, causada pelo fungo *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, e os nematóides *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*, *Paratylenchus brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis*. Entretanto, a enfermidade que merece destaque é a fusariose ocasionada pelo fungo *Fusarium* sp. (CARVALHO *et al.*, 2014).

A fusariose está presente nas principais regiões produtoras de abacaxi ornamental, ocasionando perdas consideráveis na produção. Em plantas adultas, bem como em mudas, observa-se a presença de lesões na região do caule em sua parte basal, progredindo para a base da folha. Em condições de alta severidade da doença, verifica-se que a região afetada apresenta-se apodrecida ocorrendo a morte da planta. Entretanto, o sintoma mais característico da enfermidade é a presença de exsudação de goma na região infectada (FIGURA 2) (SOUZA *et al.*, 2014).

Figura 2 – Fusariose em mudas tipo filhote de abacaxi comestível



Foto: Davi Theodoro Junghans.

2.4 O agente etiológico da fusariose: *Fusarium* sp.

A forma anamórfica de *Fusarium* spp. é pertencente ao Reino Fungi, Divisão Deuteromycotina, classe dos Hyphomycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae. O gênero é representado por 1414 espécies, 348 variedades e 140 formae speciales, descritas em literatura (INDEX FUNGORUM, 2015).

O gênero *Fusarium* spp. apresenta micélio aéreo filamentosso, denso e cotonoso, formado de hifas ramificadas e septadas; dois tipos de conídios: macro e microconídios e estruturas assexuadas de resistência: os clamidósporos. Quando presentes os clamidósporos podem ser terminais, intercalados, isolados ou em cadeias. Os conídios fusiformes são produzidos em esporodóquios (FIGURA 3). As características culturais, pigmentação em diversos meios de cultura, produção de toxinas e virulência do patógeno são importantes critérios de identificação deste gênero (MELO *et al.*, 2010).

Temperaturas variando entre 20 e 30°C são as mais favoráveis ao crescimento micelial, esporulação e germinação conídios das espécies de *Fusarium*. Em um estudo envolvendo um isolado de *Fusarium pallidoroseum* patogênico a melão, o máximo crescimento micelial e esporulação foram encontrados à 30°C, sendo que temperaturas de 10°C (mínima) e 40°C (máxima) inibiram totalmente o crescimento do fungo, apesar de não serem letais (TERAO, 2003).

Figura 3 – Isolados de *Fusarium* spp.



Foto: Próprio autor. (A) e (C) Culturas de isolados de *Fusarium* spp., (B) Conídios de *Fusarium* spp.

2.5 Métodos de manejo da fusariose

O plantio de cultivares resistentes é a medida mais eficiente para controlar doenças de plantas (MATOS; CABRAL, 1988; 2006; MATOS *et al.*, 1991) e este conceito é também útil para as flores e plantas ornamentais. Entretanto, para o controle da fusariose recomenda-se 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.*, 1993).

O controle químico deve ser feito tão logo sejam detectados os primeiros sintomas. Embora vários produtos sejam eficientes no controle da fusariose, Benomyl (metil-1-butilcarbomoiil-2-benzimidazol- -carbamato) e Captan (N-(trichloromethylthio)-4-cyclohex-ene-1,2- -dicarboximide)] são os registrados para esse propósito (CARVALHO *et al.*, 2014).

2.6 Indução de resistência em plantas

É conhecido que certos tipos de infecção ou outros tratamentos podem induzir a resistência de plantas à doenças. A planta induzida é capaz de resistir a um ataque de agentes patogênicos por causa de uma maior capacidade para expressar rapidamente defesas sobre a infecção (WALTER *et al.*, 2007).

Duas premissas básicas devem ser consideradas para explicar o fenômeno global de resistência induzida, ou seja, aquela que torna uma planta conhecidamente suscetível a uma doença ou a várias doenças, ser fisiologicamente ou bioquimicamente alterada, de modo que agora possa resistir a essas infecções (WALTER *et al.*, 2007).

Em primeiro lugar, as plantas devem possuir todos os genes necessários para montar uma defesa ativa. Em segundo lugar, o tratamento de indução é capaz de ativar algumas das defesas diretas e mais importantes, onde sensibiliza a planta de tal forma que permite a expressão rápida de um amplo conjunto de defesas após infecção por um agente patogênico (WALTER *et al.*, 2007).

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) e a Resistência Sistêmica Induzida (RSI) são fenômenos distintos, quanto à forma pela qual são induzidos e desencadeados os mecanismos bioquímicos envolvidos (MÉTRAUX, 2001). Entretanto são bastante semelhantes no resultado fenotípico final, o qual se expressa sob forma de indução de resistência, resistência essa com caráter sistêmico.

Embora existam discordâncias, assume-se que RSA envolve o acúmulo de PRPs (Proteínas Relacionadas com Patogênese) como mecanismos indutores de defesa da planta sendo sua indução por salicilato-dependente o que pode resultar em alterações visuais (necroses, por exemplo) na planta que sofreu indução e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos. No caso de RSI, não há acúmulo de PRPs, a planta que sofreu indução não exibe alterações, o agente indutor é usualmente um microrganismo não-patogênico e sua indução não é salicilato dependente, parecendo haver outra rota de sinalização mais associada à jasmonatos e etileno (MÉTRAUX, 2001).

2.7 Indutores de resistência a doenças de plantas

Dentre os indutores de resistência de plantas a doenças destaca-se o produto comercial à base de acibenzolar-S-metil, o Bion[®], também conhecido por ASM. O ASM é um análogo do ácido salicílico (AS), que age induzindo a ativação de genes que codificam proteínas PR e enzimas relacionadas com a produção de fitoalexinas e lignina (RESENDE *et al.*, 2006).

Já o Ecolife[®] é originado de biomassa cítrica, ou segundo o fabricante, uma formulação aquosa heterogênea contendo polifenóis, flavonóides, fitoalexinas e ácidos orgânicos diluídos e tem se mostrado eficaz na proteção a doenças nas culturas do pepino (*Cucumis sativus*), do cafeeiro (*Coffea arábica*) e do cacauzeiro (*Theobroma cacao*) (RODRIGUES *et al.*, 2006).

Outro indutor interessante por desencadear a resposta de defesa das plantas é o silício. O mecanismo pelo qual o silício afeta o desenvolvimento das doenças em

plantas é possivelmente resultado da ação deste elemento no tecido do hospedeiro, proporcionando impedimento físico e um maior acúmulo de compostos fenólicos e lignina no local da injúria (CHÉRIF *et al.*, 1992). Esta função estrutural proporciona mudanças anatômicas nos tecidos, como células epidérmicas com a parede celular mais espessa devido à deposição de sílica nas mesmas, favorecendo a melhor arquitetura das plantas, além de aumentar a capacidade fotossintética e resistência às doenças (BÉLANGER *et al.*, 2003).

