

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE  
PLANTAS  
WANDREILLA MOREIRA GARCIA

**Comportamento *in vitro*, métodos de inoculação e fontes de  
resistência à *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro**

TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
DEZEMBRO - 2013

**WANDREILLA MOREIRA GARCIA**

**Comportamento *in vitro*, métodos de inoculação e fontes de resistência à *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro**

Dissertação apresentada a Universidade do Estado de Mato Grosso como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Melhoramento Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. DSc. Willian Krause

TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
DEZEMBRO – 2013

Walter Clayton de Oliveira CRB1/2049

Garcia, Wandreilla Moreira.

G2161c Comportamento *in vitro*, métodos de inoculação e fontes de resistência à *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro / Wandreilla Moreira Garcia. – Tangará da Serra, 2013.

58 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade do Estado de Mato Grosso, 2013

Bibliografia: f. 44 - 46

Orientador: Willian Krause

1. *Ananas comosus* var. *comosus*. 2. fusariose. 3. resistência genética. I. Autor. II. Título.

CDU 634.774

COMPORTAMENTO *IN VITRO*, MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E  
FONTES DE RESISTÊNCIA A *FUSARIUM GUTTIFORME* EM  
ABACAXIZEIRO

**WANDREILLA MOREIRA GARCIA**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento de Plantas, para  
obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 17 de dezembro de 2013.

Comissão Examinadora:



---

Prof. Aristóteles Pires de Matos (Ph.D., Plant Pathology) – EMBRAPA



---

Profª. Dejânia Vieira de Araújo (D.Sc., Agronomia) – UNEMAT



---

Prof. Willian Krause (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UNEMAT  
(Orientador)

**No que diz respeito ao desempenho, ao compromisso, ao esforço e à dedicação, não existe meio termo; ou você faz uma coisa bem feita ou não faz.  
(Ayrton Senna)**

À minha mãe Ivone Damacena Moreira e irmã  
Wanessa Moreira Garcia, dedico.

## AGRADECIMENTO

A Deus por me abençoar, guiar, confortar e levantar a todo momento.

A toda minha família, com parênteses à minha mãe Ivone Damacena Moreira, guerreira e sábia e minha irmã Wanessa Moreira Garcia, minha jóia rara.

Ao Prof. DSc Willian Krause por me orientar, por sempre solucionar todos os problemas da melhor forma possível e por muito bem coordenar o PPGMP, um exemplo a seguir.

Ao Prof. DSc. Aristóteles Pires de Matos por ter aceitado o convite para compor minha banca de defesa e me ensinar o modo mais lindo de se viver, sendo humilde, amável e inspirado pela pesquisa, me sinto lisonjeada por tê-lo conhecido.

À Prof.<sup>a</sup> DSc. Dejânia Vieira Araújo por me co-orientar sanando todas minhas dúvidas quando necessitei e por disponibilizar o laboratório de fitopatologia, a todos deste laboratório por dividir o espaço sempre com muita boa vontade e ao meu colega de mestrado Thiago que me auxiliou em minhas dúvidas.

À FAPEMAT e à CAPES pelo financiamento do projeto e concessão de bolsa, respectivamente.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP) por oportunizar a realização deste curso.

Aos meus amigos lindos e companheiros que aguentaram dois anos inteiros ouvindo diariamente TUDO sobre abacaxi, vocês são mestres por tabela, podem ter certeza.

Ao meu amigo irmão Aleson Vieira por dividir todos os momentos deste mestrado, sempre me ajudando e apoiando. Deus me concedeu um grande presente ao te conhecer, que seja eterna nossa amizade.

Aos meus amigos Igor Bartocz Dionísio por contribuir com coletas em Rondônia e Bruna Bizelli pelas traduções.

À DSc. Gabriela Palú por sempre se manter à disposição em todos os momentos que precisei, por sua amizade e companhia nos meus seis anos de UNEMAT.

A todos estagiários do laboratório de Melhoramento de Plantas pela companhia, ajuda e amizade, acreditem vocês são os Melhores, em especial às minhas pupilas Keithi e Kerhoralyne.

À secretária do mestrado Mariana e ao Cléber da biblioteca pela sua simpatia, auxílio e dedicação.

Aos integrantes do laboratório de Meteorologia por disponibilizar os dados das estações.

## BIOGRAFIA

Wandreilla Moreira Garcia, brasileira, filha de Ivone Damacena Moreira, nasceu no dia 27 de abril de 1988, na cidade de Fátima do Sul – MS. Aos três anos de idade mudou-se com a família para Barra do Bugres – MT e dois meses após para o município de Tangará da Serra, no qual reside até hoje. No ano de 2007 (primeiro semestre letivo) iniciou o curso de graduação em Ciências Biológicas na Universidade do Estado de Mato Grosso. Sua vida acadêmica resumiu-se à pesquisa na área da microbiologia, onde estagiou no projeto “Avaliação de riscos à saúde dos moradores de Tangará da Serra, devido efeitos de alterações climáticas e da microbiota de fungos alérgenos na atmosfera PPSUS/FAPEMAT” por três anos. Concluiu sua graduação no ano de 2011/1 e iniciou logo após sua pós-graduação *lato sensu* em Gestão Ambiental. Em fevereiro de 2012 iniciou o curso de pós-graduação *stricto sensu* em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade do Estado de Mato Grosso, como bolsista da Capes, finalizando em Dezembro de 2013.



## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 A cultura de <i>Ananas comosus</i> (L) Merrill var. <i>comosus</i> Coppens e Leal.....	3
2.2 Fusariose, agente etiológico <i>Fusarium guttiforme</i> Nirenberg e O'Donnell.....	5
2.3 Melhoramento visando resistência genética .....	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	9
4. COMPORTAMENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>Fusarium guttiforme</i> E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO EM FOLHAS DE ABACAXIZEIRO.....	15
RESUMO.....	15
ABSTRACT .....	17
INTRODUÇÃO .....	18
MATERIAL E MÉTODOS .....	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÕES .....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
5. IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DE <i>Fusarium guttiforme</i> EM ABACAXIZEIRO.....	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT .....	30
INTRODUÇÃO .....	31
MATERIAL E MÉTODOS .....	32
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO.....	39
AGRADECIMENTOS .....	39
REFERÊNCIAS.....	39
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	42

## RESUMO

GARCIA, Wandreilla Moreira; MSc; Universidade do Estado de Mato Grosso, Dezembro de 2013; COMPORTAMENTO *IN VITRO*, MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E FONTES DE RESISTÊNCIA DE *Fusarium guttiforme* EM ABACAXIZEIRO; Professor orientador: Willian Krause; Co-orientação: Dejânia Vieira de Araújo.

O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de abacaxi, mas a fusariose, considerada como a principal doença desta cultura, vem ocasionando perdas elevadas na produção. Desta forma, objetivou-se avaliar o comportamento *in vitro* de isolados de *F. guttiforme* em diferentes regimes de temperatura e fotoperíodo, métodos de inoculação e resistência genética de 21 acessos de abacaxizeiro à fusariose. Os experimentos foram realizados em delineamentos inteiramente casualizados. O comportamento *in vitro* avaliou o crescimento micelial de dois isolados a cada 48h, durante 10 dias. As temperaturas foram 20, 25 e 30°C sob fotoperíodos de 0, 12 e 24h. As inoculações foram realizadas em folhas D da cv. Pérola pelos métodos de palito contaminado, disco de micélio sem fermento e disco de micélio com fermento, realizados a dois, cinco, oito e onze centímetros da base da folha. A eficiência dos métodos de inoculação utilizados foi avaliada após 15 dias. Antes de iniciar as avaliações de fontes de resistência foram realizadas inoculações em mudas e folhas, com o intuito de definir qual delas proporcionaria melhor eficácia e rapidez no resultado e ainda inoculações em folhas de diferentes tipos (B, D, F), visando identificar a melhor em reprodução da doença. A partir disto foram executados os experimentos para identificação dos acessos resistentes à fusariose. Foram inoculados 21 acessos de abacaxizeiro por meio de palitos contaminados por *F. guttiforme* a cinco centímetros da base da folha e incubados por 30 dias a 25°C (fotoperíodo 12h). Avaliou-se severidade da doença aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias após inoculação, com estabelecimento da área abaixo da curva de progresso. Não houve diferença significativa no comportamento *in vitro* dos isolados analisados. A temperatura e fotoperíodo indicados para a multiplicação de *F. guttiforme*, foram de 25°C sob fotoperíodo de 12h, visto que apresentaram crescimento micelial significativo e maior produção conídios. O método indicado para avaliação de resistência foi o palito contaminado, a uma distância de 2 a 11 cm da base da folha. Inoculações em folhas D destacadas apresentaram eficácia, rapidez e baixo custo, além de reproduzirem satisfatoriamente sintomas em análises de resistência. O

período indicado entre a inoculação e a avaliação dos acessos resistentes à fusariose é de 15 dias após inoculação para folhas D destacadas. Os acessos 1 e 3 exibiram menor AACPD, portanto são considerados os mais resistentes entre os 21 acessos, podendo ser indicados para compor programas de melhoramento do abacaxizeiro visando resistência à fusariose.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus* var. *comosus*, fusariose, resistência genética.

## ABSTRACT

GARCIA, Wandreilla Moreira; MSc; Universidade do Estado de Mato Grosso, Dezembro de 2013; IN VITRO BEHAVIOR, INOCULATION METHODS AND RESISTANCE SOURCES OF *Fusarium guttiforme* IN PINEAPPLE; Advisor Professor: Willian Krause; Co-advisor Professor: Dejânia Vieira de Araújo.

Brazil is among the largest producers of pineapple, but the fusariosis, known as the main disease of this culture, has caused high losses in production. So that, the aim of this work was to evaluate *in vitro*, the behavior of isolates of *F. guttiforme* under different temperature and photoperiod regimen, inoculation methods and the genetic resistance of 21 accessions of pineapple to fusariosis. The experiments were conducted in completely randomized designs. The *in vitro* behavior was assessed by the mycelial growth of two isolates every 48 hours for 10 days. The temperatures used were 20, 25 and 30°C under a photoperiod of 0, 12 and 24 hours. Inoculations were performed in D leaves of cultivar Pearl by the methods of infected toothpick, mycelial disc without leaf injury and mycelial disc with leaf injury, performed at two, five, eight and eleven centimeters from the leaf base. The efficiency of the methods of inoculation used was assessed after 15 days. Before the evaluation of resistance sources, inoculations were performed in seedlings and leaves, in order to define which of them would show better effectiveness and fast results, and also inoculations on leaves of different types (B, D and F) aiming to identify which of them present better reproduction of the disease and just then running the experiments to identify fusariosis resistant accessions. It was inoculated 21 accessions of pineapple plants with toothpick infected with *F. guttiforme* at five centimeters from the base of the leaf and incubated for 30 days at 25°C, with 12 hours of photoperiod. The disease severity was evaluated at 10, 15, 20, 25 and 30 days after inoculation determining the area under progress curve. There was no significant difference in behavior on the *in vitro* isolates analyzed. The indicated temperature and photoperiod for the multiplication of *F. guttiforme* were 25°C under a photoperiod of 12 hours, as showed by the significant mycelial growth and higher conidial production. The indicated method for evaluation of resistance was the infected toothpick, at a distance between 2 and 11 cm from the leaf base. Inoculations in detached D leaves showed effectiveness, speed and low cost, in addition to satisfactorily reproduce symptoms for resistance analyzes. The indicated timing to evaluate resistant accessions to

fusariosis was 15 days after inoculation to detached D leaves. Accessions 1 and 3 showed lower area under the disease progress curve (AACPD), therefore they are considered the most resistant among the 21 accessions and can be recommended to compose the pineapple breeding programs for resistance to fusariosis.

**Keywords:** *Ananas comosus* var. *comosus*, fusariosis, genetic resistance.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O abacaxizeiro {*Ananas comosus* (L) Merrill var. *comosus* Coppens e Leal} pertencente à família Bromeliaceae é originário da América do Sul. Trata-se de uma espécie frutífera de clima tropical e subtropical com grande importância econômica e social em mais de 70 países (Bruckner, 2002; França-Santos et al., 2009). No Brasil o papel econômico e social desempenhado por esta cultura resume-se à geração de emprego e renda, contribuindo para a manutenção do homem no campo, evitando o êxodo rural (Matos e Reinhardt, 2007). Um dos fatores que mais interferem na produtividade do abacaxizeiro é a presença de microrganismos causadores de doença, como os fungos que afetam diretamente no desenvolvimento, na qualidade e na produtividade de frutos desta cultura (Granada et al., 2004).

No Brasil, a fusariose causada pelo fungo *Fusarium guttiforme* Nirenberg e O'Donnell (sin. *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*), também conhecida como resinose e gomose fúngica é considerada como a doença chave do abacaxizeiro (Aquiye et al., 2010). Este fungo possui a capacidade de infectar mudas/frutos durante os períodos de inflorescência e crescimento, com perdas estimadas de 30 a 40% nos frutos e até 20% nas mudas (Ventura e Zambolim, 2002). A seleção de mudas para instalação de novos plantios, a produção de material propagativo sadio por meio de seccionamento de caule e o estabelecimento de programas de indução floral que permitam o desenvolvimento das inflorescências em época desfavorável à doença, são alternativas de controle cultural para a fusariose (Matos e Cabral, 2005).

Os controles cultural (eliminação do patógeno) e químico (pulverizações de defensivos) da fusariose, embora eficientes, elevam o custo de produção. Atualmente o uso de resistência genética tem se mostrado uma medida de elevado potencial no controle dessa doença, pois além de eficiente, não agride o meio ambiente (Matos e Cabral, 2005).

Para iniciar um programa de melhoramento visando resistência, torna-se necessário conhecer o ciclo de vida do patógeno e sua interação com o hospedeiro. O ciclo do patógeno, suas necessidades básicas para desenvolvimento e propagação (temperatura e fotoperíodo), podem ser estudadas por meio de seu comportamento *in vitro*. Vale ressaltar, a importância da avaliação de diferentes isolados *in vitro*, pois sua atividade pode apresentar diferenciação devido à

localização e influência ambiental, às quais as plantas coletadas estão submetidas e determinar suas distinções de comportamento *in vitro*, já que alguns fungos podem apresentar variabilidade genética ou diferenças comportamentais (Ranganathan e Balajee, 2000).

Portanto, para que se possa obter resultados confiáveis em relação ao comportamento *in vitro* de *F. guttiforme*, torna-se necessário cultivar o fungo em um meio de cultura com qualidades nutricionais elevadas para que este fator não interfira em seu comportamento.

A identificação e determinação das respostas de defesa do abacaxizeiro ao *F. guttiforme* é uma prática comum para compreender a relação existente entre planta e patógeno (Zorzal et al., 2008). A obtenção de informações específicas sobre o comportamento do patógeno em um programa de melhoramento permite que sejam realizados cultivos da cultura fúngica em larga escala, com o objetivo de utilizá-las para inoculações de acessos. Os métodos de inoculação possuem diversas finalidades, dentre elas pode-se citar a comprovação de patogenicidade de organismos isolados de culturas puras, identificação de raças fisiológicas, as relações histofisiológicas entre patógeno e hospedeiro, determinação de fatores que favorecem a infecção, avaliações da eficiência de fungicidas, conhecimento do ciclo de vida do patógeno, produção de inóculo, avaliação de mecanismos de resistência e identificação de hospedeiros resistentes (Alfenas e Mafia, 2007).

Diversos métodos de inoculação vem sendo utilizados para a avaliação de patogenicidade em várias espécies de *Fusarium*. Para *F. guttiforme* em abacaxizeiro as metodologias mais utilizadas resumem-se em inoculações por suspensão de inóculo, discos de micélio e palito contaminado. O método escolhido deve garantir boa discriminação nos resultados, inexistência de escape, repetibilidade, rapidez e uniformidade (Ranganathan e Balajee, 2000; Castro et al., 2008).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento *in vitro* de dois isolados de *F. guttiforme* em diferentes regimes de temperatura e fotoperíodo, selecionar o melhor método de inoculação para identificação de fontes de resistência e avaliar a resistência genética de 21 acessos de abacaxizeiro à fusariose.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura de *Ananas comosus* (L) Merrill var. *comosus* Coppens e Leal

O Brasil é um dos maiores centros de diversidade genética de abacaxi do mundo, podendo ser encontradas na forma silvestres ou cultivadas. Além das espécies de *Ananas comosus*, este país contempla diversas espécies ornamentais e alguns gêneros próximos (*Ananas macrodontes* e Bromélias) de ocorrências endêmicas em múltiplas regiões. Considera-se que o centro de origem do gênero *Ananas* é a Amazônia, compreendida entre 10°N e 10°S de latitude e entre 55°L e 75°W de longitude (Ferreira e Cabral, 1993).

*Ananas comosus* é uma espécie da qual não se tem registro de ocorrência de ancestral silvestre, como é o caso de várias plantas econômicas que foram domesticadas em tempos pré-colombianos. Trata-se de uma espécie de grande variabilidade genética e muitas formas cultivadas (Cunha et al., 1999). A maior parte das cultivares de abacaxizeiro pertence à espécie de *Ananas comosus* (L) Merrill var. *comosus* Coppens e Leal, com  $2n=2x=50$ , podendo ocorrer variedades poliplóides no gênero *Ananas* (Cotias-de-Oliveira et al., 2000).

O abacaxizeiro é uma planta monocotiledônea, herbácea perene, de caule grosso e curto, cujas folhas crescem ao seu redor, em forma de calhas com inserção de raízes axilares. Seu sistema radicular é fasciculado, fibroso e superficial, sendo encontrado na maioria das vezes de zero a 30 centímetros da superfície do solo. O gênero *Ananas* diferencia-se dos outros da família Bromeliaceae por apresentarem um fruto do tipo sincarpo, formado pela coalescência de frutos individualmente soldados uns aos outros, enquanto nos outros gêneros os frutos continuam livres (Reinhardt, 2000).

As folhas do abacaxizeiro possuem disposição em espiral, em volta de uma haste central com forma interna de calha, possibilitando a condução da água para a base da planta. As folhas são definidas quanto à sua posição angular. As folhas “A” são secas e em via de secar, “B” senis, “C” adultas, “D” em fim de crescimento e “E” e “F” são as folhas estabelecidas como novas conforme Krauss (1948). As folhas “D” destacam-se como as principais folhas da planta, dispostas em um ângulo de 45° do eixo central e são consideradas as que melhor representam o estado nutricional da planta (Py et al., 1984).



Para obtenção de melhor crescimento e qualidade do fruto, o abacaxizeiro necessita de condições térmicas entre 22 e 32°C, com amplitude diária de 8 a 14°C, sabendo que quando submetidos a temperaturas acima de 32°C e abaixo de 20°C a planta apresenta menor crescimento. Além de menor crescimento as temperaturas mais amenas podem favorecer a ocorrência de floração natural precoce, resultando em dificuldades no manejo com perdas posteriores do fruto (Bartholomew et al, 2003).

O abacaxizeiro não é propagado comercialmente via semente, pois possuem autofertilidade nula devido à existência de um sistema de auto-incompatibilidade funcional do tipo gametofítica, causada pela inibição do crescimento do tubo polínico funcional no terço superior do estilete, que é controlada pelo loco S com múltiplos alelos. No entanto podem aparecer clones em que a reação de auto-incompatibilidade é pouco severa e possibilita certo nível de autofecundação. A ocorrência natural de formação de sementes é decorrente da polinização realizada por pássaros e insetos (Coppens d' Eeckenbrugge, 1995). Artificialmente as sementes podem ser obtidas por meio de hibridações. Estes trabalhos são importantes, pois permitem a exploração da variabilidade genética da cultura (Cabral et al., 2003).

O gênero *Ananas* é conservado a partir de propágulos vegetativos, uma vez que trata-se de uma planta de propagação predominantemente vegetativa, por esse motivo o método de conservação mais utilizado atualmente é o plantio em campo. O método de conservação deve garantir a máxima viabilidade e estabilidade genética dos acessos mantidos em local controlado e acessível, livre de patógenos, facilitando sua multiplicação e uso (Ciat, 1984).

As cultivares de abacaxi mais conhecidas são Smooth Cayenne, Spanish, Queen, Pérola e Perolera, sendo que Smooth Cayenne corresponde a cerca de 70% da produção mundial de abacaxi. No Brasil a principal cultivar plantada é a Pérola e em seguida a Smooth Cayenne. Ambas suscetíveis à fusariose (Cunha et al., 1999).

Além destas, lista-se ainda genótipos que podem integrar programas de melhoramento genético do abacaxizeiro por se tratarem de materiais resistentes à fusariose, como Alto Turi, Amapá, Perolera, Piña Negra, Amarelo-de-Uaupés, Cabezona, Fernando Costa, Huitota, Inerme CM, Íris, Primavera, Rondon, Tapiracanga, Turi verde e Ver-o-Peso, etc. Por oferecer características sensoriais similares às variedades comerciais mais aceitas pelos consumidores, Perolera e

Primavera foram recomendadas para o plantio em localidades onde a fusariose é considerada um fator limitante à exploração desta cultura (Matos et al., 2011).

Diversas variedades e populações locais de *Ananas* ocorrem no Brasil e em alguns países da América Latina, estes materiais podem ser recomendados como variedades e utilizados em programas de melhoramento genético, assim que forem avaliados e caracterizados adequadamente (Epstein, 1999; Cabral et al., 2008).

## **2.2 Fusariose, agente etiológico *Fusarium guttiforme* Nirenberg e O'Donnell**

A cultura do abacaxizeiro vem sendo contaminada por diversos tipos de patógenos, acarretando assim resultados negativos ao se tratar de produtividade e qualidade dos frutos a serem comercializados. Dentre os principais problemas encontrados na cultura do abacaxizeiro, a fusariose, também conhecida como resinose ou gomose, sem dúvida é a principal, afetando todas as partes da planta.

Os primeiros indícios de fusariose foram observados na Argentina e no Brasil. No Brasil a fusariose foi relatada pela primeira vez no estado de São Paulo, na cultivar Smooth Cayenne por Kimati e Tokeshi (1964), disseminando para os demais estados por meio de materiais de plantio infectado. Acredita-se que a disseminação da doença para a América do Sul tenha ocorrido devido a exportação de frutos brasileiros contaminados (Ploetz, 2006).

*F. guttiforme* é o agente etiológico da fusariose, pertencente à família Tuberculariaceae, de um gênero muito heterogêneo. Esta espécie foi denominada anteriormente como *Fusarium moniliforme* Sheldon var. *Subglutinans* e a posteriori descrita como *F. guttiforme* por Nirenberg e O'Donnell (1998). Por algum tempo as espécies de *Fusarium* eram classificadas por características morfológicas e especificidades do hospedeiro. A análise de sequências de DNA e a aplicação prática de conceito biológico vêm revolucionando a forma em que as espécies de *Fusarium* são caracterizadas, permitindo uma descrição de espécie mais confiável e detalhada (Kvas et al., 2009).

Através de análises de sequências do DNA de fragmentos dos genes que codificam a beta tubulina, fator de alongação 1-alfa, calmodulina e observação de marcadores morfológicos foi possível descobrir que a população responsável pela fusariose no abacaxizeiro pertence a uma espécie única, ou seja, o fungo causador da fusariose no abacaxizeiro possui especificidade no gênero *Ananas* (Ventura e Zambolim, 2002). Ventura et al. (1993), em um de seus estudos após inocular

mudas da cultivar Pérola com diferentes isolados de *F. subglutinans*, comprovou que apenas os inóculos provenientes do abacaxizeiro apresentaram patogenicidade.

Em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), o fungo *F. guttiforme* apresenta um micélio branco, inicialmente, passando de róseo alaranjado a violeta; conídios do tipo macroconídio e microconídio são produzidos, sendo característica principal deste fitopatógeno os microconídios em polifíalides, com ausência de clamidósporos (Mello, 2001).