Além desses indutores comerciais, diversos agentes vêm sendo estudados como possíveis elicitores de respostas de defesa ou indutores de resistência. Esses agentes podem incluir o ácido salicílico, o ácido β -amino butírico (BABA), o etefon e o metil salicilato (CARDOSO FILHO, 2003). Além disso, os estresses de natureza biótica ou abiótica, a presença de um patógeno avirulento ou de suas partes (glicoproteína ou um carboidrato estrutural), um organismo não patogênico, como as bactérias promotoras de crescimento ou leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, podem atuar também como elicitores de resistência. Segundo Cardoso Filho (2003) evidenciando o papel da levedura *S. cerevisiae* na ativação de mecanismos de resistência e na proteção de plantas contra fitopatógenos observou o efeito de suspensões de células dessa levedura (linhagem de panificação) e do filtrado dessas suspensões, na proteção de plantas de sorgo e milho contra *Colletotrichum graminicola* e *Exserohilum turcicum*.

É muito provável que a resistência induzida esteja relacionada à presença de determinados carboidratos e glicoproteínas presentes na parede celular da levedura. De acordo com Labanca (2002), a parede celular da levedura é formada basicamente por polissacarídeos e proteínas (β -1,3-glucanas, 50%; β -1,6- glucanas, 10% manoproteínas, 40% e quitina, 1-3 %). A autoclavagem de células de *S. cerevisiae* libera diversos polímeros e oligômeros com massa molecular, carga e conteúdo de açúcares e de proteínas bastante variável. Wulff & Pascholati (1999) extraíram uma glicoproteína carregada negativamente, cuja porção protéica é importante para a indução da síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Isolados de *Fusarium* spp. utilizados no estudo

Foram utilizados seis isolados de *Fusarium* spp. oriundos de plantas sintomáticas (diferentes híbridos) de abacaxizeiro ornamental, cultivadas em vaso, sob condições de campo aberto (TABELA 1). As plantas envasadas estavam localizadas no Campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical (Pacajus-CE) (FIGURA 4).

Figura 4 - Experimento contendo os híbridos de abacaxi ornamental, onde foram obtidos os isolados de *Fusarium* spp., no Campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, Pacajus-CE.



Foto: Christiana Bruce

Tabela 1 – Isolados de *Fusarium* spp. obtidos de Híbridos de abacaxi ornamental

Isolados	Híbridos	Forma de propagação	Parte da planta coletada
FVE 64	E	Muda obtida de Filhote da planta matriz	Folha
MVE 85	D	Muda obtida por micropropagação	Folha
MVE 89	D	Muda obtida por micropropagação	Folha
MVA 28	A	Muda obtida por micropropagação	Folha
MVA 85	A	Muda obtida por micropropagação	Folha
MVE 52	D	Muda obtida por micropropagação	Folha

Fonte: Próprio autor.

Cada híbrido foi proveniente dos cruzamentos de variedades de abacaxis ornamentais (FIGURA 5). Os híbridos A, D e E foram provenientes do cruzamento entre *A. comosus* var. *bracteatus* x *A. comosus* var. *erectifolius*. Entretanto, são plantas com características diferentes. As mudas dos híbridos A e D foram obtidas através da micropropagação. Já o híbrido E foi obtido diretamente de uma planta matriz (muda tipo filhote).

Figura 5 – Híbridos de abacaxi ornamental



Foto: Everton Hilo de Souza. (A) Híbrido A, (B) Híbrido D.

3.2 Testes de patogenicidade

Após o isolamento indireto (ALFENAS & MAFIA, 2007) e obtenção dos isolados fúngicos, em plantas envasadas dos híbridos de abacaxi ornamental, procedeu-se os testes de patogenicidade. Os testes foram realizados com o objetivo de verificar se os isolados de *Fusarium* spp. seriam patogênicos ao abacaxi ornamental. Foram realizados dois tipos de teste de patogenicidade: 1) Ferimentos nas raízes das plantas e *dipping* do inóculo do patógeno e; 2) Injeção do inóculo do patógeno, na região do colo da planta.

Para os dois testes de patogenicidade foram utilizadas mudas de abacaxizeiro ornamental, híbrido D, produzidas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza (CE). Antes do plantio, as mudas *in vitro* foram submetidas aos seguintes procedimentos: lavagem em água corrente para retirada do excesso de meio de cultura e classificação quanto ao porte da planta, selecionando mudas de aproximadamente 5 cm de altura.

Para o plantio foi realizada a autoclavagem de uma formulação (solo + substrato comercial, HS Florestal), na proporção de 2:1 (solo: substrato). A formulação foi autoclavada, por 1 hora, em dois dias consecutivos. Após sete dias, as mudas foram plantadas em bandejas de 162 células, contendo a formulação estéril, incorporado com cerca de 62,3 g de adubo de liberação lenta (Osmocote), por bandeja. As mudas foram aclimatizadas sob condições de casa de vegetação, por um período de dois meses, para posterior inoculação do patógeno.

Os seis isolados de *Fusarium* spp. preservados em tubos de ensaio com meio de cultura BDA (batata dextrose ágar) inclinado foram repicados para placas de Petri e incubados à 28°C, em condições de fotoperíodo (12 horas claro/12 horas no escuro). Após sete dias de incubação, retirou-se fragmentos do crescimento do fungo, para confecção de lâminas e confirmação da esporulação do patógeno. As lâminas foram preparadas e visualizadas, com auxílio de microscópio de luz (40x). Confirmada a esporulação foi realizado o processo de ajuste de concentração de inóculo, para inoculação das mudas. Para tal, foi depositada com auxílio de uma proveta, 10 ml de água destilada, em placas contendo o crescimento micelial dos isolados. Realizou-se a raspagem do crescimento, filtragem e ajuste da concentração, para 1×10^5 conídios/mL (FIGURA 6).

A severidade da doença foi avaliada, com auxílio de escala de notas, que variava de: 0 - planta sem sintoma; 1 - planta com início de podridão na base; 2 - planta com podridão leve; 3 - planta com podridão média; 4 - planta com podridão severa; 5 - planta com a base totalmente apodrecida, ocorrendo morte da planta (GRANJA *et al.*, 2013). Após a obtenção das notas foi calculado o Índice de severidade da doença (ISD), de acordo com a formula descrita por McKINNEY *et al.* (1923):

$$ISD = (\sum (x n) / N 5) 100$$

Onde x= nota de cada planta observada, n= número de plantas com a nota X e N= número total de plantas observadas.