A caracterização do comportamento dos fungos *in vitro* fornece importantes informações para seu adequado cultivo e para produção de inóculos viáveis, pois isolados desta espécie podem apresentar diferenças de comportamento e de inóculo quando expostos a ambientes com variações de substrato, temperatura e fotoperíodo, podendo, por exemplo, estimular a produção de conídios; os autores ainda afirmam que estudos sobre o comportamento deste patógeno são escassos e que são de extrema valia ao se tratar de pesquisas relacionadas a programas de melhoramento visando resistência (Santos et al., 2002 e Coutinho, 2010).

Este patógeno penetra em seus hospedeiros por meio de aberturas naturais ou ferimentos. Diversos são os sintomas que podem ser observados em plantas infectadas por este microrganismo; podridão dos tecidos afetados acompanhada por exsudação de substâncias gomosas são os principais sintomas da fusariose (Matos e Cabral, 2005). As lesões causadas pela doença encontram-se na parte basal, tanto no caule quanto nas folhas onde se apresentam sob forma de podridão mole, geralmente associada à podridão do caule. Raramente observam-se lesões isoladas no limbo; podendo também observar podridão nas raízes decorrentes de mudas infectadas ou infecção através do solo (Pissara et al., 1979).

A incidência desta doença pode ser minimizada por meio de controles culturais como a utilização de material sadio, inspeção frequente do plantio (durante a fase de crescimento vegetativo), remoção de plantas infectadas e evitar produção em época favorável à incidência da doença, são medidas que favorecem a prevenção da área cultivada (Ventura e Costa, 2002). O controle químico permite a produção em épocas favoráveis à doença; mas dentre todos os métodos existentes, o plantio de variedades resistentes ainda é o método mais econômico e eficiente para controlar esta doença (Cabral, 2003).

O precursor em estudos a respeito de resistência à fusariose do abacaxizeiro foi Giacomelli et al. (1969), o qual avaliou a incidência do patógeno em

frutos. Embora eficiente, esse método apresentou-se relativamente demorado devido ao ciclo da cultura ser de cerca de 18 meses até a colheita. Souto e Matos (1978), portanto desenvolveram um método de avaliação através de inoculação artificial em mudas tipo filhote, reduzindo o tempo de avaliação para apenas três meses, sendo este um dos métodos mais utilizados na atualidade.

### **2.3 Melhoramento visando resistência genética**

O melhoramento genético de plantas tem sido realizado de diversas formas, como a melhoria da arquitetura da planta, adaptabilidade, condições adversas de solo e clima e a introdução de alelos de resistência a pragas e doenças (Ramalho et al., 2012). A doença é considerada um fenômeno biológico, que interfere em processos fisiológicos da planta, com caráter prejudicial e contínuo. O uso da resistência genética no controle de doenças vegetais representa um avanço tecnológico na agricultura.

A resistência pode ser classificada em monogênica ou poligênica, conforme o número de genes envolvidos. Existem resistências que são efetivas contra algumas raças do patógeno (vertical) e as que são efetivas contra todas as raças (horizontal). A resistência vertical age no sentido de reduzir a quantidade de inóculo inicial, por ser eficiente apenas contra algumas raças, fazendo com que o início da epidemia seja retardado. Já a resistência horizontal, permite a redução da taxa de desenvolvimento da doença, sem afetar significativamente o inóculo inicial (Van Der Plank, 1963).

O fato de existirem dois tipos distintos de resistência não limita uma cultivar de apresentar apenas uma delas, ou seja, uma planta pode apresentar resistência vertical e horizontal. Também não implica que os genes responsáveis por estas resistências pertençam a classes distintas. Raças agressivas também podem apresentar virulência e vice-versa (Michereff, 2001).

O uso de cultivares resistentes é o método mais utilizado no controle de doenças. Em algumas culturas o controle dá-se quase que exclusivamente por meio de resistência genética. A resistência a agentes fitopatogênicos possui um papel muito importante ao considerar que, na maioria das vezes, o número de cultivares disponíveis aos agricultores é relativamente pequeno ao observar a rapidez de expansão que as áreas de plantio vêm desempenhando. A herança da resistência à fusariose pode estar ligada a um gene ou poucos genes com caráter dominante

sobre a suscetibilidade. Portanto, trata-se de uma herança qualitativa, comumente relacionada à resistência vertical ou específica (Junghans et al., 2005).

Para que se possa desenvolver cultivares resistente à fusariose, faz-se necessária a criação de um programa de melhoramento. Algumas cultivares lançadas não foram avaliadas em todas as regiões do país, ou seja, não é descartada a hipótese de que estas possam vir a apresentar características de suscetibilidade dependendo do local de plantio, levando em consideração a interação genótipo x ambiente. Por este motivo torna-se de grande valia dar continuidade às pesquisas desenvolvidas na cultura do abacaxi.

A utilização direta de recursos genéticos, a seleção clonal explorando a variabilidade intravarietal existente, e a realização de hibridações diretas entre genitores superiores são algumas das estratégias adotadas no melhoramento do abacaxizeiro (Cabral et al., 1999). Programas de melhoramento deste fruto têm por objetivo desenvolver cultivares mais produtivas, adaptadas às condições climáticas locais e resistentes a pragas e doenças. Crescimento rápido, folhas com ausência ou poucos espinhos, rebentões precoces, frutos com formato cilíndrico, de casca amarela e pouco fibrosa, alto teor de sólidos solúveis totais, acidez moderada e alto teor de ácido ascórbico, boa adaptação ao sistema de produção, são uns dos exemplos de características desejáveis para uma cultivar. Dentre todas as características de interesse no programa de melhoramento do abacaxi, a obtenção de genótipos resistentes à fusariose destaca-se como a principal (Cabral et al. 1999; Cunha, 2007).

O melhoramento genético do abacaxizeiro realizado em algumas instituições de pesquisa tem objetivado o desenvolvimento de cultivares com maior valor de qualidade e produtividade do fruto. Em nível de Brasil alguns programas estão sendo desenvolvidos com o intuito de obter cultivares resistentes à fusariose. A Embrapa Mandioca e Fruticultura vem desenvolvendo um programa de melhoramento genético do abacaxizeiro objetivando resistência à fusariose desde 1984. Um de seus métodos é a inoculação artificial através da imersão de plantas com 10-15 cm de altura em uma suspensão contendo o fungo patogênico ao abacaxizeiro. As plantas que sobreviverem e se comportarem como resistentes, após 100 dias são plantadas em campo para posterior avaliação de suas características (Nass et al., 2001). Dentre os diversos híbridos produzidos e testados pela Embrapa, foram lançados no mercado as cultivares BRS Imperial, BRS Vitória e BRS Ajubá. O

híbrido BRS Imperial é resultante do cruzamento de Perolera e Smooth Cayenne (PE X SC-56), o abacaxi BRS Vitória é um híbrido originado do cruzamento da variedade Primavera e Smooth Cayenne, e o BRS Ajubá é um híbrido F1 obtido do cruzamento de Perolera e Smooth Cayenne.

O Instituto Agrônomo de Campinas é outro bom exemplo de programa de melhoramento de abacaxizeiro no Brasil. Dentre suas cultivares lançadas encontram-se o IAC Gomo de Mel, suscetível à fusariose, que foi introduzido da China em 1991, resultante de cruzamento natural e IAC Fantástico, resistente a essa doença, resultante da polinização aberta entre o híbrido TP X SC nº2, obtido pelo cruzamento da variedade Tapiracanga com Smooth Cayenne (Usberti Filho et al., 1999).

Em programas de melhoramento de abacaxi visando resistência à fusariose, a escolha de um bom método de inoculação pode facilitar a identificação de genótipos resistentes de maneira eficaz e rápida, otimizando o tempo do melhorista. Entende-se por inocular, o ato de inserir propágulos do patógeno ou mantê-lo em contato com os órgãos de uma planta, permitindo a infecção e colonização dos tecidos, levando em consideração ainda a necessidade de condições ambientais ideais para que a interação planta x patógeno reproduza sintomas típicos da doença (Romeiro, 2001).

Tratando-se da cultura do abacaxizeiro, técnicas de inoculação podem ser realizadas em diversas partes da planta, como fruto, inflorescência, folhas e raízes. As inoculações em fruto podem ser realizadas através da inserção de um palito contaminado (Aparecido et al., 2010), nas inflorescências a técnica pode ser efetuada por aspersão de suspensão de inóculo, em folhas pode ser realizada via palito contaminado, disco de micélio, algodão embebido de suspensão de conídios, etc (Santos et al., 2001) e em mudas através de ferimentos na base e imersão em suspensão (Matos, 1978).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APARECIDO, C. C.; PIRES, G. C.C.; FINATTI, D.; VALE, S. L. **Diferenciação de podridões causadas em frutos de abacaxi por fungos**. Comunicado técnico - Agencia Nacional de tecnologias dos agronegócios. São Paulo, p.4. 2010.

Disponível: <<http://www.biologico.sp.gov.br/docs/dt/DT-08-2010.pdf>> acesso em 12, agosto, 2013.

AQUIJE, G.M.F.V.; ZORZAL, P. B; BUSS, D.S.; VENTURA, J.A; FERNANDES, P.M. B; FERNANDES, A. A. R. Cell wal alterations in the leaves of fusariosis resistant and susceptible pineapple cultivars. **Plant Cell Reports**, Berlin. v 9. n. 10, p . 1109-1117. 2010.

BARTHOLOMEW, D.P., E. MALÉZIEUX, G. M. SANEWSKI, AND E. SINCLAIR. Inflorescence and fruit development and yield. In: D.P. Bartholomew, R.E. Paull, and K.G. Rohrbach (ed.) The pineapple: botany, production and uses. **CABI Publishing**, New York. p. 167-202. 2003

BRUCKNER, C.H. Melhoramento de fruteiros tropicais. Viçosa: UFV, 2002. p.37-58.

CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. de; CUNHA, G. A. P. da. Selection of pineapple cultivars resistant to fusariose. **Acta Horticulturae**, Honolulu, v. 334, p. 53-58. 1993.

CABRAL, J.R.S. Melhoramento genético. In: (Orgs.) CUNHA, A.P. da; CABRAL, J.R.S.; SOUZA L.F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 83-103.

CABRAL, J. R. S; CASTELLEN, M. S; SOUZA, F. V. D; MATOS, A. P; FERREIRA, F. R. **Banco ativo de Germoplasma de abacaxi**. Embrapa Mandioca e Fruticultura - Cruz das Almas, Bahia, 2004. Disponível em: <[http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documento\\_146.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documento_146.pdf)>

Acesso: 22, abril, 2010.

CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. de; LANGE, A. F.; PEREIRA, F. T. F.; ARAÚJO, S. C. B. de; BOLSON, E. A.; TRAESEL, L. **Abacaxi BRS Ajubá**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; Brasília, DF: Embrapa Transferência de Tecnologia, 2008.

CABRAL, J.R.S., SOUZA, A., MATOS, A. P., CALDAS, R. C. Efeito da autofecundação em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 25 (1) .p. 184-185. 2003.

CASTRO, N. R. et al. Occurrence, inoculation methods and aggressivity of *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense in Heliconia spp. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 127-130, 2008.

CIAT. **El cultivo de meristemas para la conservación degermoplasma de yuca in vitro**; unidad audiotutorial. Cali,1984. 44 p.

COPPENS D'EECKENBRUGGE, G, DUVAL, M.F. Bases genéticas ára definir uma estratégia de melhoramento de La piña. **Revista de La Facultad de Agronomia**. Maracay, v.11. p.95-118.1995.

COTIAS-DE-OLIVEIRA, A.L.P. et al. Chromosome numbers in Bromeliaceae. **Genetics and Molecular Biology**. Ribeirao Preto, v.23, n.1, 173-177, 2000.

COUTINHO, O. L. **Comportamento *in vitro* e patogenicidade de isolados de *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro, oriundos dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte**. 2010. 65 f. (Tese Doutorado - Universidade Federal da Paraíba).

CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F.S.; **O Abacaxizeiro. Cultivo, agroindústria e economia**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.17- 480.

CUNHA, G. A. P. **Equipe técnica de abacaxi comemora 30 anos de atividades e realizações**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2007. 20p. Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos170.pdf>> acesso em: 03, junho, 2013.

EPSTEIN, L. **Cultura – Abacaxi**. 1999. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Abacaxi.htm>> acesso em: 10, julho, 2013.