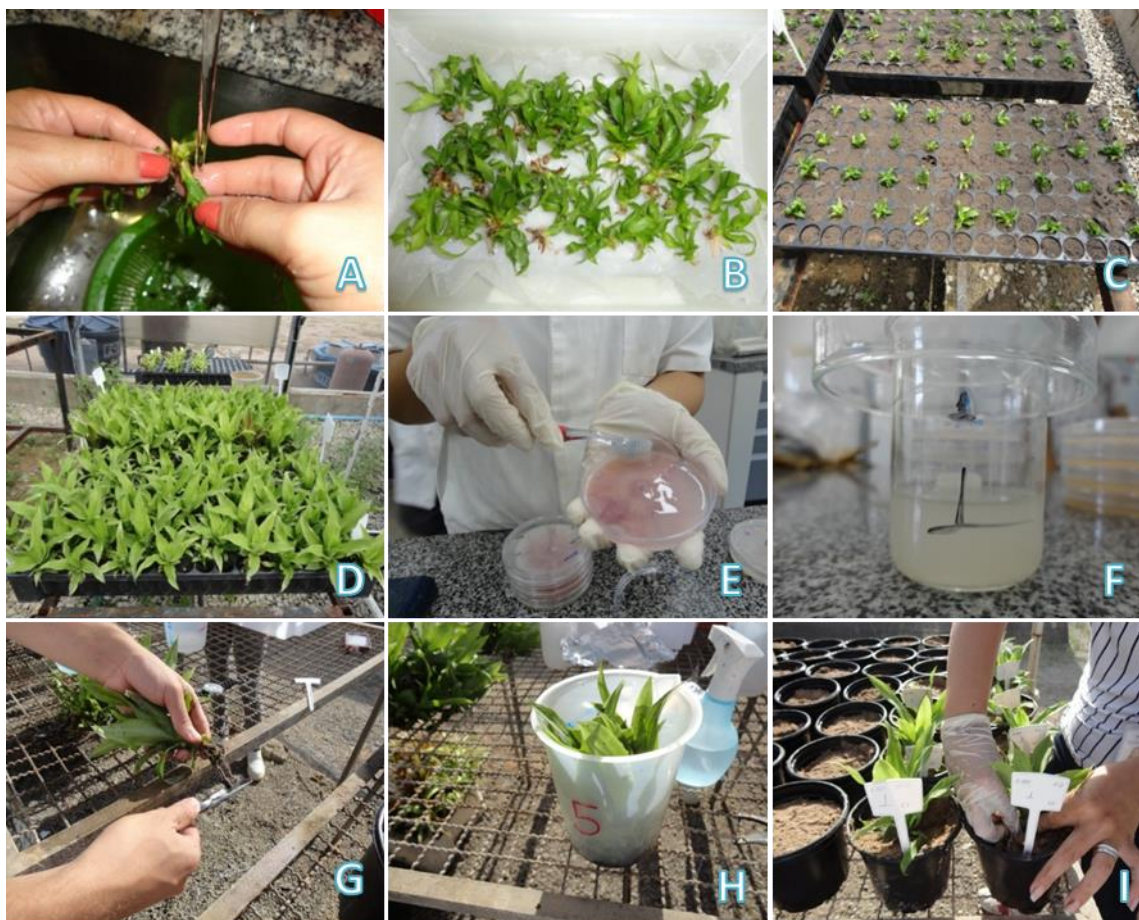
3.2.1 Teste de patogenicidade: ferimentos nas raízes das plantas e “dipping” no inóculo do patógeno

Para inoculação dos isolados fúngicos foram utilizadas 60 mudas, do híbrido D, aclimatizadas. Cada isolado de *Fusarium* spp. foi inoculado em dois grupos de 5 plantas (tratamento com ferimentos nas raízes e sem ferimentos). Os ferimentos nas raízes foram realizados com auxílio de uma tesoura desinfestada, com solução de NaClO (2%). As mudas foram imersas (*dipping*) na suspensão de inóculo do patógeno, por cinco minutos, para posterior plantio nos vasos com solo estéril.

As avaliações foram realizadas 90 dias após a inoculação, procedendo-se o arranquio das plantas dos vasos e lavagem em água corrente, para retirada do excesso de solo. As mudas foram acondicionadas em sacos plásticos e conduzidas ao laboratório de Patologia Pós-colheita, da Embrapa Agroindústria Tropical. Foram realizados cortes longitudinais, na região do caule da planta, com auxílio de uma faca desinfestada, com solução de NaClO (2%), para visualização do escurecimento na região do colo da planta.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (6 isolados x 2 tratamentos, com e sem ferimentos), com 5 repetições (cada repetição= uma planta), em cada uma das situações. Na análise dos dados utilizou-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade (ANOVA).

Figura 6 - Teste de patogenicidade de *Fusarium* spp. utilizando o método do fermento, com *dipping* da muda em inóculo do patógeno



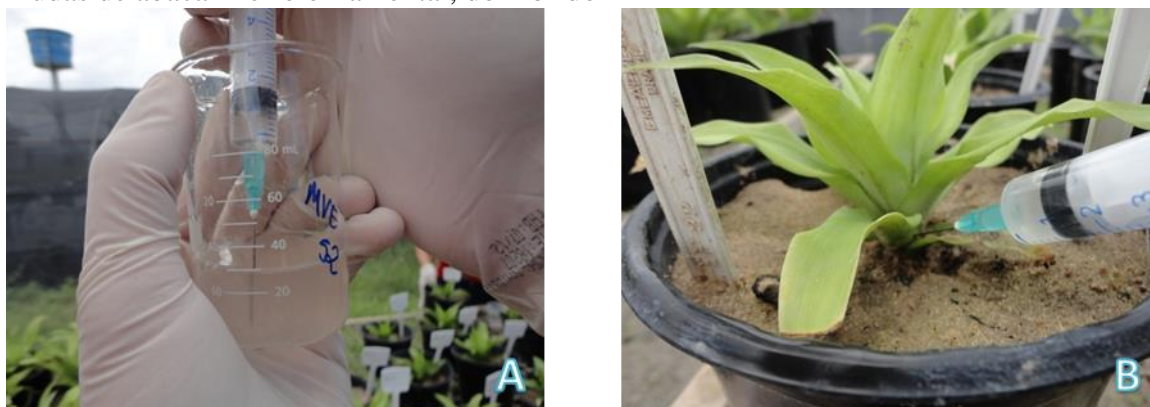
Fonte: Próprio autor. (A) Lavagem das mudas; (B) Mudanças prontas para o plantio na bandeja; (C) Mudanças plantadas nas bandejas; (D) Mudanças com dois meses de idade, aclimatizadas em casa de vegetação; (E) Cultura pura de *Fusarium* spp., com sete dias de crescimento; (F) Concentração de inóculo do patógeno ajustada, para 1×10^5 conídios/mL; (G) Corte nas raízes das mudas, com auxílio de tesoura desinfestada; (H) Imersão das mudas, na suspensão de inóculo do patógeno; (I) Plantio das mudas, em solo estéril.

3.2.2 Teste de patogenicidade por injeção do inóculo na região do colo da planta

Para inoculação dos seis isolados fúngicos foram utilizadas 60 mudas, do híbrido D, aclimatizadas. Em cada muda foi depositada, na região do colo, com auxílio de uma seringa estéril 2 mL, da suspensão de conídios ajustada em 1×10^5 conídios/mL (FIGURA 7).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições (cada repetição representou uma planta). As avaliações procederam-se 20 dias após a inoculação.

Figura 7 - Teste de patogenicidade de *Fusarium* spp., com injeção do inóculo no colo de mudas de abacaxizeiro ornamental, do híbrido D



Fonte: Próprio autor, (A) e (B) Suspensão de inóculo do patógeno e inoculação dos conídios, na região do colo das plantas, com auxílio de uma seringa estéril.

3.3 Influência de indutores de resistência no crescimento micelial de *Fusarium* spp.

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Patologia Pós-colheita e teve como objetivo quantificar a influência de indutores de resistência bióticos e abióticos no crescimento micelial de *Fusarium* spp.. Para tal, seis isolados de *Fusarium* spp., preservados em tubos de ensaio, foram repicados para placas de Petri e incubados à 28°C em fotoperíodo (12 horas claro/12 horas escuro), para utilização no ensaio.

Os indutores foram depositados em erlenmeyers, contendo 250 mL de meio de cultura BDA, autoclavado. Após, os seguintes indutores de resistência (tratamentos) foram incorporados ao meio de cultura: 1- Bion® (0,2 g/250 mL), 2- Agro-Mos® (200 µL/250 mL), 3- Ecolife® (200 µL/250 mL) e 4- Fertsilício® (200 µL/250 mL). As testemunhas consistiram na incorporação do fungicida Tiabendazol (1400 µL/250 mL) (controle positivo) e apenas meio de cultura BDA (controle negativo) (FIGURA 8).

Após os procedimentos, discos dos isolados testados (3 mm de diâmetro), foram depositados no centro de cada placa de Petri. O experimento foi conduzido em incubadora do tipo BOD, à 28 °C. A constatação do efeito dos tratamentos foi realizada pela medição do crescimento micelial em dois sentidos diametralmente opostos (denominados "a" e "b"), com auxílio de uma régua milimetrada. A medição foi realizada a cada 24 horas até que, em uma das placas contendo o controle negativo, o crescimento micelial do fungo atingisse a borda da placa de Petri. Com os dados das medições obtidos foram calculadas as áreas do crescimento micelial, através da área da elipse onde:

$$A = r_1 r_2 \pi$$

Em que: A= área da elipse, r1= raio do crescimento horizontal, r2= raio do crescimento vertical, $\pi = 3,14159$.

Com esses valores foi possível calcular a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de cada um dos tratamentos, ao longo dos dias de avaliação, onde:

$$AACCM = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{(i+1)}}{2} \right) (t_{(i+1)} - t_i)$$

Em que: y = área de crescimento micelial, t = tempo de avaliação do crescimento micelial. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com os ensaios repetidos duas vezes, ao longo do tempo. Em cada ensaio, os tratamentos apresentaram três repetições (cada placa representou uma repetição). Os dados foram submetidos à análise de variância e a médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa STATISTICA 7.0.

Figura 8 - Indutores de resistência no crescimento micelial de *Fusarium* spp.



Fonte: Próprio autor. (A) Indutores de resistência utilizados no estudo; (B) Erlenmeyers contendo o indutor incorporado, (C) Incubadora tipo BOD, onde os tratamentos foram incubados e (D) Isolado MVE52 de *Fusarium* spp. com 7 dias de crescimento, submetido ao tratamento com Fertilisílcio.

3.4 Germinação de conídios de *Fusarium* spp. em diferentes indutores de resistência

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Patologia Pós-colheita e teve como objetivo quantificar a influência dos indutores de resistência bióticos e abióticos, difundidos em meio de cultura sólido, na germinação de conídios de *Fusarium* spp. Para o estudo, seis isolados de *Fusarium* sp. armazenados em tubos de ensaio, foram repicados para placas de Petri, conforme descrito no item 3.2.1.

Após a incorporação dos indutores no meio de cultura (conforme metodologia e concentrações descritas, no item 3.3), foram obtidos discos de meio de cultura + tratamentos (conjunto), com auxílio de um furador de 15 mm. Foi depositado o conjunto, em lâminas de vidro estéreis de microscopia. Posteriormente foram adicionadas gotas de 20 μ L da suspensão de conídios, de cada isolado fúngico. Não foi possível ajustar a concentração de conídios em função da pouca esporulação dos isolados. As lâminas foram mantidas em câmara úmida (caixas tipo gerbox, com papel toalha umedecido com água destilada esterilizada) à 25 °C, por 6 h no claro em incubadora tipo BOD. Após este

período, a germinação foi paralisada com a adição de duas gotas do corante azul de Aman, contendo lactofenol. Dessa forma, foram avaliados os conídios germinados, num universo de 100 conídios contabilizados aleatoriamente, com auxílio de microscópio de luz (40 x). Foi considerado germinado o conídio com tubo germinativo com comprimento pelo menos uma vez maior que a largura do conídio (FIGURA 9).

Figura 9 - Teste de Germinação de conídios de *Fusarium* spp., com diferentes indutores de resistência



Fonte: Próprio autor, (A) Discos de meio de cultura com indutores de resistência incorporados; (B) Deposição dos conídios de *Fusarium* spp. nos discos de meio de cultura com os tratamentos; e (C) Paralisação da germinação dos conídios de *Fusarium* spp., com o corante azul de Aman, contendo lactofenol.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com os ensaios repetidos duas vezes, ao longo do tempo. Cada ensaio contou com quatro repetições (uma repetição = uma lâmina, com dois conjuntos). Os dados foram submetidos à análise de variância e a médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa STATISTICA 7.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes de patogenicidade: ferimentos nas raízes das plantas e *dipping* no inóculo do patógeno

A maioria dos isolados de *Fusarium* spp. foi patogênica ao abacaxizeiro ornamental híbrido D, exceto FVE 64. Este isolado foi coletado do híbrido E, significando uma provável especificidade do isolado, quanto ao hospedeiro. Observou-se que a severidade da doença apresentou notas que variavam de 0 (ausência de doença) a 2 (planta com podridão leve) independentemente da existência ou não de ferimento nas raízes. Além disso, não houveram diferenças significativas entre tratamentos e entre os isolados testados (TABELA 2). Estes resultados corroboram, com o fato que, a fusariose do abacaxi ornamental é uma enfermidade que ocorre tipicamente na região do colo das plantas, ocasionando os sintomas típicos de podridão (FIGURA 10).

Tabela 2 - Teste de patogenicidade de *Fusarium* spp., em mudas de abacaxizeiro ornamental (híbrido D) com e sem ferimento nas raízes e dipping do inóculo do patógeno

Isolados	Tratamento*	ISD	Frequência da nota					
			0	1	2	3	4	5
MVA28	Ferimento	0	5	0	0	0	0	0
	Sem ferimento	4	4	1	0	0	0	0
MVE85	Ferimento	8	4	0	1	0	0	0
	Sem ferimento	0	5	0	0	0	0	0
MVE52	Ferimento	0	5	0	0	0	0	0
	Sem ferimento	8	3	2	0	0	0	0
MVA85	Ferimento	4	4	1	0	0	0	0
	Sem ferimento	8	4	0	1	0	0	0
FVE64	Ferimento	0	5	0	0	0	0	0
	Sem ferimento	0	5	0	0	0	0	0
MVE89	Ferimento	4	4	1	0	0	0	0
	Sem ferimento	4	4	1	0	0	0	0
Média*	Ferimento	2,66	4,50	0,33	0,17	0,00	0,00	0,00
	Sem ferimento	4,00	4,17	0,67	0,17	0,00	0,00	0,00

Fonte: Produção do próprio autor.

ISD: Índice de severidade da doença, (*) = Não diferiram entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 10- Teste de patogenicidade: com e sem ferimento nas raízes das plantas



Fonte: Próprio autor.

(A) Teste inoculação com corte, (B) Teste inoculação sem corte. Sem apresentação de sintomas de fusariose.