FERREIRA, F.R.; CABRAL, J.R.S. Pineapple germplasm in Brazil. **Acta Horticulturae**. n. 334, p. 23-26, 1993.

FRANÇA-SANTOS, A; ALVES, R. S.; LEITE, N. S; FERNANDES, R. P. M. Estudos bioquímicos da enzima bromelina do *Ananas comosus* (abacaxi). **Scientia Plena**, Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro V.5, Nº 11. p.1-6. 2009.

GIACOMELLI, E. J; ROESSING, J. ; TEÓFILO SOBRINHO, J. Incidência da gomose numa coleção de ananas e pseudananas. **Bragantia**, Campinas, v. 28, único, p. 27-31, Set, 1969.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZ, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. Curitiba: **Boletim do CEPPA**, jul/dez. 2004. p. 405-422.

JUNGHANS, D. T.; BRASILEIRO, H.S.; SANTOS, V. J.; CABRAL, J. R.S.; MATOS, A. P. Herança da resistência à fusariose em abacaxizeiros. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 30, p.123, 2005.



KIMATI, H; TOKESHI, H. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium* sp, causando resinose fúngica em abacaxi. **Revista de agricultura**, ESALQ, Piracicaba, SP, v.39, n.3, p. 131-133. 1964.

KRAUSS, B. H. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L) Merrill. **The leaf. Botanic Gazette**. Chicago, v. 110, n.3, p. 333-400. 1949.

KVAS, M; MARASAS, W. F. O; WINGFIELD, B. D; WINGFIELD, M. J; STEENKAMP, E. T. Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. Fungal diversity, **Kunming**, v. 39, p, 1-18, 2009.

MATOS, A. P. de. A fusariose do abacaxi na Bahia. In: **Encontro nacional de abacaxicultura**, 1978, Salvador. Anais. Salvador: EMATERBA, 1978. p. 107-114.

MATOS, A. P. DE; CABRAL, J. R. S. **Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2005. 2p. (Embrapa-CNPMPF, Abacaxi em Foco n. 32).

MATOS, A. P. de; JUNGHANS, D. T.; SPIRONELLO, A. Variedades de abacaxi resistentes à fusariose. In: **Semana internacional da fruticultura e agroindústria**, 18.; Agroflores, 13. Fortaleza. Frutal: anais. Fortaleza: Fruta, 2011. 1 CD-ROM. PDF. 52. 2011.

MATOS, A. P.de; REINHARDT, D. H. Abacaxi no Brasil: características, pesquisa e perspectivas. In: **Simpósio internacional do abacaxi**, 6, JoãoPessoa. Anais... João Pessoa, PB: ISHS: CNPMPF, 2007.

MELLO, M. R. F. **Efeito de bactérias na promoção de crescimento e fusariose em mudas de abacaxi micropropagadas**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 2001. 92f. (Dissertação Mestrado em Fitossanidade).

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 2001. p. 109-115.

NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento- Plantas**, Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.491.

NIREMBERG, H. I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Micologia**. 1998.

PISSARRA, T. B.; CHAVES, G. M.; VENTURA, J. A. Sintomatologia da fusariose (*Fusarium moniliforme* Sheld var. *subglutinans* W. R. e Reink.) do abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4, n. 2, p. 255-263, Jun, 1979.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* Induced Diseases of Tropical, Perennial **Crops. Phytopathology**. St Paul v.96 n.6, p. 648 - 652. Jun 2006.

- PY, C.; LACOEULHE, J.J; TEISSON, C. L'Ananas as culture, ses produits. Paris: G. M. Maisoneuve et Larose, 1984.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.dos; PINTO, C.A.B.P; SOUZA, E.A. de; GONÇALVES, F.M.A.; SOUZA, J.C.de.; **Genética na Agropecuária**. 5ª Ed., Editora UFLA, 2012, 565p.
- RANGANATHAN, S.; BALAJEE, S. A. M. Anti-*Cryptococcus* activity of combination of extracts of *Cassia alata* and *Ocimum sanctum*. **Mycoses**, Lavras, MG. v. 43, n. 7/8, p. 299-301, 2000.
- REINHARDT, D. H. **A planta e o seu ciclo**. In: REINHARDT, D. H.; SOUZA, L. F. S.; CABRAL, J. R. S. Abacaxi. Produção: aspectos técnicos. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura — Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77 p. (Frutas do Brasil, 7).
- ROMEIRO, R. S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, 2001. 279p.
- SANTOS, R. L. M. S.; MATOS, A. P. de; CABRAL, J. R. S. Avaliação da infecção com *Fusarium subglutinans* em diferentes tipos de folhas de abacaxizeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 13, n.1, p. 1-50, Janeiro/Junho, 2001.
- SANTOS, B. A; ZAMBOLIN, L. VENTURA, J. A; VALE, F. X. R. Severidade de isolados de *Fusarium Subglutinans* f. sp. Ananas sensíveis e resistentes ao benomyl em abacaxizeiros, **fitopatologia brasileira** 27(1), fev. 2002.
- SOUTO, G. F.; MATOS, A. P. Método para avaliar resistência à *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* em abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 23-30, 1978.
- USBERTI FILHO, J.A.; SIQUEIRA, W.J.; SPIRONELLO, A; TANAKA, M.A.S.; SIGRIST, J.M.M.; MARTINS, A.L.M.; BORTOLETTO, N.; TSUHAKO AT.; GUSHIKEN, A. **IAC Gomo-de-mel**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1999
- VAN DER PLANK, J. E. Plant Diseases: Epidemics and Control. **Academic Press**, New York, p. 349. 1963
- VENTURA, J. A.; COSTA, H. Manejo integrado das doenças de fruteiras tropicais: Abacaxi, Banana e Mamão. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado: fruteiras tropicais doenças e pragas**. Viçosa, MG,: UFV. 2002. p. 279-352.
- VENTURA, J. A.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças do abacaxizeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. DO.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (Eds) **Controle de doenças de plantas: Fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002, p.445-510.

VENTURA, J. A. **Fusariose do abacaxizeiro: caracterização do patógeno, epidemiologia da doença, resistência e micropropagação do hospedeiro *in vitro***. 1993. 111 f.(Tese Doutorado - Universidade Federal de Viçosa).

ZORZAL, P. B; AQUIJE, G. M. F. V.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, A.R.; FERNANDES, P.M.B. Análise Morfológica e Bioquímica Comparativa da Resistência a Fusariose em Abacaxizeiro. **Congresso brasileiro de fruticultura**, resumos. Vitória, ES, 2008.

#### 4. COMPORTAMENTO *IN VITRO* DE *Fusarium guttiforme* E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO EM FOLHAS DE ABACAXIZEIRO

##### RESUMO

Dentre os principais problemas fitossanitários que atingem a cultura do abacaxizeiro, a fusariose causada pelo fungo *Fusarium guttiforme*, trata-se da doença que causa os maiores prejuízos econômicos aos produtores de abacaxi. Conhecer o fungo *F. guttiforme* e identificar respostas de defesa ao mesmo são práticas que permitem entender a relação existente entre planta e patógeno, podendo-se então estabelecer estratégias de controle e prevenir grandes perdas econômicas. Este estudo objetivou avaliar o comportamento *in vitro* do fungo *F. guttiforme* em condições de temperatura e fotoperíodo distintas e determinar o método de inoculação mais eficiente para a avaliação da resistência de abacaxizeiro à fusariose. Para a determinação do comportamento *in vitro* foram realizados dois experimentos (um para cada isolado), com o mesmo delineamento, condução e avaliação. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (três temperaturas e três regimes de fotoperíodo), com cinco repetições. Cada parcela foi constituída de uma placa de Petri. As avaliações do índice de crescimento micelial foram compostas de mensuração da colônia, em dois eixos ortogonais, a cada 48h durante 10 dias. Ao término das avaliações foram efetuadas as quantificações de conídios. As avaliações dos métodos de inoculação foram realizadas em delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 3x4 (métodos x distância de inoculação). Folhas D de abacaxizeiro da cv. Pérola foram inoculadas a dois, cinco, oito e onze centímetros da base pelos métodos de palito contaminado, disco de micélio sem ferimento na folha e disco de micélio com ferimento. Aos 15 dias após a inoculação foram realizadas as mensurações dos maiores e menores diâmetros da lesão causada pelo patógeno. Não houve diferença significativa no comportamento *in vitro* dos isolados analisados (ISO 1 e ISO 2). A temperatura e fotoperíodo recomendados para a multiplicação de *F. guttiforme*, foram de 25°C e 12 horas, respectivamente, visto que apresentaram crescimento micelial significativo e maior produção de estruturas reprodutivas. O método indicado para avaliação de resistência à fusariose do abacaxizeiro por meio de inoculação foi o palito contaminado, a uma distância entre 2 e 11 cm da base da folha. Para que ocorra a

infecção do patógeno *F. guttiforme*, torna-se necessária a realização de ferimento no local a ser inoculado.

**Palavras-chave:** Fusariose, *Ananas comosus* var. *comosus*, resistência.

## IN VITRO BEHAVIOUR OF *Fusarium guttiforme* AND EVALUATION OF INOCULATION METHODS IN PINEAPPLE LEAVES

### ABSTRACT

Among the main phytosanitary problems in the pineapple culture, the fusariosis caused by the fungus *Fusarium guttiforme*, is the disease that cause the greatest economic losses to pineapple producers. To know the fungus *F. guttiforme* and identify defense responses to it, are practices that allow us to understand the relationship between the plant and the pathogen, establishing strategies to control and prevent large economic losses. This study aimed to evaluate the *in vitro* behavior of the fungus *F. guttiforme* in different conditions of temperature and luminosity and determine the most efficient inoculation method for evaluating the resistance of pineapple to fusariosis. To determine the *in vitro* behavior two experiments (one for each isolate) was performed, with the same design, conduction and evaluation. It was used a completely randomized experimental design in a factorial arrangement of 3x3 (three temperatures and three light regimes), with five replications. Each plot consisted of a Petri dish. The index of mycelial growth evaluations consisted of measuring the colony in two orthogonal axes, every 48 hours for 10 days. After those evaluations it was performed the conidia quantifications. The evaluations of inoculation methods were conducted in a completely randomized design with factorial arrangement 3x4 (methods x distance of inoculation). D leaves of pineapple, cultivar Pearl, were inoculated at two, five, eight and eleven centimeters from the base by the methods of infected toothpick, mycelium disc without injury and mycelium disc with injury on the leaf. At 15 days after inoculation it was performed the measurements of major and minor diameters of the lesions caused by the pathogen. There was no significant difference on *in vitro* behavior of the isolates analyzed (ISO 1 and ISO 2). The indicated temperature and luminosity for the multiplication of *F. guttiforme* were 25°C and 12 hours, respectively, since they showed significant mycelial growth and increased production of reproductive structures. The indicated method for evaluation of resistance to fusariosis in pineapple was the inoculation by infected toothpick at a distance between 2 and 11 cm from the base of the leaf. It becomes necessary to perform an injury at the site to be inoculated for the infection of the pathogen *F. guttiforme* occurs.

**Keywords:** Fusariosis, *Ananas comosus* var. *comosus*, resistance.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de frutas tropicais. Isto ocorre por possuir condições de solo e clima diversificadas. O abacaxi (*Ananas comosus* (L) Merrill var. *comosus* Coppens e Leal) vem se destacando entre as diversas fruteiras cultivadas no mundo, alcançando a posição de segundo lugar em produção no ranking mundial (IBGE, 2011).

Esta fruteira é classificada como semi perene, com um ciclo de produção que pode variar de 14 a 25 meses, onde condições edafoclimáticas, época de plantio, tipo e peso das mudas utilizadas no plantio e práticas culturais adotadas possuem influência direta na produção final da cultura (Ponciano et al., 2006).

Outro fator que também pode influenciar a produção de abacaxi é a ocorrência de doenças. A fusariose, causada pelo fungo *Fusarium guttiforme* é considerada a doença de maior importância na cultura do abacaxizeiro. Esta doença é encontrada em todos os estados produtores desta fruta acarretando limitação de sua expansão (Zorzal et al., 2008). Para desenvolver técnicas de controle desta doença é necessário conhecer o patógeno em questão. Desta forma o cultivo *in vitro* visa avaliar as melhores condições para o crescimento do fungo, analisando seu desenvolvimento em temperaturas, tempo de incubação, meio de cultura e fotoperíodo disponível (Akinyele e Adetuyi, 2005).