Em outros patossistemas como o da bananeira x *F. oxysporum* f.sp. *cubense* o patógeno infecta o hospedeiro pela região das raízes. Dessa forma, os autores observaram que o método de imersão das raízes foi bastante eficiente na expressão dos sintomas da enfermidade (SILVA 2007). Entretanto, Souza *et al.* (2002), avaliando híbridos de abacaxizeiro ornamental, em Cruz das Almas (BA), quanto a resistência a fusariose do abacaxi ornamental, adotou o método de imersão das raízes, apesar do patógeno ocasionar infecção na região do colo da planta. Os autores verificaram que 20 dias após a inoculação, as plantas já apresentavam sintomas severos da doença. Muito provavelmente, no presente estudo, as condições (ambientais ou resistência natural do híbrido) nas quais foram conduzidos os experimentos, podem não ter favorecido a uma expressão dos sintomas da doença.

4.2 Teste de patogenicidade: injeção do inóculo na região do colo da planta

A maioria dos isolados de *Fusarium* spp. foi patogênica ao abacaxizeiro ornamental, híbrido D (FIGURA 11) exceto os isolados MVA28 e FVE64. Não foram observadas diferenças significativas entre os isolados testados, quanto ao método de injeção de inóculo no colo da planta. Entretanto, quando se compara os índices de severidade de doença, os isolados MVE85 e MVE52 foram os mais agressivos. Com os resultados obtidos observa-se que o método de injeção de inóculo no colo da planta foi eficiente para promover o desenvolvimento da doença (TABELA 3).

Tabela 3 - Teste de patogenicidade de *Fusarium* spp. em mudas de abacaxizeiro ornamental (híbrido D) realizando o método da injeção do inóculo no colo das plantas

Isolado	Tratamento*	ISD	Frequência da nota					
			0	1	2	3	4	5
MVA28	Injeção	0	5	0	0	0	0	0
MVE85	Injeção	8	4	1	0	0	0	0
MVE52	Injeção	6	2	1	2	0	0	0
MVA85	Injeção	4	4	1	0	0	0	0
FVE64	Injeção	0	5	0	0	0	0	0
MVE89	Injeção	5	2	2	1	0	0	0
Média*	Injeção	3,83	3,66	0,83	0,50	0,00	0,00	0,00

Fonte: Produção do próprio autor.

ISD: Índice de severidade da doença, (*) = Não diferiram entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Assim como observado nesse estudo, o método de inoculação das estruturas de *Fusarium* spp. em espécies de helicônias foi considerado o mais eficiente tornando possível observar os sintomas típicos da fusariose nas plantas depois de 36 dias após a inoculação (CASTRO *et al.*, 2008).

Souza (2011), utilizando as variedades 'Pérola' e 'Smooth Cayenne' de abacaxi comestível, observou que os sintomas da fusariose apareceram cinco semanas após a inoculação por injeção. A severidade da doença aumentou ao longo do tempo e três meses após a inoculação todas as plantas dos controles estavam mortas. Resultados similares foram observados em plantas do abacaxi ornamental, dos híbridos: *A. comosus* var. *bracteatus* × *A. comosus* var. *erectifolius*.

Figura 11- Teste de patogenicidade com injeção do inóculo na região do colo da planta



Fonte: Próprio autor. (A) Teste com injeção do inóculo (isolado MVE89), (B) Teste com injeção do inóculo: isolado MVE89 comparado com a planta testemunha.

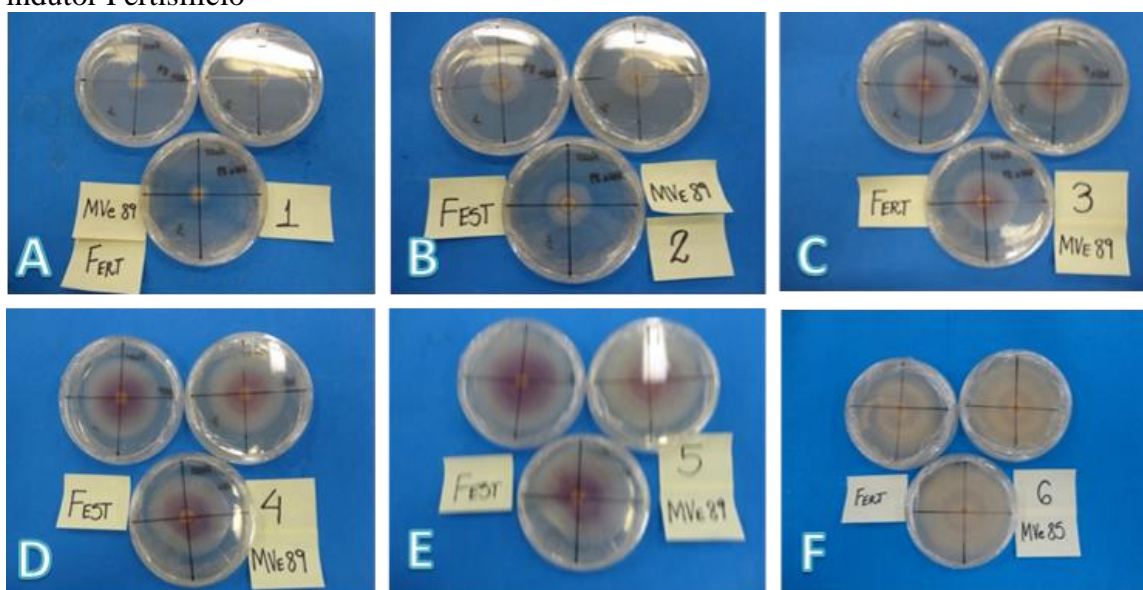
4.3 Influência de indutores de resistência no crescimento micelial de *Fusarium* spp.

Os indutores de resistência tiveram comportamento distinto (FIGURA 13), quanto à influência no crescimento micelial dos isolados de *Fusarium* spp. O indutor Fertisilício® não apresentou efeito fungitóxico direto, para todos os isolados testados de *Fusarium* spp. (FIGURA 12). Este resultado provavelmente sugere o caráter de indução de resistência do silício, uma vez que o silício forma uma barreira física impedindo a penetração do patógeno nos tecidos do hospedeiro bem como, estimula a síntese de vários compostos fenólicos e fitoalexinas (BÉLANGER; MENZIES, 2003).

Os demais indutores tiveram comportamento fungitóxico em alguns dos isolados testados. Para os isolados FVE 64, MVA 85, MVE 52 e MVE 85, MVE 89 o Bion®, Agro-Mos® e Ecolife® não apresentaram diferenças significativas, quando comparado com o controle positivo (fungicida). Entretanto, os isolados não diferiram do Fertisilício® (FIGURA 14). Assim, para *Fusarium* spp., os indutores Bion®, Agro-Mos® e Ecolife® apresentaram efeitos fungitóxicos, controlando o crescimento micelial do mesmo, comparando com a testemunha positiva fungicida. Diferentemente do indutor Fertisilício® que em nenhum isolado de *Fusarium* spp. apresentou efeito direto no crescimento micelial.