A partir do conhecimento das melhores condições de propagação do fungo, torna-se possível a realização de multiplicações *in vitro* em larga escala, com intuito de utilizar isolados em inoculações para identificação de materiais resistentes, já que o plantio de cultivares com esta característica tem sido o método mais econômico e eficaz para se controlar a fusariose. A identificação de genótipos resistentes através de inoculações de *F. guttiforme* em abacaxizeiro foi relatada pela primeira vez por Giacomelli et al. (1969), o qual realizou observações em frutos, mantidos em condições naturais, mas apesar de eficiente, a avaliação a campo pode ser afetada pelas condições ambientais e pelo potencial de inóculo na área, além de demandar um longo período devido ao ciclo da cultura. Posteriormente, Matos (1978) desenvolveu a técnica de inoculação da base da muda tipo filhote, possibilitando identificar resistência de genótipos após um período de três meses de inoculação.

Diversos métodos de inoculação vêm sendo utilizados em avaliações da patogenicidade de diferentes espécies do gênero *Fusarium*. Metodologias que

possam reproduzir seguramente sintomas da fusariose são ferramentas necessárias para compreender os aspectos fitopatogênicos dos fungos. Por meio destas é possível realizar seleções de genótipos resistentes a serem empregados em programas de melhoramento visando desenvolver cultivares resistentes à fusariose, proporcionando redução de custos na produção (Castro et al., 2008).

A partir do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento *in vitro* do fungo *F. guttiforme* em condições de temperatura e fotoperíodo distintos e determinar o método de inoculação mais eficiente para a avaliação da resistência de plantas de abacaxizeiro à fusariose.

## MATERIAL E MÉTODOS

Dois isolados foram obtidos de plantas com sintomas de fusariose coletadas nos municípios de Tangará da Serra (14° 39' Sul, 57° 25' Oeste e altitude de 321,5 m) e Terra e Nova do Norte (10° 31' 6" Sul, 55° 13' 56" Oeste e altitude de 310 m), por serem regiões produtoras de abacaxi no estado de Mato Grosso. As denominações adotadas foram ISO 1 para o isolado coletado no município de Tangará da Serra e ISO 2 em Terra Nova do Norte.

Fragmentos de materiais foram previamente desinfestados em solução de hipoclorito de sódio a 2% por dois minutos, lavados em água destilada estéril e incubados em câmara úmida para indução de esporulação (Menezes e Assis, 2004).

A caracterização morfológica do microrganismo foi realizada através de chaves de identificação, a partir dos atributos macro e micro morfológicos das culturas puras isoladas (Nirenberg e O'Donnel, 1998). Os indivíduos identificados como *F. guttiforme* foram submetidos ao teste de patogenicidade de acordo com método estabelecido por Santos (2001) em folhas "D" destacadas de plantas resistentes (cv. Vitória) e suscetíveis (cv. Pérola) à fusariose. Os isolados que incitaram lesões sintomáticas de fusariose foram reisolados e confirmados como *F. guttiforme*.

Para a determinação do comportamento *in vitro* foram realizados dois experimentos, sendo um para cada isolado. Ambos foram submetidos ao mesmo delineamento, condução e avaliação. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 (três temperaturas e três fotoperíodos), com cinco repetições, onde cada parcela foi constituída de uma placa de Petri. Um disco de



colônia do patógeno (7 mm) foi transferido para cada placa de Petri contendo meio de cultura BDA (batata dextrose ágar) e incubados a 20°C, 25°C e 30°C sob três fotoperíodos (0, 12 e 24 horas).

A avaliação do crescimento micelial foi efetuada através de mensurações em dois eixos ortogonais a cada 48 horas por 10 dias. As médias foram utilizadas para avaliar o índice de crescimento micelial (ICM) conforme adaptação de Oliveira (1991)

$$ICM = \frac{C1+C2+C3+C4+C5}{N2+N4+N6+N8+N10}$$
, onde C1, C2, C3, C4, C5 são os crescimentos das colônias nas avaliações e N2, N4, N6, N8, N10, os dias avaliados.

A análise da produção de conídios adaptada de Martelleto (1995) foi constituída da contagem de macro e microconídios em câmara de Neubauer ao final de cada avaliação de crescimento micelial, onde foram retirados quatro discos de micélio de sete milímetros de diâmetro das bordas das colônias de cada repetição e transferidos para tubos de ensaio contendo 20 mL de água destilada estéril, agitados para promover o desprendimento dos conídios.

Para a avaliação dos métodos de inoculação foi realizado um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 3x4 (métodos x distância de inoculação). Folhas D de abacaxizeiro da cv. Pérola foram inoculadas a dois, cinco, oito e onze centímetros da base pelos métodos de palito contaminado (PC), disco de micélio sem ferimento na folha (DSF) e disco de micélio com ferimento (DCF).

O método do disco de micélio utilizado foi conforme Tolêdo-Souza e Costa (2003), com testemunhas inoculadas por discos de BDA sem micélio e para o método do palito contaminado (Camargo e Baracho, 1977), a testemunha constou da inoculação de palito umedecido em água destilada estéril. Aos 15 dias após a inoculação (DAI) foi realizada a mensuração dos maiores e menores diâmetros da lesão causada pelo patógeno.

Foi realizada análise de variância individual para cada experimento e para cada característica avaliada. A comparação de médias foi feita pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2011). Foi realizada também análise conjunta entre os experimentos 1 e 2, para comparar os isolados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação dos isolados pela análise conjunta, não houve diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) tanto para a característica índice de crescimento micelial (ICM) como para produção de conídio (PC). Desta forma, os isolados coletados em regiões geográficas que apresentam características distintas, sendo que Tangará da Serra (bioma cerrado) e Terra Nova do Norte (bioma amazônico), apresentaram o mesmo comportamento *in vitro*.

Houve interação significativa ( $P \leq 0,01$ ) na fonte de variação fotoperíodo x temperatura tanto para o isolado 1 (ISO 1) como para o isolado 2 (ISO 2), para as características ICM e PC (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das características índice de crescimento micelial (ICM) e produção de conídio (PC) para ISO 1 e ISO 2 de *F. guttiforme*. Tangará da Serra, MT, 2013.

Fonte de Variação	QM do comportamento <i>in vitro</i>			
	ISO 1		ISO 2	
	ICM	PC	ICM	PC
Fotoperíodo (F)	2,37 <sup>ns</sup>	75,92**	7,59**	166,75**
Temperatura (T)	161,02**	90,22**	175,56**	114,28**
F x T	21,72**	46,28**	23,09**	90,32**
Resíduo	1,14	1,77	0,70	0,67
Média	40,29	3,62	40,69	3,88
CV (%)	2,65	36,75	2,06	21,13

<sup>ns</sup>, \*\* Não significativo e significativo ao nível de 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste Scott-Knott.

Verifica-se que para os dois isolados, a temperatura de 25°C proporcionou maior ICM para ambos. Com relação ao melhor fotoperíodo (25°C), o ISO 2 não apresentou diferença significativa entre os fotoperíodos de 0h e 12h. Já para o ISO 2 o maior crescimento foi encontrado na condição de 0h (Tabela 2).

Na interação fotoperíodo x temperatura do ISO 1, observou-se que o fotoperíodo de 24h proporcionou o maior crescimento encontrado à 20°C (menor ICM das avaliações). Podendo concluir que esta temperatura acarreta limitações no

desenvolvimento de *F. guttiforme*. Para a temperatura de 25°C os fotoperíodos que ocasionaram maior ICM foram 0 e 12h, sem diferirem entre si. Já para a incubação a 30°C não houve diferença significativa entre os fotoperíodos analisados.

Tabela 2. Índice de crescimento micelial (mm) dos isolados 1 e 2 de *F. guttiforme* submetidos a fotoperíodos e temperaturas. Tangará da Serra, MT, 2013.

Isolados	Fotoperíodo (horas)	Temperatura		
		20°C	25°C	30°C
1	0	36,8bC <sup>1/</sup>	44,2aA	41,4aB
	12	34,1cC	44,0aA	42,0aB
	24	39,3aB	40,7bA	41,4aA
2	0	36,1bC	44,6aA	41,1bB
	12	34,5cC	42,2bB	43,4aA
	24	39,6aC	41,8bB	43,0aA

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra em maiúsculo na linha e minúsculo na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Para o ISO 2, a temperatura de 20°C também limitou o crescimento do patógeno, sendo que seu maior ICM foi no fotoperíodo 24h. Para a temperatura de 30°C, o crescimento foi relativamente alto ao submeter aos fotoperíodos 12 e 24h.

Costa et al. (2009), ao analisarem crescimento micelial de *F. guttiforme* em diferentes temperaturas e fotoperíodos, constataram que a temperatura de 25°C sob fotoperíodo de 12 horas são as condições ideais para o maior crescimento deste patógeno.

Martelleto (1995) também avaliou diferentes temperaturas (5, 10, 15, 20, 25 e 30°C), não em meio de cultura, mas por meio de inoculações em folhas destacadas. Dentre os resultados obtidos pode-se verificar que houve crescimento micelial na faixa de 10 a 30°C, mas a temperatura considerada ótima para o desenvolvimento micelial foi a de 25°C.

Silva-Acuña et al. (1995) em análises do crescimento de *F. guttiforme* em folhas D nas temperaturas 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C sob ausência luminosa, constataram que o melhor desenvolvimento radial da lesão ocorreu entre 25 e 30°C. Para as temperaturas extremas de 5 e 35°C não houve crescimento do patógeno.

Nas avaliações de produção de conídios (PC) foi constatado que para o ISO 1, as temperaturas de 20°C e 30°C não apresentaram diferença estatística entre os fotoperíodos (Tabela 3). Enquanto a temperatura de 25°C distinguiu-se, apresentando o maior valor em produção de conídios. Em relação ao ISO 2, verificou-se que os maiores valores de PC foram produzidos nas três temperaturas sob fotoperíodo de 12 horas, ressaltando que para 30°C a condição de 12 e 24h não diferiram estatisticamente.

Para a fonte de variação fotoperíodo, os dois isolados não diferiram estatisticamente entre as temperaturas, quando incubados sob fotoperíodo 0h. Na condição de 12h apresentaram maior produção de conídios a 25°C e a 24h nas temperaturas de 25 e 30°C. Portanto para a característica produção de conídio, a maior esporulação observada foi na temperatura 25°C com fotoperíodo 12h para os dois isolados, concluindo ser esta a melhor condição de propagação do fungo *F. guttiforme*.

Tabela 3. Produção de conídios ( $10^4 \text{ mL}^{-1}$ ) dos isolados 1 e 2 de *F. guttiforme* submetidos a fotoperíodos e temperaturas.

Isolados	Fotoperíodo (horas)	Temperatura		
		20°C	25°C	30°C
1	0	1,92aA <sup>1/</sup>	3,69bA	2,44aA
	12	2,44aB	12,91aA	3,28aB
	24	0,59aB	2,48bA	3,17aA
2	0	1,44bA	1,84bA	1,83bA
	12	2,61aC	16,45aA	4,10aB
	24	0,98bB	2,64bA	3,05aA

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra em minúsculo na coluna e maiúsculo na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Para a determinação do comportamento *in vitro* de *F. guttiforme*, sugere-se que não se avalie somente o ICM, mas também a PC, pois o patógeno pode vir a desenvolver alto índice de ICM com baixa PC. Segundo Nozaki et al. (2004) as condições que favorecem o crescimento micelial do fungo nem sempre são as mesmas para a esporulação, pois a luz em efeito direto sobre o fungo pode induzir ou inibir a formação de estruturas reprodutivas.

Ao relacionar o índice de crescimento micelial dos isolados com a produção de conídios, pode-se observar que este fungo exerce maior ameaça às culturas nas épocas que apresentam temperaturas de 25°C. A temperatura média dos municípios de Tangará da Serra e Terra Nova do Norte é de 24°C (Bleich et al., 2013; Coletti et al., 2012). Portanto os dois locais, proporcionam um ambiente ótimo (umidade relativa, precipitação e temperatura) para o desenvolvimento do fungo. Segundo Andrade et al. (2010) a temperatura é um dos fatores que mais influenciam no crescimento micelial dos fungos.

Na avaliação dos métodos e das distâncias de inoculação foi observada diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) apenas para a fonte de variação métodos (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância das características Métodos e Distância de inoculação em folhas D de abacaxizeiro cv. Pérola. Tangará da Serra, MT, 2013.

Fonte de Variação	GL	QM
Métodos (M)	2	4,52**
Distância (D)	3	0,06 <sup>ns</sup>
M x D	6	0,11 <sup>ns</sup>
Resíduo	48	0,07
Total	59	
Média	1,26	
Cv (%)	20,60	

<sup>ns</sup>, \*\* Não significativo e significativo ao nível de 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste Scott-Knott.

O método do palito contaminado (PL) proporcionou a maior área lesionada (2,58 cm<sup>2</sup>), seguido do método disco de micélio com ferimento (DCF) (1,23 cm<sup>2</sup>) e do disco de micélio sem ferimento (DSF) (0,14 cm<sup>2</sup>) (Tabela 5). Pode-se observar que a inoculação por palito contaminado se mostrou mais eficiente, pois promoveu a inexistência de escape, maiores reações sintomáticas nas plantas e a possibilidade de avaliar as lesões quantitativamente, com fácil execução.

Tabela 5. Área lesionada (cm<sup>2</sup>) por *F. guttiforme* em folhas D destacadas de abacaxizeiro da cv. Pérola pelos métodos, palito contaminado, disco de micélio sem ferimento e disco de micélio com ferimento.

Método de Inoculação	Área lesionada (cm <sup>2</sup> )
Palito contaminado	2,58
Disco de micélio sem ferimento	0,14
Disco de micélio com ferimento	1,23

A eficácia da inoculação em folhas destacadas usando palito contaminado também foi evidenciada por Santos et al. (2001), que avaliaram oito métodos de inoculação sendo, palito contaminado posição perpendicular; palito contaminado posição longitudinal; disco de colônia sobre ferimento; disco de colônia sobre ferimento + algodão umedecido (face adaxial); disco de colônia sobre ferimento + algodão umedecido (extremidade da folha); disco de colônia sobre ferimento + proteção com esparadrapo; algodão umedecido na suspensão de inóculo; injeção da suspensão conidial no mesófilo) de *Fusarium subglutinans* (atualmente classificado como *F. guttiforme*) em diferentes folhas de abacaxizeiro cv. Pérola, com possibilidade de avaliação a partir dos 15 dias após inoculação.

Oliveira et al. (2011) avaliaram dois métodos de inoculação (palito contaminado e disco de micélio sobre ferimento) em diversas condições e posições (proteção com fita adesiva, algodão umedecido, posição longitudinal e perpendicular) nas distâncias 2 e 5 cm. Observaram que em todos os métodos do palito contaminado, foi identificada maior área lesionada nas folhas da cv. Pérola.

O método DCF proporcionou escape, além de ter se demonstrado um método de maior complexidade em relação ao palito contaminado. Ao relacionar o método DCF com o DSF pode-se comprovar a necessidade da realização de ferimentos no local a ser inoculado, pelo fato do DCF ter proporcionado maior lesão que DSF.

Matos e Cabral (2005) afirmaram que para ocorrer infecção deste patógeno no abacaxizeiro é necessário que existam aberturas naturais ou ferimentos na superfície da planta. Nos frutos a infecção ocorre através das inflorescências. Esta afirmativa responde o resultado obtido para a inoculação DSF, a qual apresentou

efeito significativamente baixo quando comparado com os métodos realizados sobre ferimento na epiderme da folha.

As avaliações das distâncias de inoculação a 2, 5, 8 e 11 cm da base da folha D, não apresentaram diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ). Portanto inoculações em folhas D para identificação de acessos resistentes à fusariose podem ser realizadas entre 2 e 11 centímetros da base da folha.

Oliveira et al. (2011), ao avaliarem dois métodos de inoculação (palito contaminado e disco de micélio com ferimento) de *F. guttiforme* nas distâncias de 2 e 5 cm constataram que estas distâncias não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

## CONCLUSÕES

A temperatura e fotoperíodo recomendados para a multiplicação de *F. guttiforme* é de 25°C sob 12 horas, respectivamente.

Não houve diferença no comportamento *in vitro* entre os isolados.

O método indicado para avaliação de resistência por meio de inoculação é o do palito contaminado a uma distância entre 2 a 11 cm da base da folha.

Para que ocorra a infecção do patógeno *F. guttiforme*, torna-se necessária a realização de ferimento no local a ser inoculado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

AKINYELE, B. J.; ADETUYI, F. C. Effect of agrowastes pH and temperature variation on the growth of *Volvariella volvacea*. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4, n. 12, p. 1390-1395, 2005.

ANDRADE, M. C. M; CHAVARI, J. L; MINHONI, M. T. A; ZIED, D.C. Crescimento micelial *in vitro* de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum Agronomy** 32 (1): 69-72. 2010.

BLEICH, M. E.; BILIBIO, A.; BERGAMASCO, S. M. P. P. Biomassa fitoplanctônica e condições limnológicas de riachos de cabeceira represados em uma microbacia amazônica do Mato Grosso com atividade pecuária na zona ripária. **XI Congresso de Ecologia do Brasil**, Porto Seguro – BA. Set. 2013.

CAMARGO, L. M. P. C. A.; BARACHO, I. R. Virulência de linhagens de *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* Wr. e Rg. **Summa Pytopathologica**, Piracicaba, v. 3, n. 3, p. 215 - 220, Setembro, 1977.

CASTRO, N. R. et al. Occurrence, inoculation methods and aggressivity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in *Heliconia* spp. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 127-130, 2008.

COLETTI, A. J.; DALLACORT, R.; DALCHIAVON, F. C; MARTINS, J. A; SANTI, A.; TONUE, M. H. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo da cultura do pinhão manso. **Revista Agrarian**. Dourados, v 5, n 18, p. 373-383. 2012

COSTA, N.F.P. FERREIRA, I.C.P.V. AQUINO, C.F. ARAÚJO, A.V. SALES, N.L. P. Crescimento micelial de *Fusarium subglutinans* f sp. *ananas* em diferentes temperaturas. Instituto de Ciências agrárias/UFMG, Montes Claros) MG. In: **Congresso Brasileiro de Fitopatologia 42**. Pelotas, RS. Resumos. Pelotas, RS.2009

COUTINHO, O. L. **Comportamento *in vitro* e patogenicidade de isolados de *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro, oriundos dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte**. 2010. 65 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba.

DILKIN, Paulo et al. Produção de fumonisinas por cepas de *Fusarium moniliforme* de acordo com a temperatura, umidade e tempo de cultura. **Braz. J. Microbiol.** vol.33, n.2, p.111-118. 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000200003> acesso 27 de maio de 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez., 2011.

GIACOMELLI, E. J; ROESSING, J. ; TEÓFILO SOBRINHO, J. Incidência da gomose numa coleção de ananas e pseudananas. **Bragantia**, Campinas, v. 28, único, p. 27-31, Set, 1969.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> acessado em 28, junho, 2013.

MARTELLETO, L. A. P. **Incitante da fusariose do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) e sobre o efeito da temperatura ambiente no seu desenvolvimento**. 1995. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MATOS, A. P. de. A fusariose do abacaxi na Bahia. In: **Encontro nacional de abacaxicultura**, 1., Salvador. Anais...Salvador: EMATERBA,1978. p.107-114.



MATOS, A. P. DE; CABRAL, J. R. S. **Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2005. 2p. (Embrapa-CNPMPF, Abacaxi em Foco n. 32).

MENEZES, M; ASSIS, S. M. P. **Guia Prático para fungos fitopatogênicos**. 2ª edição, imprensa universitária, UFRPE, Recife-PE. 2004.

NIREMBERG, H.I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Micologia**. 1998.

NOZAKI, M. H.; CAMARGO, M. E.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29 p. 429-432, 2004.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, (Dissertação de mestrado). 111p. 1991.

OLIVEIRA, M. D. M; LEITE, L. C.N; PEREIRA, R. Incidência de fusariose e avaliação de métodos de inoculação de *Fusarium gutiforme* em folhas de abacaxizeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, vol. 24, núm. 1, jan-março, p. 137-142. 2001.

PONCIANO, N. J; CONSTANTINO, C. O. R.; SOUZA, P. M. de; DETMANN, E. Avaliação econômica da produção de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cultivar Pérola na região Norte Fluminense. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.19, p.82-91, 2006.

SANTOS, R. L. M. S.; MATOS, A. P. de; CABRAL, J. R. S. Avaliação da infecção com *Fusarium subglutinans* em diferentes tipos de folhas de abacaxizeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 13, n.1, p. 1-50, Jan/Jun, 2001.

SILVA-ACUÑA, R.; COSTA, A. F.; BARRETO, M. Efeito da temperatura e do tipo de folha no desenvolvimento de lesões de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* no abacaxizeiro 'Pérola'. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 498-500, Setembro, 1995.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de; COSTA, J. L. da S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 57-63, jul./dez. 2003.

ZORZAL, P. B; AQUIJE, G. M. F. V.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, A. R.; FERNANDES, P. M. B. Análise morfológica e bioquímica comparativa da resistência a fusariose em abacaxizeiro. (**XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**) Centro de Convenções–Vitória/ES. 2008.

## 5. IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA DE *Fusarium guttiforme* EM ABACAXIZEIRO

### RESUMO

O fungo *Fusarium guttiforme*, agente causal da fusariose, possui a peculiaridade de ser específico na cultura do abacaxi. No Brasil, este patógeno encontra condições que favorecem sua propagação. Por causar danos de alta intensidade nesta cultura, a fusariose é considerada como doença chave do abacaxizeiro em todos os estados. O melhoramento visando resistência a doenças é um dos principais objetivos do melhoramento de plantas, visto que o uso de cultivares resistentes tem sido o meio mais econômico e eficaz para se controlar estes patógenos. O presente trabalho objetivou identificar fontes de resistência em 21 acessos de abacaxizeiro por meio de inoculações de *F. guttiforme* em folhas destacadas para serem utilizados em um programa de melhoramento genético do abacaxi. Antes de iniciar as avaliações de fontes de resistência foram realizadas inoculações em mudas e folhas, com o intuito de definir qual delas proporcionariam melhor eficácia e rapidez nos resultados e ainda inoculações em folhas de diferentes tipos (B, D, F), visando identificar qual apresentaria melhor reprodução da doença e somente então foram executados os experimentos que identificariam os acessos resistentes à fusariose no banco de germoplasma. Foram inoculados 21 genótipos de abacaxizeiro por meio de palitos contaminados por *F. guttiforme* a cinco centímetros da base da folha e incubados por 30 dias a 25°C por 12 horas. As avaliações da severidade foram aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias após inoculação, com determinação da área abaixo da curva de progresso. Observou-se que mudas aclimatadas e folhas destacadas podem ser utilizadas para análises de resistência à fusariose do abacaxi. O método de inoculação em folhas “D” destacadas apresentam eficácia, rapidez e baixo custo, além de reproduzirem satisfatoriamente sintomas em análises de resistência. O período indicado para avaliar acessos resistentes à fusariose é aos 15 dias após inoculação em folhas D destacadas. Os acessos 1 (BRS Imperial) e 3 (BRS Vitória) apresentaram menor AACPD, portanto são considerados os mais resistentes entre os 21 acessos, podendo ser recomendados a compor programas de melhoramento do abacaxizeiro visando resistência à fusariose.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus*, resistência genética, inoculação.