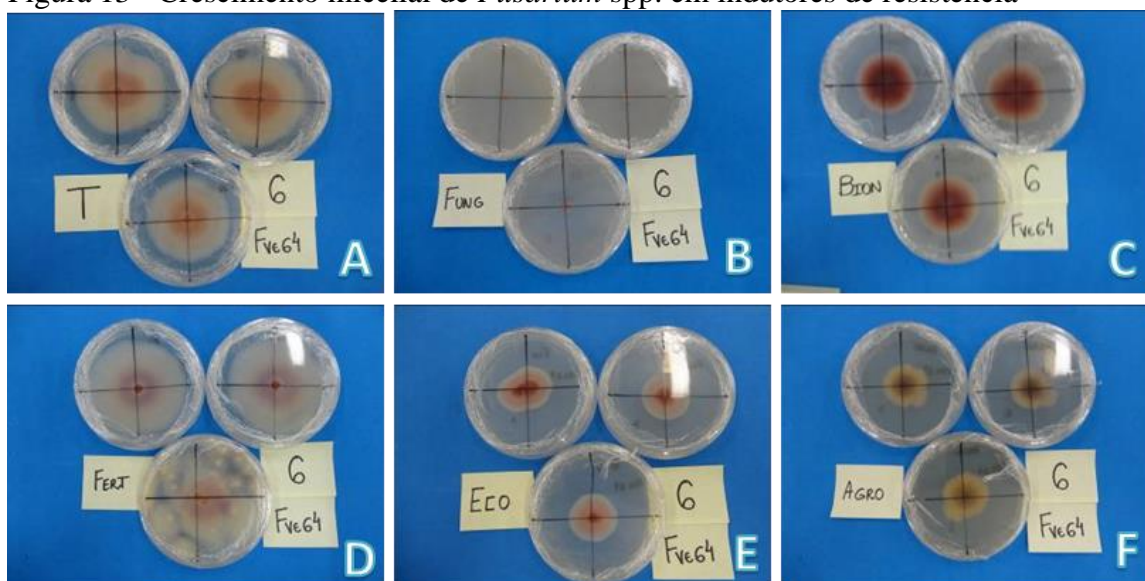
Estes resultados sugerem que, estes indutores de resistência apresentaram efeito direto no crescimento micelial de *Fusarium* sp. Entretanto, provavelmente *in vivo* eles podem estimular as respostas de defesa da planta. Dessa forma, são necessários estudos com plantas de abacaxi ornamental, para comprovar ou rejeitar esta afirmação.

Figura 12 - Crescimento micelial de *Fusarium* spp. no tratamento conduzido com o indutor Fertilício®



Fonte: Próprio autor. (A e F) Crescimento micelial do isolado MVE89, durante o 1 ao 6º dia de avaliação.

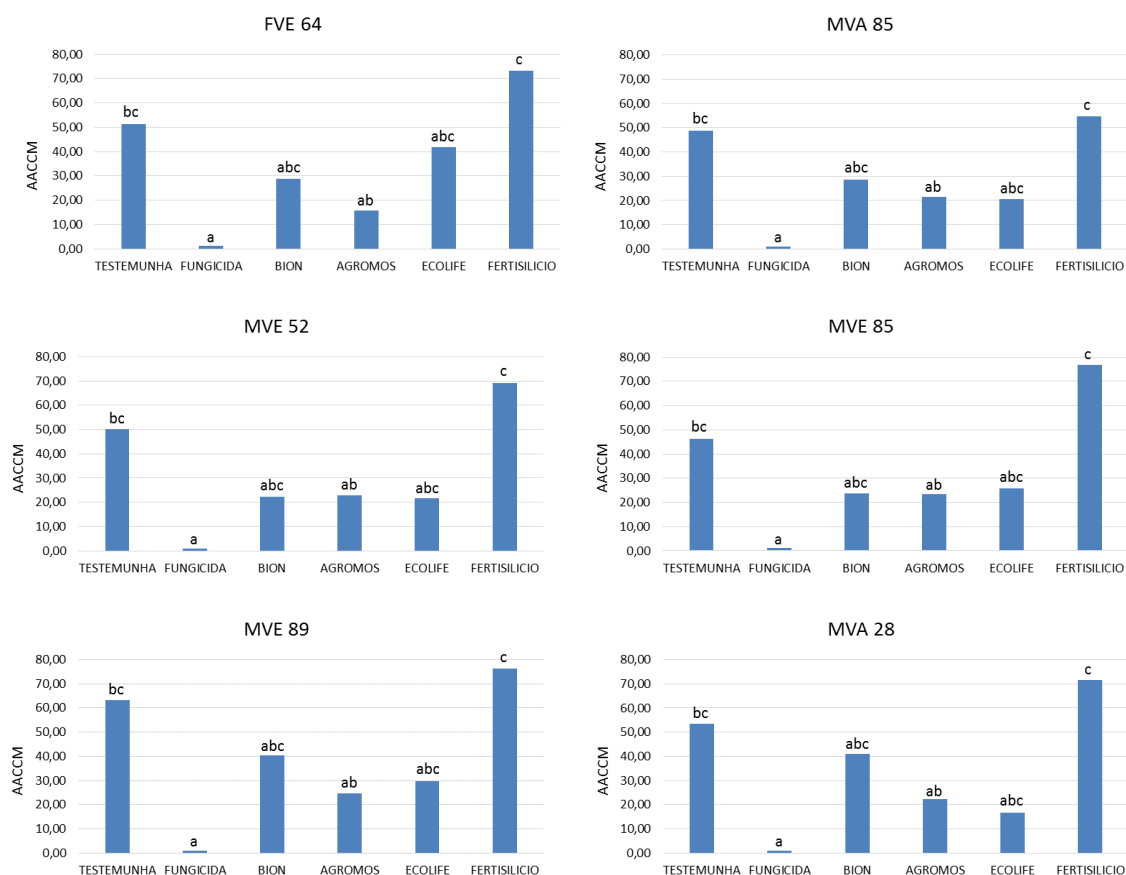
Figura 13 - Crescimento micelial de *Fusarium* spp. em indutores de resistência



Fonte: Próprio autor.

(A) Isolado FVE 64 com BDA, (B) Isolado FVE 64 com Fungicida Tiabendazol, (C) Isolado FVE 64 com Bion, (D) Isolado FVE 64 com Fertilício (E) Isolado FVE 64 com Ecolife, (F) Isolado FVE 64 com Agro-Mos. Todos no 6º dia de avaliação.

Figura 14 - Médias das áreas abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Fusarium* spp. com diferentes indutores de resistência



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Rocha *et al.* (2003) verificou que, indutores de resistência, como o Bion[®] não apresentaram influência sobre o crescimento micelial de *Fusarium* spp. e *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Estes resultados corroboram em parte com o do presente estudo, onde alguns indutores de resistência não apresentaram efeito fungitóxico direto.

Em alguns dos isolados testados, o produto Ecolife[®] inibiu significativamente o crescimento micelial *in vitro* quando comparado com os demais tratamentos e a testemunha positiva (FIGURA 14). Furtado *et al.* (2010) verificaram que o Ecolife[®] nas concentrações de 0,25; 0,5 e 1% reduziram significativamente o crescimento micelial de *Phoma costarricensis* e que a inibição do crescimento micelial foi diretamente proporcional à concentração do produto. Sugerindo neste caso, que outro mecanismo senão a indução de resistência esteja relacionada, com a redução da severidade da doença. Os resultados obtidos por Furtado *et al.* (2010) corroboram em parte, com os obtidos no presente estudo.

Silva *et al.* (2007), avaliando o efeito dos indutores Agro-Mos[®], Crop-Set[®] e Ecolife[®] sobre o desenvolvimento de dois isolados de *Penicillium sclerotigenum* em túberas de inhame, observou que entre os indutores testados o Ecolife[®] mostrou-se mais eficiente na redução do crescimento micelial do fungo no tratamento *in vitro*. Entretanto, no tratamento *in vivo*, o Ecolife[®] e o Crop-Set[®] comportaram-se de forma semelhante para os dois isolados na redução da severidade da doença. Keen (1990) aponta que há uma série de evidências que relacionam a produção de fitoalexinas em plantas com a expressão da resistência a fitopatógenos. Além disso, o Ecolife[®] demonstrou em pesquisas já realizadas, natureza também fungistática, pois à medida que aumentaram as concentrações, houve uma redução do crescimento fúngico (TOFFANO *et al.*, 2004).

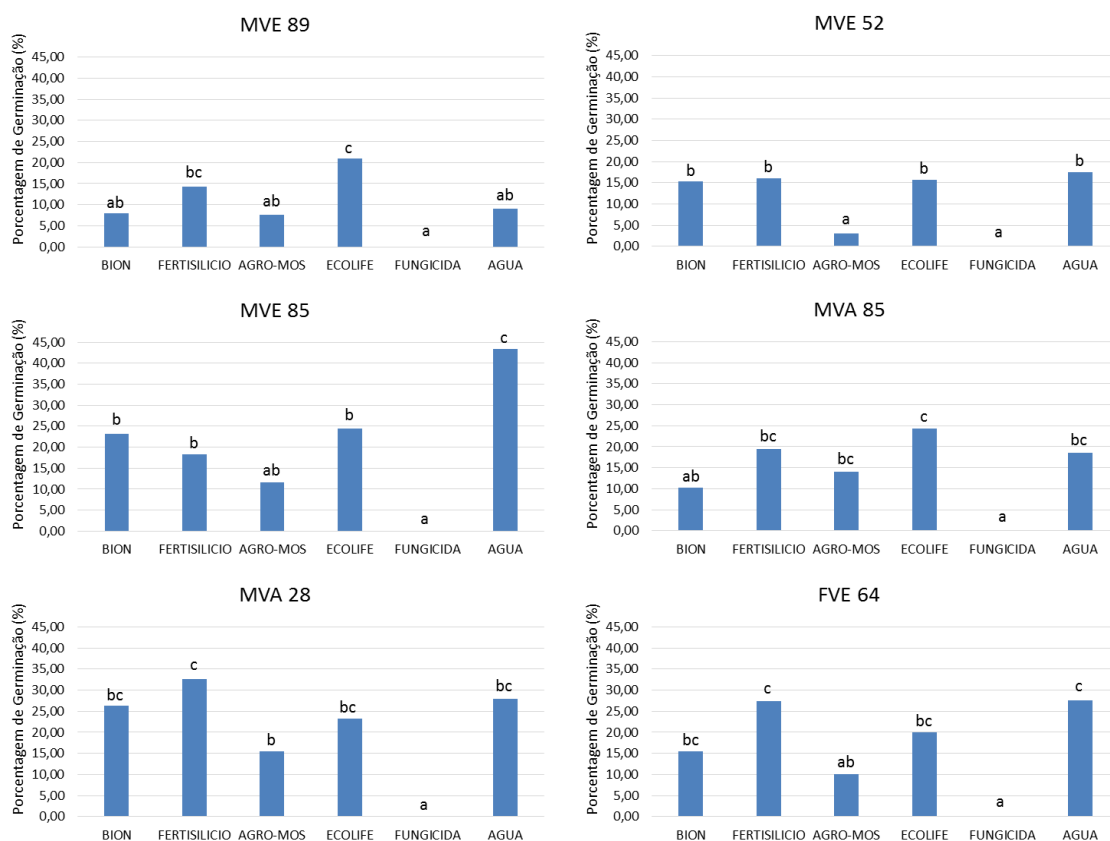
4.4 Germinação de conídios de *Fusarium* spp. em diferentes indutores de resistência

A germinação dos conídios de *Fusarium* spp. variou de 0, no tratamento com fungicida a 40% no tratamento somente com água (FIGURA 15). Os indutores tiveram comportamento distinto, quanto à influência na germinação dos conídios de *Fusarium* spp.

O Fertilício[®] e o Ecolife[®], não apresentaram efeito fungitóxico direto. Para o Bion[®] foi constatado este comportamento, apenas para quatro isolados: MVA 28, MVE 85 MVE 52, FVE 64. O Agro-Mos[®], para os isolados MVA 85 E MVA 28, comportou-se como um produto que não tem efeito fungitóxico direto, na germinação dos conídios (FIGURA 15).

Então para *Fusarium* spp., os indutores Bion[®] e Agro-Mos[®] apresentaram efeito fungitóxico, controlando a germinação de alguns isolados, comparando com a testemunha positiva (fungicida). Diferentemente do indutor Fertilício[®] e Ecolife[®] que em nenhum isolado de *Fusarium* spp. apresentou efeito direto na germinação. Provavelmente, *in vivo* estes produtos poderão estimular as defesas da planta, contra o patógeno, comportando-se como “verdadeiros” indutores de resistência sistêmica. Entretanto, são necessários também realizar estudos *in vivo*, para comprovação ou não dessa afirmativa.

Figura 15 - Médias do teste de germinação de conídios de *Fusarium* spp. com diferentes indutores de resistência



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Querino *et al.* (2005), comparando diferentes dosagens de Bion[®] verificou que, nas maiores dosagens houve uma redução na germinação de conídios de *Fusarium* spp.. Enquanto que, nas menores dosagens do indutor observou-se um estímulo a germinação dos conídios. Estes resultados corroboram, em parte, com os obtidos no presente estudo, pois não foram testadas diferentes concentrações do produto, apenas verificou-se o caráter fungicida.

Nojosa *et al.* (2008), em seu experimento com a cultura do café constatou que embora o Bion[®] não tenham apresentado efeitos significativos sobre a germinação, esses indutores interferiram no crescimento micelial de *P. costarricensis*. Enquanto que, Guzz *et al.* (2001) verificaram que as concentrações de ASM analisadas não afetaram a taxa de germinação dos conídios de *Hemileia vastatrix*, reafirmando a ausência de efeito fitotóxico do produto. Os estudos utilizando microscopia de fluorescência mostraram realmente que, a germinação dos conídios e a formação de apressórios por *H. vastatrix*, não foram afetadas pelo tratamento com o Bion[®].

5 CONCLUSÃO

A inoculação de *Fusarium* spp. em abacaxi ornamental por *dipping* não é eficiente para testes de patogenicidade em abacaxizeiro ornamental.

A inoculação de *Fusarium* spp. por injeção é eficiente para testes de patogenicidade em abacaxizeiro ornamental.

O indutor Fertisilício[®] não foi eficiente na inibição do crescimento micelial do *Fusarium* spp. *in vitro*.

Os indutores Fertisilício[®] e Ecolife[®] não foram eficientes na inibição da germinação do *Fusarium* spp. *in vitro*.