## IDENTIFICATION OF RESISTANCE SOURCES TO *Fusarium guttiforme* IN PINEAPPLE

### ABSTRACT

The fungus *Fusarium guttiforme*, causal agent of fusariosis has the peculiarity of being specific in pineapple culture. In Brazil, the pathogen finds conditions that favor its spread. Because its high intensity damage in this culture, the fusariosis is considered a key disease of pineapple in every State. The breeding aiming disease resistance is a major goal of plant breeding, since the use of resistant cultivars has been the most economical and effective way to control these pathogens. This work aimed to identify resistance sources in 21 accessions of pineapple by inoculating *F. guttiforme* in detached leaves to be used in a breeding program of pineapple. Before the evaluation of resistance sources, inoculations were performed in seedlings and leaves, in order to define which of them would show better effectiveness and fast results, and also inoculations on leaves of different types (B, D and F) aiming to identify which of them present better reproduction of the disease and just then running the experiments to identify the resistant accessions to fusariosis in the genebank. It was inoculated 21 genotypes of pineapple plants by infected toothpick with *F. guttiforme* at five centimeters from the base of the leaf and incubated for 30 days at 25°C and 12 hours. The disease severity evaluations were performed at 10, 15, 20, 25 and 30 days after inoculation determining the area under progress curve. It was observed that acclimated seedlings and detached leaves can be and used for analysis of pineapple resistance to fusariosis. The inoculation method in detached D leaves presented effectiveness, speed and low cost, in addition to satisfactorily reproduce symptoms in resistance analyzes. The indicated timing to evaluate accessions resistant to fusariosis is 15 days after inoculation on detached D leaves. The accessions 1 ( BRS Imperial ) and 3 (BRS Victoria) had lower area under the disease progress curve (AACPD), therefore are considered the most resistant among the 21 accessions and can be recommended to compose the pineapple breeding programs for resistance to fusariosis.

**Keywords:** *Ananas comosus*, genetic resistance, inoculation.

## INTRODUÇÃO

O Brasil, produtor de 62.481 toneladas de abacaxi destaca-se entre os maiores produtores mundiais deste fruto, estando atrás apenas da Tailândia (IBGE, 2011). Além de apresentar altas características organolépticas em seu fruto, a abacaxicultura possui a particularidade de ser uma cultura altamente rentável. (Cunha et al., 1999).

Alguns fatores vêm impedindo a obtenção de maiores rendimentos na produção brasileira de abacaxi. A ocorrência de doenças é um exemplo de limitação fitossanitária. No Brasil, a doença chave da cultura do abacaxi é a fusariose, pois apresenta condições edafoclimáticas que propiciam um ambiente de propagação ótimo para este patógeno. Relatada pela primeira vez no estado de São Paulo por Kimati e Tokeshi (1964), a fusariose, causada pelo agente etiológico *Fusarium guttiforme* Nirenberg e O'Donnell, infecta o hospedeiro por meio de aberturas naturais ou ferimentos em mudas, frutos, folhas e raízes, ocasionando perdas estimadas em 30 a 40% nos frutos e 20% nas mudas (Gomes et al., 2009; Verzignassi et al., 2009).

Ao se tratar de controle, a fusariose exige integração de diversas práticas culturais como utilização de material propagativo sadio, inspeções periódicas no plantio com retirada de material contaminado e controle químico para produzir em épocas favoráveis à doença. Porém estes meios de controle possuem um custo elevado e podem ainda causar danos ao meio ambiente (Ventura e Costa, 2002).

A resistência genética tem se mostrado uma medida com grande potencial de controle de doenças nesta cultura evitando as perdas na produtividade e reduzindo os custos de produção. A redução dos custos compete à dispensa de aplicações de fungicidas no período de floração, obtendo-se frutos livres de resíduos químicos e sem agressão ao meio ambiente (Santos et al., 2001a; Zambolim et al. 2002).

Para avaliar fontes de resistência em germoplasma faz-se necessário utilizar métodos eficientes de infecção. Alguns métodos de inoculação em condições de incubação já têm sido empregados com sucesso para identificar fontes de resistência genética, em diversas culturas (Tolêdo-Souza e Costa, 2003).

Sendo assim, o trabalho objetivou identificar fontes de resistência em 21 acessos de abacaxizeiro por meio de inoculações de *F. guttiforme* em folhas destacadas visando à utilização em programas de melhoramento genético.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido na área experimental e no laboratório de fitopatologia da UNEMAT *campus* de Tangará da Serra, localizado a 14° 37' 40" Sul, 57° 30' 25" Oeste e altitude de 382 m. Os acessos utilizados neste trabalho são provenientes de mudas tipo filhote coletadas junto a produtores do Estado do Mato Grosso e de acessos propagados *in vitro* por cultura de tecidos (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de cultivares de *Ananas comosus* var. *comosus* coletadas no Estado de Mato Grosso. Tangará da Serra, 2013.

Genótipo	Cultivar	Procedência
1	BRS Imperial	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
2	Gold	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
3	BRS Vitória	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
4	Jupi	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
5	Smooth Cayenne	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
6	Pérola	Nova Guarita <sup>1/</sup>
7	Pérola	Cláudia <sup>1/</sup>
8	Pérola	Colíder <sup>1/</sup>
9	Pérola	Nova Guarita <sup>1/</sup>
10	Smooth Cayenne	Colíder <sup>1/</sup>
11	IAC Fantástico	Tangará da Serra <sup>2/</sup>
12	BRS Vitória	Tangará da Serra <sup>2/</sup>
13	BRS Vitória	Tangará da Serra <sup>2/</sup>
14	Jupí	Tangará da Serra <sup>1/</sup>
15	Smooth Cayenne	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
16	Pérola	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
17	Smooth Cayenne	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
18	Gigante da Amazônia	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
19	Pérola	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
20	Jupi	Terra Nova do Norte <sup>1/</sup>
21	Jupi	Tangará da Serra <sup>1/</sup>

<sup>1/</sup>Muda tipo filhote; <sup>2/</sup>Muda de cultura de tecido.

Foram realizados três experimentos. No experimento 1, objetivou-se avaliar se a resistência ou suscetibilidade da planta pode estar vinculada à idade da folha.

Para isto, foram realizadas inoculações em folhas do tipo B, D e F de abacaxizeiro. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x3 (duas cultivares e três idades de folha), com cinco repetições, sendo que cada folha correspondeu a uma parcela. A inoculação do patógeno foi realizada através da técnica de inoculação via palito de dente contaminado a cinco cm da base da folha proposto por Santos et al. (2001a). O controle constou da utilização de palito embebido em água destilada estéril para cada acesso. A avaliação da severidade da doença foi realizada aos 15 dias após a inoculação (DAI) pela mensuração dos maiores e menores diâmetros (cm<sup>2</sup>) da lesão causada pelo patógeno, conforme Camargo e Baracho (1977).

Após identificar o tipo de folha que melhor representou os sintomas do patógeno, foi realizado o experimento 2. Foram inoculadas mudas e folhas D das cultivares BRS Vitória (resistente) e Pérola (suscetível), com o intuito de verificar as diferenças na resposta de resistência dos acessos. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2 (muda/folha x cultivar), com cinco repetições. Cada folha/muda representou uma parcela. As mudas utilizadas foram obtidas através de cultura de tecidos, as quais foram aclimatadas em casa de vegetação até alcançarem um tamanho médio de 15 cm.

A inoculação de *F. guttiforme* em mudas foi efetuada conforme metodologia proposta por Matos (1978), as quais foram submetidas a ferimentos na base, seguidos por imersão em uma suspensão de inóculo contendo 10<sup>5</sup> de conídios.mL<sup>-1</sup> por três minutos, plantando-as posteriormente em sacos de polietileno e mantidos em condições de ambiente protegido durante 90 dias. A inoculação em folha foi realizada através da técnica de inoculação via palito contaminado a cinco cm da base da folha (Santos et al., 2001a) e o controle constou da utilização de palito embebido em água destilada estéril. Para a avaliação foram analisadas somente presença (suscetível) e ausência (resistente) de sintomas da fusariose representados pela exsudação de resina nos órgãos inoculados, após 15 dias de inoculação.

O experimento 3 foi realizado com o objetivo de identificar fontes de resistência em 21 acessos de abacaxizeiro. O estudo foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, onde cada parcela correspondeu a uma folha do abacaxizeiro, com cinco repetições. As folhas foram destacadas e desinfestadas em álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1,5%, seguido de três

lavagens em água destilada. A inoculação foi realizada por meio da técnica de inoculação via palito contaminado (Santos et al., 2001a). Após transferir o patógeno para placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar, foram depositados palitos sobre a placa e incubados durante um período de 10 dias. Ao final do décimo dia a colônia do fungo cobriu os palitos, assim foram retirados e inoculados a partir da introdução a cinco centímetros da base na folha.

Posteriormente, as folhas foram acondicionadas em sacos de polietileno transparente contendo chumaços de algodão embebidos em água destilada suprimindo a necessidade de umidade e mantidos em condições de laboratório (25°C e fotoperíodo de 12 horas) por 30 dias.

A severidade da doença foi avaliada pela mensuração da área da lesão (cm<sup>2</sup>) aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias após inoculação e a partir dos dados de severidade calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Campbell e Madden, 1990). Os dados dos três experimentos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo programa SISVAR (Ferreira, 2011). Foram realizadas transformações a  $\sqrt{x + 0,5}$ , para os experimentos 2 e 3.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre tipo de folha e cultivar. No experimento 1, pode-se constatar que houve diferença significativa entre os tipos de folhas inoculadas apenas para a cultivar Pérola, onde a folha que incitou maior lesão foi a “D” (Tabela 2).

Ao analisar a cultivar BRS Vitória, observa-se que não houve diferença significativa entre os tipos de folha em relação à lesão. Resultado esperado visto que se trata de uma cultivar resistente à fusariose. Zorzal et al. (2008) ao avaliarem a cv. BRS Vitória através de inoculações via suspensão de *F. guttiforme*, observaram maior espessura nos tecidos foliares, fator este que pode dificultar a penetração do inóculo na planta.

Tabela 2. Área da lesão (cm<sup>2</sup>) resultante da inoculação de *F. guttiforme* em diferentes tipos de folhas do abacaxizeiro em cultivar resistente e suscetível. Tangará da Serra - MT 2013.

Tipo de folha	Cultivar	
	Pérola	BRS Vitória
B	4,64bA <sup>1/</sup>	1,50aB
D	9,66Aa	2,72aB
F	3,66bA	2,60aA

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra em minúsculo na coluna e maiúsculo na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Na cv. Pérola pode-se observar diferença no comportamento do patógeno entre os tipos de folha. As folhas D apresentaram maior área lesionada, diferindo estatisticamente entre as folhas B e F. Santos et al. (2001a) analisaram o comportamento de diferentes tipos de folhas (A, B, C, D e F) da cv. Pérola através da inoculação de *F. guttiforme*. Verificaram presença de sintomas em todas as folhas inoculadas, porém a folha D desenvolveu a maior área significativa lesionada. Concluíram ainda, que a infecção do fungo ocorre independente do tipo ou posição de inoculação, mas a severidade dos sintomas pode variar entre os tipos de folha inoculada.

Silva-Acuña et al. (1995) em avaliações de folhas C, D e E de abacaxizeiro (Pérola) pelo método de inoculação de disco de micélio com fermento, observaram que a folha D apresentou valores superiores aos demais tipos, sugerindo que este seria o tipo mais adequado para se avaliar suscetibilidade em genótipos.

Segundo Cunha et al. (1999) as folhas D são utilizadas em avaliações de estado nutricional e medidas de crescimento da planta por se tratar das folhas mais ativas fisiologicamente. Através dos resultados obtidos neste estudo também se recomenda folhas D, em trabalhos que visam avaliar resistência de acessos de abacaxizeiro por ser folhas que apresentam boa reprodução de sintomas da fusariose, proporcionando resultados confiáveis.

No experimento 2 verificou-se que a resposta de resistência dos acessos quando inoculados em mudas ou folhas destacadas, não diferiram significativamente entre os tratamentos (Tabela 3). Deste modo os dois métodos apresentam segurança nos resultados ao avaliar resistência em acessos de abacaxi. No entanto,



indica-se a inoculação em folhas D, pois esta metodologia demanda menor custo e maior rapidez na obtenção dos resultados. Testes que fazem uso de folhas destacadas têm sido utilizados frequentemente, por serem eficientes e práticos tanto para determinação de potenciais de agentes de biocontrole como para resistência a patógenos (Maciel et al., 2012).

Tabela 3. Ocorrência da presença (1) e ausência (0) de sintomas causados pelo fungo *F. guttiforme* em mudas e folhas destacadas de cultivares de abacaxizeiro suscetível e resistente à fusariose. Tangará da Serra - MT 2013.