Os indutores Bion[®], Ecolife[®] e Agro-Mos[®], para alguns dos isolados fúngicos testados, foram eficientes na inibição do crescimento micelial.

Os indutores Bion[®] e Agro-Mos[®], para alguns dos isolados testados, foram eficientes na inibição da germinação de *Fusarium* spp.

6 REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 382p. 2007.
- BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Mineral nutrition in the management of plant diseases. **Phytopathology**, v. 93, p 402-412, 2003.
- CORREIA, D.; ROCHA, M.V.P.; ALVEZ, G.C.; MORAIS, J.P.S. **Produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental em diferentes substratos na presença e ausência de fertilizante**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, v. 35, 18 p. 2010.
- CARVALHO, A.C.P.P.; SOUZA, F.V.D.; SOUZA, E.H. **Produção de abacaxizeiro ornamental para flor de corte**. Fortaleza: Ed. 1, Embrapa Agroindústria Tropical, documento 169, 44p. 2014.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York: John Wiley and Sons, 532p. 1990.
- CARDOSO FILHO, J.A. **Indutores de resistência ácido salicílico, Acilbenzolar-s-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa*, *Guignardia citricarpa***. 2003. 125p. Tese (Doutorado em Microbiologia agrícola), Universidade de São Paulo, 2003.
- CASTRO, N.R; COELHO, R.S.B; LARANJEIRA, D.; COUTO, E.F.; SOUZA, M.B.R. Ocorrência, métodos de inoculação e agressividade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em *Heliconia* spp. **Summa Phytopathologica**, v.34, p.127- 130, 2008.
- CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, p. 236- 242, 1994.
- FURTADO, L.M.; RODRIGUES, A.A.C.; ARAÚJO, V.S.; SILVA, L.L.S; CATARINO, A.M. Controle da antracnose da banana em pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p.237-239, 2010.
- GRANJA, N.P.; HIRANO, E.; SILVA, G.O. Metodologia para avaliação do índice de severidade de doença em amostras de tubérculos de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 520-521, 2003.
- GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M. de; KIDA, K.; MARTINS, E.M.F. Ação protetora do acilbenzolar-S-methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, p.89-94, 2001.
- INDEX FUNGORUM **Site para consultas de táxons fúngicos**. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>. Acesso em: 13/05/2015.

JUQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Exportações da floricultura caem, mas mercado interno continua aquecido. **Agrianual 2013**, p. 295-301, 2013.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Balanço do comércio exterior da floricultura brasileira. São Paulo: **Hórtica Consultoria e Treinamento**, 8 p, 2014.

KEEN, N.T. Phytoalexins and their elicitors. **ACS Symposium**, v.439, p. 114-129, 1990.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolina em soja**. 2002. 118 p. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MATOS, A.P.; CABRAL, J.R.S. Interação entre variedades de abacaxi e isolados de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 10, p. 55-61, 1988.

MATOS, A.P.; CABRAL, J.R.S. Evaluation of pineapple genotypes for resistance to *Fusarium subglutinans*. **Acta Horticulturae**, v. 702, p. 7-73, 2006.

MATOS, A.P.; CABRAL, J.R.S. Interação entre variedades de abacaxi e isolados de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 10, p. 55-61, 1988.

MELO, W.R.F.; LIMA, MILTON L.P. **Aspectos gerais e morfológicos do fungo *Fusarium* sp.** Disponível: <http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/10/aspectos-gerais-e-morfologicos-do-fungo.html>. Acesso em: 10/05/2015.

MATOS, A.P.; MOURICHON, X.; LAPEYRE, F. Reaction of pineapple accessions to inoculation with *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Fruits**, v. 46, p. 647-652, 1991.

MICHEREFF, S.J. **Fusariose do abacaxi**. 2009. Departamento de Fitossanidade. Agronomia.UFRGS,2009.Disponivel:<http://www.ufrgs.br/agronomia/fitossanidade/fitopatologia/ficha.php?id=187>. Acesso: 28/05/2015.

MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 13-18, 2001.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n.1, p.60-62, 2009.

MCKINNEY, H.H; DAVIS, R.J. Influence of soil temperature and moisture on infection of young wheat plants by ophiobolus graminis. **Agricultural Research**, v.31, p.827-840, 1925.

QUERINO, C.M.B.; LARANJEIRA, D.; COELHO, R.S.B.; MATOS, R.P. Efeito de dois indutores de resistência sobre a severidade do Mal-do-Panamá. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 239-243, 2005.

RESENDE C.F.R.; ZACARONI, A.B.; RIBEIRO, J.P.M.; COSTA, J.C.B; SOUZA, R.M. Acibenzolar-S-Metil e Ecolife[®] na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 372-380, 2006.

RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA, N.E.; COELHO, R.S.B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492- 499, 2006.

SANTOS, B.A. **Resistência do Abacaxizeiro a Fusariose: Análise Molecular do Patógeno e do Hospedeiro**. 2000. 96 p. Tese (Doutorado). Viçosa, Minas Gerais. 2000.

SILVA; P.. **Maracujá contra *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora***. 1992.

SILVA, J.S. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-panamá da bananeira**. 2007. 65p. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo AL. 2007.

SILVA, A.S. **Seleção de metodologias para inoculação da fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae***. Cruz das Almas. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 20 p. 2011.

SOUZA, J.S.; ALMEIDA, C.O.; ARAÚJO, J.L.P.; CARDOSO, C.E.L. **A cultura da mangueira**. Brasília. Embrapa. p. 20-29. 2002.

SOUZA, F.V.D.; SEREJO, J.A.S.; CABRAL, J.R.S. Cultivar Hortaliças e Frutas. **Beleza rara**. v. 28, p 6-8, 2004.

SOUZA, F.V.D. Caracterização morfológica de abacaxizeiros ornamentais. **Magistra**, v. 19, p. 319-325, 2007.

SOUZA, E.H. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 1357-1376, 2012.

SOUZA, F.V.D.; CARVALHO, A.C.P.P.; SOUZA, E.H. **Produção de flores de corte (abacaxi ornamental)**. Lavras, MG: Ed. UFLA, v. 2, 2014.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; COSTA, J.D. S.; SANTOS, S. J.A.; AMORIM, E.P.; LEDO, C.A.S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 1357-1376, 2012.

TERAO, D. **Estratégias de controle de podridões em pós-colheita de frutos de meloeiro**. 2003. 110 p Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

TOFFANO, L.; PASCHOLATI, S.F.; PISA, J.L. Avaliação *in vitro* do efeito do Ecolife⁴⁰ no crescimento de *Alternaria solani*. **Summa Phytopathologica**, v. 30, 118 p. 2004.

VENTURA, J.A. Proposição de nova forma specialis em *Fusarium subglutinans* no abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, 280 p. 1993.

VENTURA, J.A.; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. Resistência de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* ao benomyl em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, 28 p. 1994.

VENCATO, A. Anuário Brasileiro das Flores. **Gazeta Santa Cruz**, Santa Cruz do Sul, 112 p, 2006.

WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, v. 55, p. 138-143, 1998.

WALTERS, D.; ADRIAN C.N.; GARY, L. **Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection**, v. 3, p 272. 2007.