Cultivar	Sintomas	
	Mudas	Folhas
Pérola (controle)	0	0
Pérola	1	1
Pérola	1	1
Pérola	1	1
Pérola	1	1
Pérola	1	1
BRS Vitória (controle)	0	0
BRS Vitória	0	0
BRS Vitória	0	0
BRS Vitória	0	0
BRS Vitória	0	0
BRS Vitória	0	0

Santos et al. (2001b), ao avaliarem inoculações de *F. subglutinans* em mudas e folhas destacadas de abacaxizeiro, concluíram que a inoculação em folhas D destacadas mostrou-se como método eficiente na identificação de acessos resistentes a este patógeno, com vantagem de mitigar o tempo de trabalho.

Capucho et al. (2005) detectaram genótipos resistentes e suscetíveis por meio do método de inoculação em folhas destacadas de cafeeiro (*Hemileia vastarix*), não apresentando escape além de proporcionar vantagens como praticidade operacional, menor gasto de tecido vegetal e mão-de-obra, tempo reduzido e ainda a mais importante, redução de contaminação.

Para o experimento 3, a análise de variância apresentou diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre os acessos. Os sintomas causados pelo patógeno tiveram início a partir dos 10 dias após inoculação (DAI), sendo este o período inicial de avaliações (Tabela 4). Aos 10 DAI os acessos 1 (BRS Imperial), 3 (BRS Vitória), 13 (BRS Vitória) e 11 (IAC Fantástico) destacaram-se como os grupos dos acessos mais resistentes.

Pode-se observar que os acessos 11 (IAC Fantástico), 12 e 13 (BRS Vitória), não apresentaram resistência à doença. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que estes acessos foram advindos de cultura de tecido. Sugere-se que houve degeneração em sua resposta de resistência.

No período de 15 DAI os acessos 11 (IAC Fantástico) e 13 (BRS Vitória) deixaram de integrar o grupo dos mais resistentes, contudo os acessos 1 (BRS Imperial) e 3 (BRS Vitória) mantiveram-se resistentes nos DAI 20 e 25, apresentando estabilidade em sua resposta de resistência. Aos 25 dias os resultados obtidos foram semelhantes aos de 15 DAI, mas durante este período as folhas começaram a apresentar sinais de processo de decomposição na base, ocasionando dificuldade nas mensurações. Verifica-se que a avaliação de 15 dias após inoculação do patógeno demonstrou maior eficácia na discriminação dos acessos, recomenda-se que as avaliações em trabalhos relacionados a testes de resistência à fusariose no abacaxizeiro sejam realizados em um período mínimo de 10 DAI, ótimo aos 15 DAI e máximo de 20 DAI.

Oliveira et al. (2011) avaliaram a incidência e métodos de inoculação de *F. guttiforme* em abacaxizeiro, com o emprego da metodologia de avaliação aos 15 dias após inoculação em folhas "D" obtendo resultados satisfatórios em análises de resistência à fusariose.

Com relação à área abaixo da curva de progresso, houve diferença significativa entre as médias, variando de 46,07 a 264,11. Assim como nas avaliações de DAI os acessos 1 (BRS Imperial) e 3 (BRS Vitória) apresentaram os menores valores de AACPD, podendo sugerir que estas cultivares comportaram-se como resistentes a *F. guttiforme*. Em contraste, as cultivares 16 (Pérola), 14 (Jupí) e 18 (Gigante da Amazônia) exibiram os valores mais elevados de AACPD sendo, portanto cultivares altamente suscetíveis a fusariose.

Tabela 4. Área da lesão (cm<sup>2</sup>) aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias após inoculação e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em relação à severidade da fusariose em 21 acessos de abacaxizeiro. Tangará da Serra - MT 2013.

Acesso	Dias após Inoculação					AACPD
	10 DAI	15 DAI	20 DAI	25 DAI	30 DAI	
1	1,68a <sup>1/</sup>	1,78a	1,89a	1,99a	2,05a	46,07a
2	3,15b	4,17b	5,07b	5,57b	6,13c	93,76b
3	1,72a	2,33a	2,67a	2,80a	2,93b	59,17a
4	4,52c	5,43c	6,18c	6,98c	8,24d	147,46c
5	3,43b	3,87b	5,05b	5,33b	5,60c	111,06b
6	3,44b	4,48b	6,04c	6,89c	7,91d	132,65c
7	2,99b	3,75b	5,88c	7,16c	8,09d	126,59c
8	4,19c	4,99c	5,65c	7,01c	7,78d	139,14c
9	3,65b	5,07c	6,53c	7,34c	8,00d	142,14c
10	2,69b	3,39b	4,47b	4,66b	4,82c	94,82b
11	2,42a	3,55b	4,75b	5,41b	5,70c	100,99b
12	3,69b	4,85b	5,57c	6,18b	6,33c	126,47c
13	1,80a	3,27b	4,13b	4,93b	5,08c	87,83b
14	8,49d	9,08d	10,70e	13,47d	13,68e	264,11d
15	5,04c	5,74c	6,55c	8,03c	8,53d	160,74c
16	6,72d	7,51d	8,58e	10,06d	10,48e	207,35d
17	5,73c	6,24c	7,77d	8,84c	9,15d	180,12c
18	8,34d	9,23d	10,36e	11,53d	11,80e	245,38d
19	5,43c	6,07c	7,46d	8,39c	8,82d	172,39c
20	5,05c	6,07c	7,54d	8,37c	8,98d	170,21c
21	5,23c	6,44c	7,17d	8,23c	8,66d	170,13c
F <sub>calculado</sub>	11,77**	10,17**	14,44**	13,31**	16,76**	12,96**
CV (%)	13,26	12,14	9,88	10,99	9,90	12,44

\*\*Significativo a 1% de probabilidade de erro, pelo teste F. <sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra em minúsculo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. \*\*Significância a 1% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

A folha D é indicada para avaliação de resistência por ser a melhor em reproduzir sintomas. Inoculações efetuadas em mudas e folhas destacadas podem ser utilizadas em análises de resistência à fusariose do abacaxi.

O período indicado para avaliar acessos resistentes à fusariose é aos 15 dias após inoculação do patógeno em folhas D destacadas.

Os acessos 1 (BRS Imperial) e 3 (BRS Vitória) são os que apresentaram menor AACPD, portanto são considerados os mais resistentes, podendo ser recomendados para compor programas de melhoramento do abacaxizeiro visando resistência à fusariose.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo financiamento do projeto de pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da Bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

- CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. de; SOUTO, G. F. Reação de germoplasma de abacaxi à inoculação com *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.20, n.7, p.787-791, 1985.
- CAMARGO, L. M. P. C. A.; BARACHO, I. R. Virulência de linhagens de *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* Wr. e Rg. **Summa Pytopathologica**, Piracicaba, v. 3, n. 3, p. 215 - 220, Setembro, 1977.
- CAMPBELL, C. L. e MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York NY. Wiley. 1990.
- CAPUCHO, A. S; RUFINO, R. J. N.; ZAMBOLIM, E. M.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B. de; ALMEIDA, R. F. de; BRITO, G. G. de; ZAMBOLIM, L. Método de inoculação de *Hemileia vastarix* Berk. et Br. em folhas destacadas de cafeeiro. In: **Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil**, 4., 2005, Londrina. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2005. Acesso: <<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/10820/1433>> em 30, outubro, 2013.

CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S. **O Abacaxizeiro. Cultivo, agroindústria e economia.** Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.17- 480.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez., 2011.

GOMES, E. C. S. et al. Incidência de fusariose em frutos de abacaxi 'Gold'. Engenharia Ambiental, **Espírito Santo do Pinhal**, v. 6, n. 3, p. 755-759, 2009.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> acessado em 28, junho, 2013.

KIMATI,H;TOKESHI,H.Notasobre a ocorrência de *Fusarium* sp. causando resinosidade fúngica em abacaxi. **Revista de agricultura**, ESALQ, Piracicaba – SP. v. 39, n. 3, p. 133. 1964.

MACIEL, C. G; MEZZOMO, R; Poletto, I; MUNIZ, M. F. B; LIPPERT, D.B. Control of *cylindrocladium candelabrum* by *trichoderma spp* in *eucalyptus saligna* seedlings. **Revista árvore**, vol. 36, n. 5, Viçosa, Set/Out 2012. Acesso: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622012000500004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622012000500004&script=sci_arttext)> em 30, setembro, 2013.

MATOS, A. P. de. A fusariose do abacaxi na Bahia. In: **Encontro nacional de abacaxicultura**, 1., Salvador. Anais...Salvador: EMATERBA,1978. p.107-114.

OLIVEIRA, M. D. M; LEITE, L. C.N; PEREIRA, R. Incidência de fusariose e avaliação de métodos de inoculação de *Fusarium gutiforme* em folhas de abacaxizeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, vol. 24, núm. 1, jan-março, p. 137-142. 2011.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Manejo integrado das doenças de fruteiras tropicais: Abacaxi, Banana e Mamão. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado: fruteiras tropicais doenças e pragas.** Viçosa, MG: UFV. 2002. p. 279-352.

VERZIGNASSI, J. R. et al. Fusariose do abacaxizeiro no Pará. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.35, n. 4, p. 329-330, 2009.

SANTOS, R. L. M. S.; MATOS, A. P. de; CABRAL, J. R. S. Avaliação da infecção com *Fusarium subglutinans* em diferentes tipos de folhas de abacaxizeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 13, n.1, p. 1-50, Janeiro/Junho, 2001a.

SANTOS, R. L. M. S.; MATOS, A. P.; CABRAL, J. R. S. Interação entre isolados de *Fusarium subglutinans* e genótipos de abacaxizeiro mediante inoculação em mudas e em folhas destacadas. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 67-72, 2001b.

SILVA-ACUÑA, R.; COSTA, A. F.; BARRETO, M. Efeito da temperatura e do tipo de folha no desenvolvimento de lesões de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* no abacaxizeiro 'Pérola'. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 498-500, Setembro, 1995.

TOLÊDO-SOUZA, E. D. de; COSTA, J. L. da S. Métodos de inoculação de plântulas de feijoeiro para avaliação de germoplasma quanto à resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 57-63, jul./dez. 2003.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (Ed.). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa, MG, 2002. v. 2, p.1308-1310.

ZORZAL, P. B; AQUIJE, G. M. F. V.; VENTURA, J. A.; FERNANDES, A.R.; FERNANDES, P.M.B. Análise Morfológica e Bioquímica Comparativa da Resistência a Fusariose em Abacaxizeiro. **Congresso brasileiro de fruticultura**, resumos. Vitória, ES, 2008.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

Com base na análise do comportamento *in vitro* de *F. guttiforme* evidencia-se que a temperatura de 25°C sob fotoperíodo de 12 horas corresponde ao regime de incubação que garante crescimento micelial e produção de conídios satisfatórios para multiplicação deste patógeno em programas de melhoramento que visam resistência à fusariose do abacaxizeiro.

Os isolados coletados no município de Tangará da Serra (ISO 1) e Terra Nova do Norte (ISO 2), não apresentaram diferença significativa quando submetidos à análises de seu comportamento *in vitro*.

Dentre os métodos avaliados, o uso do palito contaminado a uma distância entre 2 e 11 cm da base da folha, demonstrou-se como o mais eficaz e de baixo custo.

Foi observado a partir da avaliação dos métodos de inoculação, que para que ocorra a infecção do patógeno *F. guttiforme*, torna-se necessária a realização de ferimento no local a ser inoculado.

A respeito do tipo de folha destacada que representa a melhor reação sintomática após inoculação, indica-se a folha D; embora também possam ser utilizadas mudas, para identificações de acessos resistentes à fusariose.

Dentre os períodos estudados para avaliar acessos resistentes à fusariose, indica-se avaliar o genótipo 15 dias após inoculação do patógeno em folhas D destacadas.

Em se tratando dos acessos, BRS Imperial (1) e BRS Vitória (3) são os que apresentaram menor AACPD, deste modo são considerados os materiais mais resistentes estudados, podendo ser recomendados a compor programas de melhoramento do abacaxizeiro visando resistência à fusariose.